

Biodegradace směsi PLA/PHB ve vodném termofilním anaerobním prostředí

Marie Dvořáčková, Michaela Bartuňková, Marek Koutný

*Ústav inženýrství ochrany životního prostředí, fakulta technologická, Universita Tomáše Bati ve
Zlíně, Česká republika
dvorackovat@ft.utb.cz*

Souhrn

V práci byla testována biodegradace směsné folie kyseliny polymléčné (PLA) a polyhydroxybutyrátu (PHB) v mezofilním (37 °C) a termofilním (55 °C) anaerobním kalu. Termofilní anaerobní kal byl připraven z mezofilního anaerobního kalu z městské čistírny odpadních vod Zlín-Malenovice jednorázovým převedením do termofilních podmínek. Bylo potvrzeno, že PLA se za podmínek mezofilních nerozkládá, zatímco v prostředí termofilním dosáhla bio degradace více jak 80 %. Směsná fólie PLA/PHB byla za anaerobních termofilních podmínek téměř úplně rozložena, avšak za anaerobních mezofilních podmínek stupeň rozkladu přibližně odpovídal zastoupení PHB v této směsi. Během abiotické hydrolýzy směsi PLA/PHB bylo za 60 dnů dosaženo rozkladu 23,8 %, což prokazuje, že hydrolytické enzymy přítomné v termofilním anaerobním kalu mají vliv na stupeň biodegradace.

Klíčová slova: *kyselina polymléčná, PLA, PHB, anaerobní biodegradace, termofilní, hydrolýza*

Úvod

Plastové odpady představují závažný environmentální problém vyvolávající rostoucí znepokojení mezi širší veřejností. Biodegradabilní polymerní materiály představují slibnou alternativu ke konvenčním polymerům, alespoň pro některé aplikace. Kyselina polymléčná (PLA) je zvláště slibný člen této rodiny polymerů [1, 2]. V současné době tento materiál může být použit v širokém spektru výrobků, včetně obalových materiálů, mulčovacích folií a lahví, jakož i na výrobu vláken pro netkané textilie a koberce. PLA rovněž představuje materiál, který může být vyroben z obnovitelných zdrojů, vzhledem k tomu, že jeho monomer se získává prostřednictvím fermentací různých rostlinných materiálů. Velká část výzkumu týkající se biodegradovatelnosti PLA je věnována aerobním procesům, jako je kompostování. V prostředí kompostu, za termofilních podmínek (55-58°C), probíhá biodegradace PLA snadno a byla poměrně rozsáhle dokumentována [1, 3-6]. Kyselina polymléčná PLA není konvenční recyklovatelný materiál a s největší pravděpodobností bude uložen s jinými odpady na skládku, kde probíhají anaerobní procesy. Anaerobní digesce (AD) se stále více používá jako vhodné energetické využití nakládání s odpady. Za mezofilních anaerobních podmínek rozklad semikrystalického polymeru PLA dosahuje nízkých hodnot [7]. Krause a spol. neprokázali jakoukoliv produkci bioplynu během biodegradace PLA v anaerobních podmínkách při teplotách kolem 35°C [8]. Yagi a spol. se velmi podrobně zabývali biodegradací PLA v anaerobním prostředí a to jak v mezofilním, tak termofilním kalu. Na biodegradaci PLA využili termofilní kal, který si připravili v laboratoři z inokula z místní bioplynové stanice, které po nějakou dobu převáděli do termofilních podmínek a současně vyvinuli novou metodu pro testování anaerobního rozkladu polymerů za termofilních podmínek [9-11]. PLA za podmínek termofilních dosahuje biodegradace z více jak 80% [8, 12, 13]. K degradaci dochází jakmile je dosaženo teploty skelného přechodu PLA 55-60 °C, při kterém krystalická struktura se začíná deformovat [14, 15]. Současně procesu biodegradace polymerů předchází hydrolýza za zvýšené teploty [16, 17]. Zvýšená teplota umožňuje rychlejší absorpci vody do polymerní matrice a tím může docházet nejen k rychlejší hydrolýze, ale může umožnit snadnější mikrobiální působení na povrch polymeru, který se stává více hydrofilním. PLA bývá modifikována přidávkou jiných materiálů a to jak polymerů jako je polybutylenadipát tereftalát (PBAT) [18], polyhydroxybutyrát (PHB) [19, 20], modifikovanými jíly [21], škroby a dalšími přísadami. PLA i PHB jsou křehké materiály a mají špatné zpracovatelské vlastnosti. Byly navrženy úpravy s cílem zlepšit jejich zpracování a mechanické vlastnosti, které zahrnují přípravu kopolymeru promísením s PLA a PHB s

přídavkem různých typů kompatibilizátorů a plastifikátorů [19] Takto připravené materiály mají lepší zpracovatelské a mechanické vlastnosti než samotné polymery, ale je možné, že se poněkud zhorší stupeň jejich biodegradace

Cílem této práce bylo posouzení biodegradace nových materiálů na bázi PLA a PHB s přídavkem plastifikátoru a kompatibilizátoru, které byly vyrobeny na Ústavu polymerů Slovenské akademie věd, v anaerobním mezofilním a termofilním prostředí. K testům byl použit anaerobně vyhnílý kal z městské čistírny odpadních vod Zlín-Malenovice, který byl použit pro test za mezofilních podmínek (37°C). Tentýž kal byl na termofilní podmínky převeden tzv. „one-step procesem“.

Experimentální část

Testované materiály - folie vyrobené na ústavu polymerů Slovenské akademie věd. Jednalo se o fólii vyrobenou z čisté kyseliny polymléčné označené jako **PLA**, dvě směsné fólie z 85 % PLA a 15 % polyhydroxybutyrátu (PHB)+ kompatibilizátor (Jonkryl®4368) a plastifikátor triacetin (TAC), které se liší tloušťkou materiálu, označené **PLA/PHB** a **SVIT**, a folii z čisté PLA se 2% s kompatibilizátoru (Jonkryl®4368) a plastifikátoru (TAC) s označením **STRUNA**. U všech testovaných fólií bylo stanoveno procentuální zastoupení uhlíku (w_c). Základní charakteristika fólií je uvedena v *Tabulce. 1*

Tabulka 1: Základní charakteristika testovaných fólií

Název	Složení	Tloušťka [μm]	w_c [%]
PLA	PLA (100%)	150	50,92
PLA/PHB	PLA /PHB/TAC/J4368	35	52,91
SVIT	PLA/ PHB/TAC/J4368	160	53,10
STRUNA	PLA / TAC/J4368 2%	200	51,47

Mikrokrystalická celulóza (Sigma-Aldrich) byla použita jako pozitivní kontrola

Biomedium dle ČSN ISO 11743 – 40 ml fosfátového pufru (8.5 g/l KH_2PO_4 ; 21.75 g/l K_2HPO_4 ; 44.7 g/l $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$), 50 ml $(NH_4)_2SO_4$ (10 g/l), 1 ml $CaCl_2$ (7.5 g/l), 1 ml $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ (0.25 g/l), 1 ml $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (22.5 g/l), 1 ml roztoku stopových prvků (0.75 g/l H_3BO_3 ; 3 g/l $FeSO_4 \cdot 7H_2O$; 0.1 g/l $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$; 0.5 g/l $MnSO_4 \cdot 4H_2O$; 0.05 g/l $CuSO_4 \cdot 5H_2O$; 0.05 g/l $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$, 0.1813 g/l $CoSO_4 \cdot 7H_2O$.

Použitá inokula:

a) mezofilní kal - Byl použit vyhnílý kal z anaerobní stabilizace přebytečného aktivovaného kalu čistírny městských odpadních vod Zlín- Malenovice

b) termofilní kal připravený z mezofilního kalu převedením tzv. "one-step" process“. Teplota mezofilního kalu byla zvýšena z 37 °C na požadovaných 55°C.

1,5 l anaerobního mezofilního kalu z ČOV Malenovice bylo nejdříve odstředěno při 4600 ot.min⁻¹ po dobu 15 min. Kalová voda byla slita a odstředěný kal byl resuspendován biomédiem do 2 l skleněné láhve, která byla uzavřena plynotěsným víčkem opatřeným septem. Stanoveno pH, ORP, sušina kalu, ztráta žíháním, procento metanu v kalu. Tento kal uložen do termostatu 55 °C za účelem adaptace kalu z mezofilních na termofilní podmínky. Během adaptace z mezofilních podmínek do termofilních byla sledována produkce metanu ve vyvíjejícím se bioplynu [13]. Zastoupení metanu bylo vypočítáno jako hmotnost uhlíku ve formě metanu vztažené k hmotnosti uhlíku v metanu a oxidu uhličitém ve vyprodukovaném bioplynu. Množství metanu a oxidu uhličitého bylo měřeno pomocí plynové chromatografie. Při převodu mezofilního kalu (37 °C) do termofilních podmínek (55 °C) nejdříve docházelo k poklesu produkce metanu v bioplynu pod 20 %. Postupně zase kal zvyšoval procentuální zastoupení metanu v bioplynu. Po 15 dnech od uložení do termostatu na 55 °C kal obsahoval více jak 60

% methanu a bylo možno jej použít k testům. Manipulace ovšem s takovým kalem byla nesnadná, je velmi citlivý na pokles teploty, došlo ke zvýšení pH apod.

Stanovení biodegradace směsí PLA/PHB v mezofilním anaerobním kalu (37 °)

Mezofilní anaerobní kal z ČOV Zlín-Malenovice byl zbaven hrubých nečistot cezením přes síto, 20 minut probubláván dusíkem. U kalu byly stanoveny sušina (VL), ztráta žiháním (ZŽ), pH a oxidačně redukční potenciál (ORP). Dle zjištěné aktuální sušiny kalu, bylo zvoleno ředění pro přípravu inokula, tak aby sušina získaného inokula byla v rozmezí 1-5 g.l⁻¹. Definované množství kalu bylo tedy odstředěno při 4600 ot.min⁻¹ po dobu 15 min a při 37 °C. Kalová voda byla slita a kal byl resuspendován v biomédium do 2 l odměrné baňky a probubláván dusíkem po celou dobu práce. Do skleněných testovacích lahví o objemu 250 ml, které byly opatřeny plynotěsnými uzávěry s otvory pro probublání dusíkem a septem pro odběr plynné fáze, byly naváženy vzorky fólií (rozměr 5x5 mm) o hmotnosti cca 100 mg. Během manipulace byly probublávány dusíkem, poté přidáno 100 ml anaerobního kalu o sušině 3,7 g/l. Láhve uloženy do termostatu, jehož teplota byla (37 ± 2) °C. Obsah lahví byl promícháván v nepravidelných intervalech. Ve zvolených časových intervalech (1x týdně) byla sledována produkce bioplynu v testu biodegradace pomocí plynového chromatografu (GC). Pomocí mikrodávkače bylo přes septum odebráno 100 µl plynné fáze a následně injektováno do plynového chromatografu (Agilent 7890) s náplňovou kolonou Porapak Q (1.829 m, 80/100 MESH) a tepelně vodivostním detektorem (nosný plyn helium, průtok 53 ml. min⁻¹, teplota 50 °C). Koncentrace CH₄ and CO₂ byla vypočítána dle stavové rovnice plynů s využitím kalibračního plynu deklarované koncentrace metanu (4%) a oxidu uhličitého (0,8%) od firmy Linde. Testy jednotlivých fólií probíhaly minimálně 3x vedle sebe. Současně byl stanovení endogenní respirace samotného inokula. Na konci pokusu bylo stanoveno pH, oxidačně redukční potenciál (ORP), hmotnostní úbytek fólií a koncentrace anorganického uhlíku v kapalně fázi s použitím automatizovaného analyzátoru TOC (Shimadzu 5000A, Corp, Austria).

Stupeň celkové anaerobní mineralizace $Dt_{\max}(\%)$ testovaných vzorků byl vypočítán na základě množství uvolněného uhlíku v bioplynu ve formě CH₄ and CO₂ – m_c (mg) a uhlíku v kapalně fázi ve formě anorganické (IC) - m_l (mg), po odečtení endogenní respirace, vztažené k teoretickému množství uhlíku (vloženému) m_v (mg), v testovaných vzorcích fólií (rovnice 1)

$$Dt_{\max} = \frac{m_c + m_l}{m_v} \times 100 \quad (1)$$

Stanovení biodegradace směsí PLA/PHB v termofilním anaerobním kalu (55 °)

Pro tento test byly použity testovací láhve o objemu 100 ml, do nichž byly naváženy testované vzorky o hmotnosti cca 50 mg, předem nastříhány na rozměr 5x5 cm. Láhve byly opět opatřeny plynotěsnými víčky se septem pro odběr plynné fáze a otvory pro probublání dusíkem. Jako inokulum byl použit termofilní kal připravený z mezofilního kalu převedením tzv. "one-step" proces. Během přidavku termofilního kalu do testovacích lahví, bylo inokulum probubláváno dusíkem. Následně byly láhve uloženy v termostatu, jehož teplota byla (55 ± 2) °C. Obsah lahví byl opět promícháván v nepravidelných intervalech a průběh biodegradace fólií byl sledován 1x týdně pomocí analýzy plynné fáze za využití GC a současně byl měřen přetlak vznikající během biodegradace. Při zahájení pokusu došlo stejně jako v případě převodu mezofilní kalu na termofilní procesem „one-step“ k náhlému poklesu produkce methanu v bioplynu pod 20 %. Po 15 dnech analyzovaný bioplyn ve všech testovaných vzorcích obsahoval více jak 55 % methanu. Test trval 94 dnů. Na konci pokusu byly stanoveny nezvykle vysoké koncentrace anorganického uhlíku (IC) v kapalně fázi a to i při endogenní respiraci samotného kalu. Hodnoty dosahovaly až 450 mg/l, současně docházelo ke zvýšení pH z původních 7,2 až na 8,5. Stupeň mineralizace testovaných vzorků byl stanoven dle rovnice 1.

Stanovení změny hmotnosti fólií PLA/PHB

Současně byl stupeň biodegradace testovaných vzorků v anaerobním prostředí vyhodnocen dle úbytku hmotnosti folií na konci pokusu. Po inkubaci byly vzorky folií vyjmuty z inokula, opláchnuty destilovanou vodou, vysušeny a zváženy do konstantní hmotnosti. Ztráta hmotnosti v procentech W_{loss} (%) byla vypočtena z rozdílu hmotnosti vzorků na začátku m_{final} a na konci pokusu m_{initial} a vypočtena dle rovnice (2)

$$W_{\text{loss}} = \frac{m_{\text{initial}} - m_{\text{final}}}{m_{\text{initial}}} \times 100 \quad (2)$$

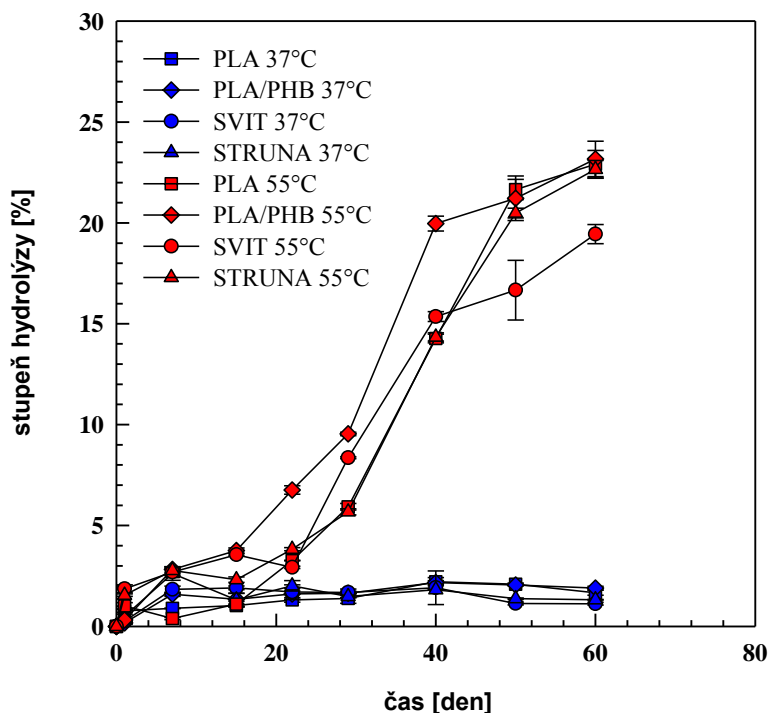
Abiotická hydrolýza směsí PLA/PHB

Do 100 ml testovacích lahví byly nastříhány fólie vzorků o hmotnosti cca 50 mg, které byly nastříhány na čtverečky o velikosti cca 0,5x0,5 cm. Poté bylo přidáno 50 ml fosfátového pufru pH 7. Testovací láhve byly umístěny do termostatu, pro hydrolýzu za mezofilních podmínek to bylo při teplotě $(37 \pm 2) ^\circ\text{C}$ a pro hydrolýzu za termofilních podmínek to bylo při teplotě $(55 \pm 2) ^\circ\text{C}$. Ve zvolených časových intervalech (1x týdně) bylo odebíráno 1,5 ml vzorku do ependorfy a vzorek byl zmražen před dalším zpracováním. Poté bylo přidáno 1,5 ml fosfátového pufru, v testovacích lahvích byl tak stále udržován objem 50 ml. U získaných vzorků byl stanoven rozpuštěný organický uhlík pomocí analyzátoru uhlíku Schimadzu TOC – 5000 A. stupeň abiotické hydrolýzy byl vypočítán z množství rozpuštěného uhlíku vztaženo na počáteční množství vloženého materiálu. Současně byly vzorky zváženy a stupeň hydrolýzy vypočten dle úbytku hmotnosti folií.

Výsledky a diskuse

Abiotická hydrolýza směsí PLA/PHB

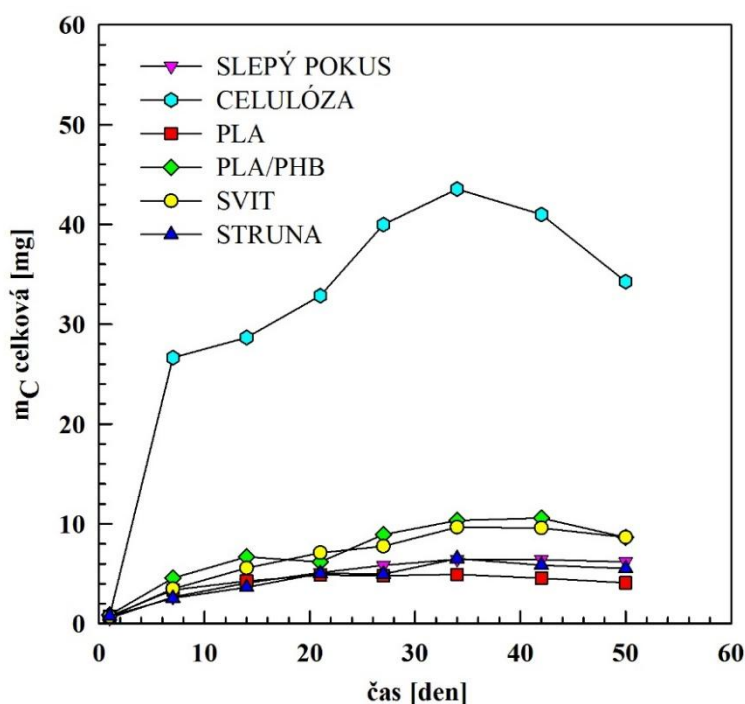
Na biodegradaci PLA se podílí jak biotická tak abiotická hydrolýza. Abiotická hydrolýza způsobuje náhodné štěpení řetězců, což má za následek postupné snižování molekulové hmotnosti a je výrazně ovlivněna teplotou[16]. Hydrolýza, ať už biotická, či abiotická, je určujícím krokem pro následnou biodegradaci, jelikož mikroorganismy jsou schopné asimilovat pouze látky s nízkou molekulovou hmotností. Pro posouzení abiotické hydrolýzy vzorků PLA a směsí PLA s PHB byl proveden pokus za přítomnosti mikrobiální růst inhibující látky (NaN_3). Na obrázku 1 lze jasně vidět, že rozhodující vliv na stupeň hydrolýzy vzorků PLA má teplota. Za mezofilních podmínek ($37 ^\circ\text{C}$) bylo dosaženo stupně hydrolýzy okolo 2 % a to pro fólie z čisté PLA tak pro směsnou folii PLA/PHB. Za termofilních podmínek ($55 ^\circ\text{C}$) po 22 dnech lagové fáze lze spatřit výrazný růst stupně hydrolýzy a to pro všechny testované vzorky. Nejvyššího stupně hydrolýzy dosaženo pro fólie PLA/PHB, a to z 23 % během 60 dnů, přičemž stupeň hydrolýzy by s časem stále narůstal. Během průběhu abiotické hydrolýzy při $37 ^\circ\text{C}$ bylo zpozorováno u folií mléčné zbarvení a to po 7 dnech pro vzorek SVIT, po 15 dnech to bylo vzorek STRUNA a po 22 dnech pro vzorky PLA a PLA/PHB. Tyto změny v barvě folií (zmléčnění) byly pozorovány i při hydrolýze za termofilních podmínek, ovšem zde byl průběh o něco jiný. Zmléčnění folie SVIT bylo pozorováno taktéž po 7 dnech stejně jako u mezofilních podmínek, nicméně u zbývajících folií bylo následné zmléčnění zpozorováno již po 15 dnech abiotické hydrolýzy. Zmléčnění folií během procesu hydrolýzy bylo pravděpodobně způsobeno vlivem strukturních změn v testovaných foliích, buď to docházelo ke krystalizaci, nebo došlo k fázové separaci, kdy ve folii byly přítomny dvě fáze s různým indexem lomu. Po 30 dnech testu byly taktéž viditelný rozpad folií v termofilních podmínkách na menší kousky, po 60 dnech, tedy na konci testu, fólie byly rozpadnuty na velmi malé částičky. U mezofilních podmínek rozpad folií nebyl vůbec viditelný, čemuž odpovídá i průběh stupně hydrolýzy na čase, kde jak už bylo zmíněno, nedošlo k významnému rozpadu.



Obrázek 1: Stupeň abiotické hydrolyzy pro testované vzorky

Biodegradace PLA a směsi PLA/PHB v prostředí mezofilního anaerobního kalu (37 °C)

Biodegradace PLA a jeho směsí s PHB byla provedena dle ISO 11734 v prostředí anaerobního mezofilního kalu z ČOV Zlín-Malenovice (sušina 3,7 g/l) po dobu 50 dnů. Na obrázku 2 je znázorněn průběh produkce uhlíku stanoveného z metanu a oxidu uhličitého ve vyvíjecím se bioplynu z jednotlivých vzorků, včetně slepého pokusu (endogenní respirace samotného kalu).



Obrázek 2: Celková produkce uhlíku v plynné fázi za anaerobních mezofilních podmínek

V tomto pokusu bylo do biometrických lahví vloženo cca 100 mg folií, což odpovídalo cca 50 mg nerozpuštěného uhlíku. Maximální produkce uhlíku v tomto testu pro celulózu (vloženo 100 mg) byla dosažena ve 34. dni biodegradace a činila 43,5 mg C, což odpovídá 92,91 % mineralizace celulózy.

Celkový stupeň mineralizace (D_T) vzorků folií z PLA a směsi PLA s PHB a přídatnými složkami (plastifikátor + kompatibilizátor) byl vyhodnocen z celkového množství uhlíku vyprodukovaném ve vyvíjecím se bioplynu m_c , po započítání množství anorganického uhlíku nalezeného na konci pokusu v kapalně fázi m_i , které bylo vztaženo k množství uhlíku vloženo na začátku pokusu m_v (rovnice č. 1). Současně byl stanoven stupeň degradace vzorků pomocí stanovení úbytku hmotnosti folií po provedeném testu biodegradace. Výsledky jsou shrnuty v tabulce č. 2

Tabulka 2 Biodegradace vzorků PLA a směsi PLA/PHB dle produkce bioplynu a množství CO_2 rozpuštěného v kapalně fázi (D_T) a dle úbytku hmotnosti (Δm) v anaerobní mezofilní kalu (37°C)

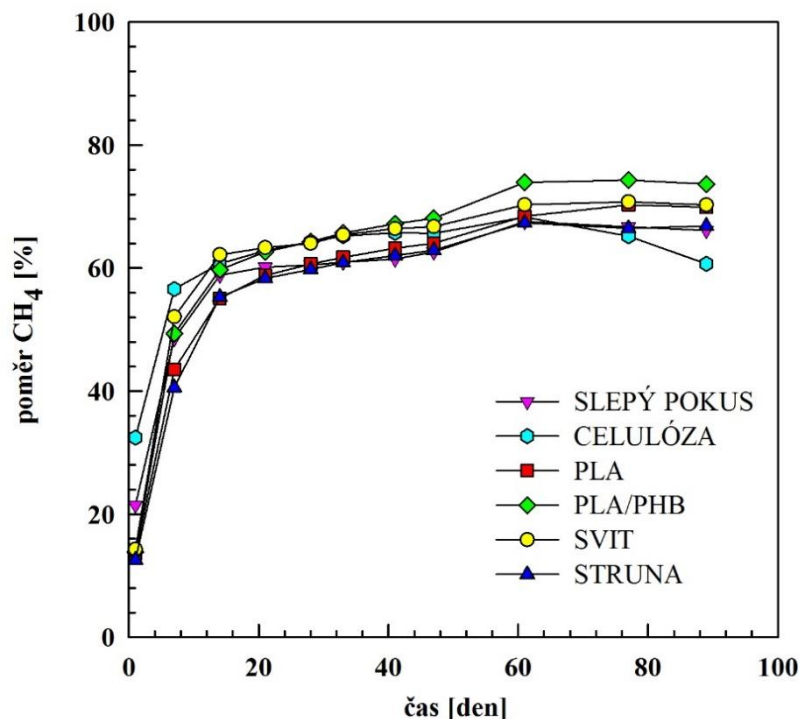
Vzorek	D_T [%]	Δm [%]
Celulóza	93,30	-
PLA	0,28	0,55
PLA/PHB	7,36	12,24
SVIT	6,30	8,02
STRUNA	0,58	1,01

Bylo potvrzeno, že čistá PLA se v prostředí mezofilního anaerobního kalu (37°C) nerozkládá. To odpovídá již publikovaným údajům [9, 22]. Vzorek STRUNA obsahující 2% kompatibilizátoru byl vůči degradaci a anaerobním mezofilním kalu také rezistentní. Biodegradace směsi PLA/PHB dosáhla pro tenkou folii 7,36 % (12,24%) a pro folii SVIT obsahující 85% PLA a 15% PHB + plastifikátor (TAC) a kompatibilizátor (Jonkryl® 4368) jen 6,3 % (8,02), což zhruba odpovídá procentuálnímu zastoupení velmi snadno degradovatelného polyhydroxybutyrátu. Při abiotické hydrolýze nepřesáhla degradace vzorků 2 %. Lze tedy konstatovat, že v biotickém prostředí mezofilního anaerobního kalu dochází vlivem hydrolyzujících enzymů k vyššímu stupni degradace než při abiotické hydrolýze při stejné teplotě (37°C).

Biodegradace PLA a směsi PLA/PHB v prostředí termofilního anaerobního kalu (55 °C)

Biodegradace PLA a směsi PLA/PHB za anaerobních termofilních podmínek (55°C) byla provedena v tzv. termofilním kalu. Mezofilní kal z čistírny odpadních vod Malenovic byl převeden do termofilních podmínek tzv. „one-step“ procesem, tj. uložením do termostatu 55 °C. K testům byl použit až po 15 dnech, kdy koncentrace metanu v bioplynu dosáhla více jak 60%. Sušina kalu na začátku pokusu byla 4 g/l, pH cca 7,2±0,2, ORP – 221 mV. Tímto způsobem připravený termofilní kal byl použit pro testování vzorků PLA a směsi PLA/PHB, folie označené jako SVIT i folie STRUNA. Jako kontrola byla použita mikrokrytalická celulóza. Na začátku pokusu došlo k dramatickému poklesu procentuálního zastoupení metanu v bioplynu u všech vzorků, včetně slepého pokusu vzorku (obrázek 3). Více jak 60% zastoupení metanu v bioplynu bylo dosaženo opět až za 15 dní. Během toto procesu dochází pravděpodobně k odumírání mikroorganismů, což se potom projevuje jednak vysokým nárůstem anorganického uhlíku v inokulu a rovněž vysokou endogenní respirací přeživšího kalu.

Na konci pokusu, který trval 90 dnů, byly dosahovány velmi vysoké koncentrace anorganického uhlíku (až k hodnotám 450 mg/l) a současně došlo k výraznému zvýšení pH kalu z původních cca 7,2±0,2 až za 8,5±0,3. Tuto skutečnost publikovali Yagi a spol. v práci, kde podobným způsobem připravovali termofilní kal z inokula z bioplynové stanice zpracovávající zemědělské zbytky po chovu krav. Při teplotě 55 °C dochází k výraznému zvýšení přetlaku v bioreaktoru způsobeného teplotou a vyvíjecím se bioplynem, což samozřejmě způsobuje nárůst koncentrace oxidu uhličitého v kapalně fázi a to i při endogenní respiraci. Potom je problém při výpočtu D_T , poněvadž vysoké koncentrace anorganického uhlíku měl i slepý pokus.



Obrázek 3: Procentuální zastoupení CH_4 ve vyprodukovaném bioplynu v termofilním anaerobním kalu ($55^\circ C$)

Celkový stupeň mineralizace (D_t) vzorků folií z PLA a směsi PLA s PHB a přídatnými složkami (plastifikátor + kompatibilizátor) byl vyhodnocen jako v předchozím pokusu a to z celkového množství uhlíku vyprodukovaném ve vyvíjecím se bioplynu m_c , po započítání množství anorganického uhlíku nalezeného na konci pokusu v kapalně fázi m_l , které bylo vztaheno k množství uhlíku vloženého na začátku pokusu m_v (rovnice č. 1).

Stupeň degradace vzorků pomocí stanovení úbytku hmotnosti folií (Δm) po provedeném testu biodegradace nebylo možno provést, protože v bioreaktorech žádné zbytky folií nebyly nalezeny. Výsledky tohoto pokusu jsou shrnuty v tabulce č. 3

Tabulka 3: Biodegradace vzorků PLA a směsi PLA/PHB dle produkce bioplynu a množství CO_2 rozpuštěného v kapalně fázi (D_T) a dle úbytku hmotnosti (Δm) v anaerobní termofilním kalu ($55^\circ C$)

Vzorek	D_T [%]	Δm [%]
celulosa	88,9	-
PLA	64,9	-
PLA/PHB	79,2	-
SVIT	79,9	-
STRUNA	83,7	-

I když celkový stupeň mineralizace (D_t), stanovený dle produkce uhlíku v bioplynu a v kapalně fázi dosahoval cca 65% pro folii PLA, dá se na základě toho, že po 90 dnech nebyly nalezeny v kalu žádné zbytky folie usuzovat, že za termofilních podmínek ($55^\circ C$) dochází k úplné degradaci tohoto materiálu. Uvedená skutečnost koresponduje s provedenou abiotickou hydrolýzou vzorků. Totéž platí i pro ostatní

vzorky. Jinak řečeno teplota má rozhodující vliv jak na hydrolyzu, tak na celkovou degradaci materiálu složeného z PLA a PHB za termofilních anaerobních podmínek.

Závěr

Bylo potvrzeno, že čistá kyselina polymléčná (PLA) se v prostředí mezofilního kalu (37°C) nerozkládá. Vzorek STRUNA obsahující PLA + 2% kompatibilizátoru byl vůči degradaci a anaerobním mezofilním kalu rovněž rezistentní. Biodegradace směsi PLA/PHB obsahující 85% PLA a 15 % polyhydroxybutyrátu (PHB) dosáhla pro tenkou folii 12,2 %, folie označená jako SVIT obsahující 85 % PLA a 15% PHB + plastifikátor (triacetínem) a kompatibilizátor (Jonkryl®4368) se rozložila z 8%, což v podstatě odpovídá procentuálnímu zastoupení velmi snadno degradovatelného PHB.

Za podmínek v prostředí termofilního anaerobního kalu, připraveného v laboratoři jednostupňovým převodem z 37°C do 55 °C, bylo dle produkce bioplynu stanoveno výrazné navýšení stupně rozkladu výše uvedených materiálů. Všechny folie se během pokusu zcela rozpadly a nebylo možno je v kalu identifikovat. Degradace PLA a vzorků směsí PLA/PHB (85:15) při teplotě 55 °C byla potvrzena i abiotickou hydrolyzou. Na základě těchto výsledků lze tvrdit, že biologický rozklad PLA a jejich směsí s PHB ve vodném anaerobním prostředí je významně ovlivněn teplotou.

Literatura

- [1] K. Fukushima, C. Abbate, D. Tabuani, M. Gennari, G. Camino, Biodegradation of poly(lactic acid) and its nanocomposites, *Polym Degrad Stabil* 94 (10) (2009) 1646-1655.
- [2] K. Fukushima, D. Tabuani, G. Camino, Nanocomposites of PLA and PCL based on montmorillonite and sepiolite, *Mat Sci Eng C-Bio S* 29 (4) (2009) 1433-1441.
- [3] G. Kale, R. Auras, S.P. Singh, R. Narayan, Biodegradability of polylactide bottles in real and simulated composting conditions, *Polym Test* 26 (8) (2007) 1049-1061.
- [4] O. Cadar, M. Paul, C. Roman, M. Miclean, C. Majdik, Biodegradation behaviour of poly(lactic acid) and (lactic acid-ethylene glycol-malonic or succinic acid) copolymers under controlled composting conditions in a laboratory test system, *Polym Degrad Stabil* 97 (3) (2012) 354-357.
- [5] B.G. Hermann, L. Debeer, B. De Wilde, K. Blok, M.K. Patel, To compost or not to compost: Carbon and energy footprints of biodegradable materials' waste treatment, *Polym Degrad Stabil* 96 (6) (2011) 1159-1171.
- [6] T. Kijchavengkul, R. Auras, M. Rubino, M. Ngouajio, R.T. Fernandez, Development of an automatic laboratory-scale respirometric system to measure polymer biodegradability, *Polym Test* 25 (8) (2006) 1006-1016.
- [7] J.J. Kolstad, E.T.H. Vink, B. De Wilde, L. Debeer, Assessment of anaerobic degradation of Ingeo (TM) polylactides under accelerated landfill conditions, *Polym Degrad Stabil* 97 (7) (2012) 1131-1141.
- [8] M.J. Krause, T.G. Townsend, Life-Cycle Assumptions of Landfilled Polylactic Acid Underpredict Methane Generation, *Environ Sci Tech Let* 3 (4) (2016) 166-169.
- [9] H. Yagi, F. Ninomiya, M. Funabashi, M. Kunioka, Anaerobic Biodegradation Tests of Poly(lactic acid) under Mesophilic and Thermophilic Conditions Using a New Evaluation System for Methane Fermentation in Anaerobic Sludge, *Int J Mol Sci* 10 (9) (2009) 3824-3835.
- [10] H. Yagi, F. Ninomiya, M. Funabashi, M. Kunioka, Anaerobic biodegradation tests of poly(lactic acid) and polycaprolactone using new evaluation system for methane fermentation in anaerobic sludge, *Polym Degrad Stabil* 94 (9) (2009) 1397-1404.
- [11] H. Yagi, F. Ninomiya, M. Funabashi, M. Kunioka, Bioplastic biodegradation activity of anaerobic sludge prepared by preincubation at 55 degrees C for new anaerobic biodegradation test, *Polym Degrad Stabil* 95 (8) (2010) 1349-1355.
- [12] H. Yagi, F. Ninomiya, M. Funabashi, M. Kunioka, Anaerobic Biodegradation of Poly (Lactic Acid) Film in Anaerobic Sludge, *J Polym Environ* 20 (3) (2012) 673-680.

- [13] H. Yagi, F. Ninomiya, M. Funabashi, M. Kunioka, Thermophilic anaerobic biodegradation test and analysis of eubacteria involved in anaerobic biodegradation of four specified biodegradable polyesters, *Polym Degrad Stabil* 98 (6) (2013) 1182-1187.
- [14] B. Shi, V. Topolkarayev, J. Wang, *Biopolymers, Processing, and Biodegradation*, *Acs Sym Ser* 1063 (2011) 117-132.
- [15] M. Itavaara, S. Karjomaa, J.F. Selin, Biodegradation of polylactide in aerobic and anaerobic thermophilic conditions, *Chemosphere* 46 (6) (2002) 879-885.
- [16] S.P. Lyu, J. Schley, B. Loy, D. Lind, C. Hobot, R. Sparer, D. Untereker, Kinetics and time-temperature equivalence of polymer degradation, *Biomacromolecules* 8 (7) (2007) 2301-2310.
- [17] E.J. Jung, P.K. Shin, H.K. Bae, Effects of temperature and compost conditions on the biodegradation of degradable polymers, *J Microbiol Biotechnol* 9 (4) (1999) 464-468.
- [18] Y.X. Weng, Y.J. Jin, Q.Y. Meng, L. Wang, M. Zhang, Y.Z. Wang, Biodegradation behavior of poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT), poly(lactic acid) (PLA), and their blend under soil conditions, *Polym Test* 32 (5) (2013) 918-926.
- [19] M.A. Abdelwahab, A. Flynn, B.S. Chiou, S. Imam, W. Orts, E. Chiellini, Thermal, mechanical and morphological characterization of plasticized PLA-PHB blends, *Polym Degrad Stabil* 97 (9) (2012) 1822-1828.
- [20] M.P. Arrieta, E. Fortunati, F. Dominici, E. Rayon, J. Lopez, J.M. Kenny, PLA-PHB/cellulose based films: Mechanical, barrier and disintegration properties, *Polym Degrad Stabil* 107 (2014) 139-149.
- [21] P. Stloukal, M. Koutny, V. Sedlarik, P. Kucharczyk, Biodegradation of High Molecular Weight Polylactic Acid, *Aip Conf Proc* 1459 (2012) 20-22.
- [22] B. Shi, D. Palfery, Enhanced Mineralization of PLA Meltblown Materials Due to Plasticization, *J Polym Environ* 18 (2) (2010) 122-127.

Biodegradation of blend PLA/PHB in thermophilic anaerobic aqueous conditions

Marie Dvořáčková, Michaela Bartuňková, Marek Koutný

¹Department of Environmental Engineering, Faculty of Technology, Tomas Bata University in Zlín, Czech republic
e-mail dvorackovat@ft.utb.cz

Abstract

This work investigates the biodegradation of PLA poly(lactid-acid) and blend PLA with Polyhydroxybutyrate (PHB) in an environment of mesophilic (37°C) and thermophilic (55°C) anaerobic sludge. The thermophilic anaerobic sludge was prepared in a laboratory from mesophilic sludge sourced from a municipal waste water treatment plant and placed under thermophilic conditions. It was confirmed that PLA failed to decompose under mesophilic anaerobic conditions, while the degree of biodegradation achieved under thermophilic conditions more than 80%. The blend of PLA / PHB was under anaerobic thermophilic conditions almost completely decomposed, but under anaerobic mesophilic conditions, the decomposition rate corresponded approximately representation of PHB in the mixture. Abiotic hydrolysis of blend PLA/PBS in an environment of phosphate buffer (pH 7) at 55°C reached 23.8%, leading to the conclusion that hydrolytic enzymes present in thermophilic anaerobic sludge are involved in the biodegradation process as well as abiotic hydrolysis.

Key words: Poly(lactic acid), PLA, PHB, biodegradation, anaerobic degradation, thermophilic, hydrolysis