



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

STANOVENÍ MIKROPLASTŮ PLA V PŮDĚ PYROLÝZNÍMI METODAMI

DETERMINATION OF PLA MICROPLASTICS IN SOIL BY USING PYROLYSIS METHODS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Ivana Románková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Jiří Kučerík, Ph.D.

BRNO 2020

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1468/2019 Akademický rok: 2019/20
Ústav: Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí
Studentka: **Bc. Ivana Románková**
Studijní program: Chemie a technologie ochrany životního prostředí
Studijní obor: Chemie a technologie ochrany životního prostředí
Vedoucí práce: **doc. Ing. Jiří Kučerík, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Stanovení mikroplastů PLA v půdě pyrolýzními metodami

Zadání diplomové práce:

1. Literární rešerše na téma mikroplasty v půdě a jejich identifikace, pyrolýza PLA a analýza produktů a využití metody analýzy uvolněných plynů pro identifikaci mikroplastů.
2. Příprava vzorků PLA s různými typy půdy.
3. Změření připravených vzorků, analýza plynů.
4. Zhodnocení získaných výsledků a diskuze.

Termín odevzdání diplomové práce: 7.5.2020:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Ivana Románková
student(ka)

doc. Ing. Jiří Kučerík, Ph.D.
vedoucí práce

doc. Ing. Jiří Kučerík, Ph.D.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

V súčasnosti predstavuje plastový odpad jedno z najväčších rizík pre životné prostredie. Plasty vplývajú na životné prostredie vo všetkých fázach svojho životného cyklu. Bioplasty sa začali vo veľkom používať ako náhrada za bežné plasty, bez podrobnejšieho preskúmania ich správania za reálnych podmienok v životnom prostredí. V dôsledku toho sa predpokladá, že sa môžu akumulovať v životnom prostredí a tak vznikla otázka ako ich identifikovať.

Hlavným cieľom tejto diplomovej práce je vývoj metódy, založenej na pyrolýze vzoriek, ktorá by bola vhodná na identifikáciu a stanovenie množstva PLA mikroplastov v pôde a iných pevných matriciach.

Na analýzu boli použité tri druhy pôd a kal. Tieto matrice boli potom spikované aby sa vytvorili koncentračné rady v rozmedzí 0,2% - 5,0%. Výsledkom pyrolýzy boli vyvinuté plyny so signálmi m/z 29, 43 a 44, ktoré pochádzali z PLA a boli vhodné na kvalitatívnu a kvantitatívnu analýzu.

Analýza PLA v kale bola komplikovanejšia kvôli podobnosti plynov vyvíjajúcich sa z čistej matrice. Testovali sme tri prístupy založené na analýze plochy pík, intenzít pík a teplotách vývoja plynov. Zatiaľ čo prvý prístup zlyhal, posledné dva prístupy sa javia ako sľubné pre kvalitatívnu a kvantitatívnu analýzu PLA v kale.

Tiež bolo navrhnutých/vyvinutých niekoľko spôsobov vhodných pre kvalitatívnu a kvantitatívnu analýzu aj veľmi malých množstiev PLA v pôdach a kaloch založených na analýze zloženie a dynamiky uvoľnených plynov a charakteristických degradačných teplotách.

KLÚČOVÉ SLOVÁ

Bioplasty, kyselina poly(mliečna) – PLA, mikroplasty, pôda, kal, analýza uvoľnených plynov

ABSTRACT

Nowadays, plastic waste poses one of the greatest risks to the environment. Plastics affect the environment at all stages of their life cycle. Bioplastics have become widely used as a substitute for conventional plastics, without detailed examination of their behavior in real environmental conditions. As a result, it is assumed that they can accumulate in the environment and the question arose as to how to identify them.

The main goal of this thesis is to develop a method based on sample pyrolysis that is suitable for the identification and determination of the amount of PLA microplastics in soil and other solid matrices.

Three types of soils and sludge were used for analysis. These matrices were spiked to obtain concentration ranges 0,2% - 5,0%. The pyrolysis resulted in evolution of gases with the signals m/z 29, 43 and 44, which originated from PLA and are suitable for qualitative and quantitative analysis.

Analysis of PLA in sludge was more complicated due to similarity of gases evolved from pure matrices. We tested three approaches based on analysis of signal's peak areas, intensities and temperatures of gas evolution. While the first approach failed, the last two approaches appeared to be promising for qualitative and quantitative analysis of PLA in the sludge.

Several methods suitable for qualitative and quantitative analysis of even very small amounts of PLA in soils and sludge have also been designed/developed. These methods were based on analysis of the composition and dynamics of the released gases and the characteristic degradation temperatures.

KEYWORDS

Bioplastics, polylactic acid – PLA, microplastics, soil, sludge, evolved gas analysis

ROMÁNEKOVÁ, Ivana. Stanovení mikroplastů PLA v půdě pyrolýzními metodami [online]. Brno, 2020 [cit. 2020-04-30]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/123900>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí. Vedoucí práce Jiří Kučerík.

POĎAKOVANIE

Na tomto mieste by som rada poďakovala najmä vedúcemu mojej diplomovej práce pánu doc. Ing. Jiří Kučeríkovi, Ph.D. a môjmu konzultantovi Ing. Jakubovi Fojtovi za ich cenné rady a pripomienky, konzultácie a trpezlivosť preukázané počas písania tejto diplomovej práce. Ďalej by som chcela poďakovať Mgr. Báře Komárkové za poskytnutie technických konzultácií a pomoci počas merania experimentálnej časti a Mgr. Monice Motlochové, Ph.D. za prevedenie dodatočných meraní.

The authors acknowledge the assistance provided by the Research Infrastructure NanoEnviCz, supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic under Project No. LM2018124.

PREHLÁSENIE

Prehlasujem, že diplomovú prácu som vypracovala samostatne a že všetky použité literárne zdroje som správne a úplne citovala. Diplomová práca je z hľadiska obsahu majetkom Fakulty chemickej VUT v Brně a môže byť využitá ku komerčným účelom iba so súhlasom vedúceho diplomovej práce a dekana FCH VUT.

.....
Podpis študenta

OBSAH

1 ÚVOD.....	8
2 TEORETICKÁ ČASŤ	9
2.1 Bioplasty	9
2.1.1 Najčastejšie používané bioplasty	10
2.2 Kyselina poly(mliečna) – PLA	13
2.2.1 Hodnotenie životného cyklu – Life cycle assessment (LCA)	14
2.2.2 Využitie PLA.....	15
2.2.3 Biologický rozklad	16
2.2.4 Degradácia PLA.....	17
2.2.4.1 Degradácia PLA v pôde	17
2.2.4.2 Degradácia PLA v komposte.....	18
2.2.4.3 Degradácia PLA v akvatickom prostredí	18
2.3 Recyklácia bioplastov	18
2.3.1 Recyklácia PLA	18
2.4 Mikroplasty	19
2.4.1 Vznik mikroplastov	20
2.4.1.1 Primárne mikroplasty (PMPs).....	20
2.4.1.2 Sekundárne mikroplasty (SMPs).....	21
2.4.2 Vplyv mikroplastov v životnom prostredí.....	21
2.4.3 Vplyv MPs a PLA na pôdny ekosystém.....	23
2.5 Spôsoby stanovenia mikroplastov v pevných matriciach	25
2.5.1 Pôda.....	25
2.5.2 Čistiarenský kal.....	26
2.5.3 Identifikácia mikroplastov	27
2.5.3.1 Termická analýza.....	28
3 CIEĽ PRÁCE	31
4 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ	32
4.1 Použité prístroje, pomôcky a chemikálie	32
4.2 Chemikálie a štandardy (matrice).....	32
4.3 Mikroplastové analyty.....	32
4.4 Pracovný postup	33
4.4.1 Príprava vzorkou.....	33
4.4.2 Analýza uvoľnených plynov.....	34
4.4.3 Analýza čistého PLA a matric.....	35
5 VÝSLEDKY A DISKUSIA	35
5.1 Analýza uvoľnených plynov čistého PLA.....	35
5.2 Analýza uvoľnených plynov čistej pôdy	37
5.3 Analýza uvoľnených plynov kontaminovanej pôdy	38
5.3.1 Kvalitatívna analýza.....	38
5.3.1.1 Výber vhodných m/z pre identifikáciu PLA v pôde.....	39
5.3.2 Kvantitatívna analýza.....	40
5.3.3 Limity detekcie a limity kvantifikácie	41

5.4 Analýza uvoľnených plynov čistého kalu	45
5.5 Analýza uvoľnených plynov kontaminovaného kalu	46
5.5.1 Vyhodnotenie dát pomocou plochy piku	46
5.5.2 Vyhodnotenie dát pomocou intenzity pikov	49
5.5.3 Vyhodnotenie dát pomocou teplotného posunu	52
5.6 Kondenzácie degradačných produktov v kapiláre	53
5.7 Zhrnutie výsledkov	56
6 ZÁVER	57
7 ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY	58
8 ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK	74
9 PRÍLOHY	76

1 ÚVOD

Znečistenie všetkých zložiek životného prostredia plastmi (najmä plastovým odpadom) sa v priebehu posledných desaťročí stáva stále väčším problémom. Pre rozmach populácie a zvyšujúce sa nároky na kvalitu ľudského života sa od polovice minulého storočia začali vo veľkom využívať materiály vytvárané z ropy, t.j. plasty. Plasty vďaka svojim vlastnostiam, relatívne lacnej a jednoduchej výrobe a širokému uplatneniu rýchlo nahradili dovtedy bežne používané prírodné materiály ako napr. drevo, bambus, kameň či dokonca aj kovy a sklo. Zavedením tohto materiálu do všetkých oblastí každodenného života sa z plastov rýchlo stala nevyhnutná súčasť našich životov a tým sa začala takzvaná doba plastová.

Ako sa v priebehu rokov stále zvyšovala produkcia plastov, zarovno toho sa tiež zvyšovala aj produkcia plastového odpadu a pre lepšie pochopenie rizika, ktoré predstavujú plasty v životnom prostredí, je potrebné si uvedomiť, aké množstvo odpadu je vyprodukované a ako plasty pôsobia na zložky životného prostredia. Jedna z posledných kontrol, ktorá prebehla v roku 2016 spoločnosťou PlasticsEurope a Európskou asociáciou pre recykláciu a regeneráciu plastov (EPRO) uvádza, že dopyt po polymérnych materiáloch dokopy v Európskej únii, Nórsku a Švajčiarsku bol 49,9 miliónov ton. Zozbieraný plastový odpad dosiahol 16,7 miliónov ton z čoho recyklovaných bolo 41 %, energeticky využitých 39 % a zbytok bol uložený na skládkach [1]. Práve plasty uložené na skládky môžu predstavovať najväčšie riziko, keď sa zistilo, že ročne približne 5 až 12 ton plastového odpadu zo skládok, vplyvom rôznych faktorov končí v oceánoch a to tieto údaje boli stanovené iba pre rok 2010 použitím informácií zo 192 pobrežných krajín [2].

Prítomnosť plastov v životnom prostredí predstavuje veľké problémy z čoho ako najväčšie riziko boli určené mikroplasty. Prítomnosť mikroplastov bola detekovaná už aj v najvzdialenejších miestach našej planéty ako sú ostrovy stredného Atlantiku, Antarktické oblasti a dokonca aj v hlbokomorských biotopoch. Celkové dôsledky vplyvu mikroplastov v životnom prostredí sa stále skúmajú. Avšak už v mnohých štúdiách bol dokázaný ich negatívny vplyv na všetky zložky životného prostredia.

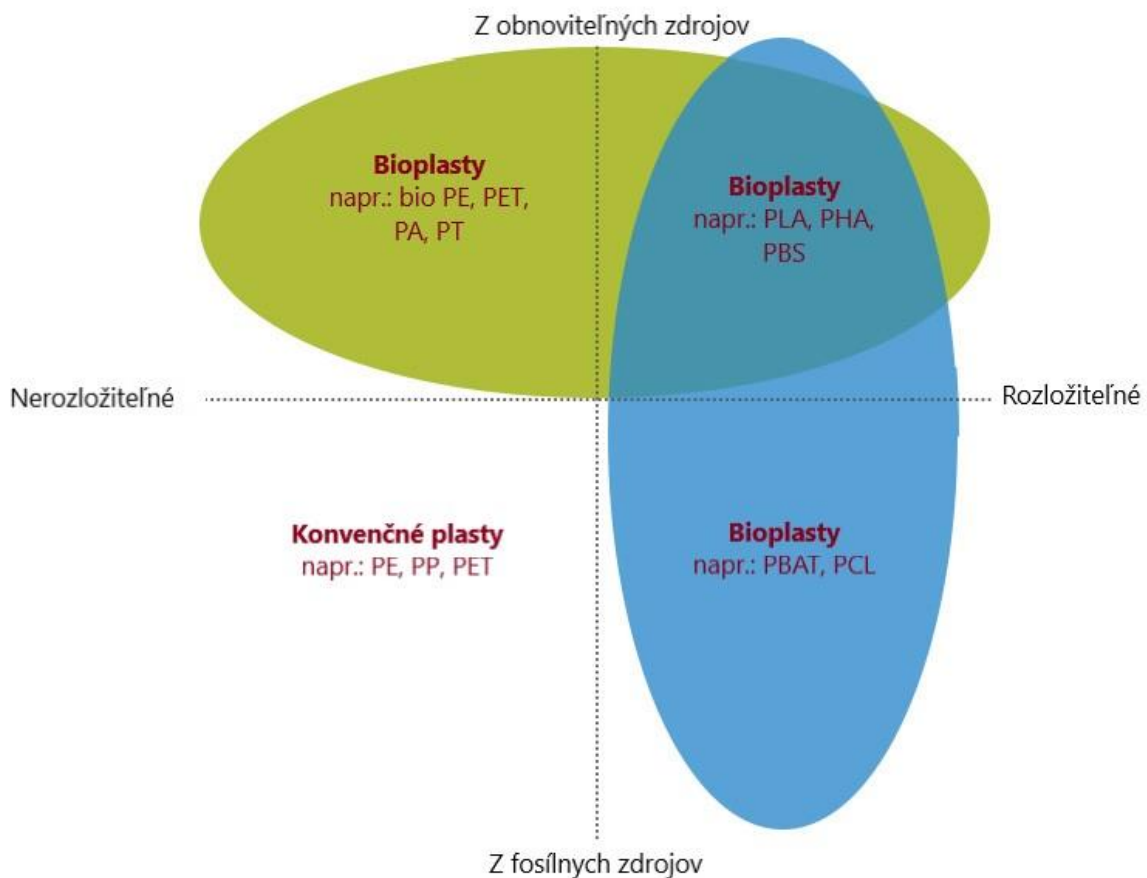
Práve z týchto dôvodov boli v posledných rokoch rozsiahlo skúmané spôsoby a možnosti ako túto problematiku vyriešiť. Jeden z takýchto spôsobov bol predstavený vo forme bioplastov. Bioplasty mali byť spôsobom, ako obmedziť množstvo plastového odpadu v životnom prostredí, rovnako ako mali obmedziť množstvo mikroplastov dostávajúcich sa do životného prostredia. Avšak, ako vyplíva z nasledujúcich kapitól, väčšina bioplastov degraduje iba za určitých podmienok a riziko vzniku mikroplastov nejde úplne vylúčiť. A na rozdiel od syntetických plastov, metódy pre stanovenie bioplastov zatiaľ chýbajú.

2 TEORETICKÁ ČASŤ

2.1 Bioplasty

Terminológia používaná v tejto oblasti je niekedy zavádzajúca. Bioplasty sú plastické polyméry vyrobené z materiálov prírodného pôvodu (pochádzajúcich z rastlín a živočíchov), ako sú sacharidy (škrob, celulóza, chinín), bielkoviny (želatina, hodváb, vlna), lipidy (rastlinné oleje, živočíšne tuky) alebo sú syntetizované z materiálov ako je prírodný kaučuk či z polymérov vyprodukovaných mikroorganizmami [3, 4].

Predpona *bio-* vychádza z gréckeho βίος [bios] – život. V prípade polymérov teda predpona *bio-* odkazuje buď na prírodný pôvod materiálu, alebo na jeho zánik či degradáciu spôsobenú živými mikroorganizmami [5]. Na základe tejto charakteristiky sa bioplasty vo všeobecnosti rozdeľujú do dvoch skupín. Na plasty vyrábané z obnoviteľných surovín tvz. bio-based a/alebo biologicky rozložiteľné. O bio-based plasty sa jedná vtedy ak nás zaujíma pôvod stavebného materiálu a nie jeho biologická rozložiteľnosť na konci životného cyklu. Tu je dôležité pochopiť, že všetky bio-based (biologicky založené) materiály nie sú vždy charakterizované ako biologicky rozložiteľné a podobne nie všetky biologicky rozložiteľné materiály sú bio-based. Za biologicky rozložiteľný materiál sa považuje taký, ktorý sa za vhodných podmienok rozkladá vplyvom mikroorganizmov a ktoré tento materiál využívajú ako zdroj potravy. Biologicky rozložiteľný plast teda môže byť vyrobený aj z ropy. Ak dôjde k úplnému rozloženiu materiálu v komposte v priebehu 180 dní je tento materiál taktiež považovaný za kompostovateľný [4].



Obrázok 1: Rozdelenie plastov [4].

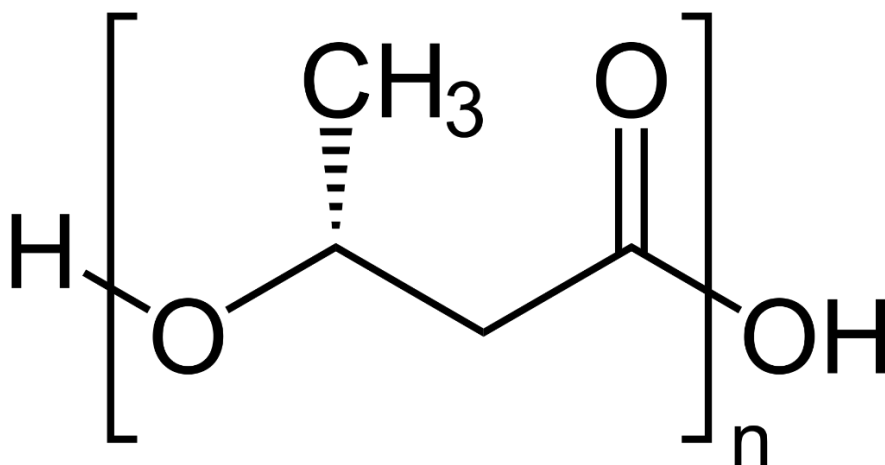
Biologicky rozložiteľné polyméry pochádzajú z rôznych zdrojov, od prírodných až po syntetické [6]. Prírodné polyméry sú dostupné vo veľkých množstvách z obnoviteľných zdrojov, zatiaľ čo syntetické polyméry sa vyrábajú z neobnoviteľných ropných zdrojov [4, 7]. Počas procesu biodegradácie sa biologicky rozložiteľné polyméry rozdeľujú na jednoduchšie zložky a redistribujú sa prostredníctvom elementárnych cyklov. Sú to cykly uhlíka a dusíka. Konečnými produktmi procesu degradácie pri aeróbných podmienkach sú oxid uhličitý (CO₂), voda a biomasa. Pri anaeróbných podmienkach sú konečnými produktmi uhl'ovodíky, metán a biomasa [8].

Mimo základného rozdelenia biopolymérov na bio-based a biologicky rozložiteľné existuje presnejšie zaradenie a to do jednej z týchto 4 skupín [9, 10]:

- a) Biopolyméry extrahované priamo z prírodných surovín, ako sú polysacharidy, proteíny a morské prokaryoty
- b) Biopolyméry vyrobené chemickou syntézou z biologicky získaných monomérov: PLA (kyselina polylaktónová), PCL (polykaprolaktón)
- c) Biopolyméry produkované mikroorganizmami alebo geneticky modifikovanými baktériami: PHA (polyhydroxyalkanoát), PHB (polyhydroxybutyrát), PHV (polyhydroxyvalerát)
- d) Biopolyméry vyrobené zo surovej ropy, ako sú alifatické a aromatické polyestery, polyvinylalkohol

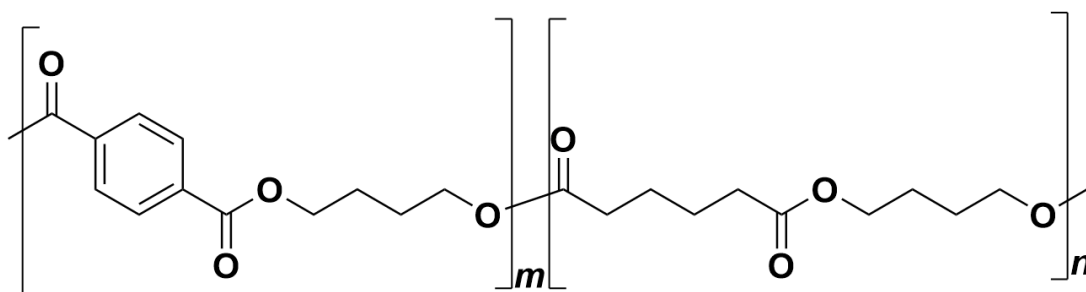
2.1.1 Najčastejšie používané bioplasty

PHB je biopolymér syntetizovaný širokým spektrom mikroorganizmov. Poly-3-hydroxybutyrát (PHB) sa vytvára v prostredí, kde je obmedzené množstvo dusíka a fosforu, ale dostatok uhlíka. Za takýchto podmienok sú niektoré baktérie schopné si vytvárať energetické zásoby v podobe PHB. Aby produkcia PHB bola možná, je nutné, aby tieto baktérie boli v určitom rastovom období vystavené stresu a to najmä v podobe nedostatku živín. Tieto energetické zásoby by potom boli použité k ďalšiemu vývoju baktérie, ak by bola vyčerpaná zásoba uhlíka v prostredí. PHB je biopolymér podobný polypropylénu a môže byť ľahko biologicky odbúrateľný. Za aeróbných podmienok degraduje na CO₂ a vodu, za anaeróbných na metán. Výrobný proces PHB prebieha v dvoch fázach. V prvej fáze sú všetky výživové látky potrebné na rast bunky (zdroj uhlíka, NH₃ a O₂) dostupné a koncentrácia biomasy stúpa až do požadovanej úrovne. V druhej fáze je dostupnosť živín (najmä dusíka) obmedzená, čo vedie k zastaveniu rastu biomasy a presmerovaniu prebytočného zdroju uhlíka na výrobu PHB. Medzi organizmy schopné vyprodukovať PHB patria mikroorganizmy rodov *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Bacillus* a *Pseudomonas*. Produkcia PHB bola pozorne skúmaná a bolo zistené, že druh zdroja uhlíka mal výrazný vplyv na výrobu biopolyméru. Najlepšiu produkciu PHB poskytol acetát ako zdroj uhlíka. PHB je vo vode nerozpustný a relatívne odolný voči hydrolytickej degradácii, čo ho odlišuje od väčšiny súčasne dostupných biopolymérov. Tiež ma dobrú odolnosť voči UV-žiareniu, ale nízku odolnosť voči kyselinám a zásadám. Nie je toxický a vďaka jeho biokompatibilite je vhodný pre biomedicínske aplikácie. PHB sa tiež používa na výrobu obalov a jednorázových plastových materiálov [11, 12, 13].



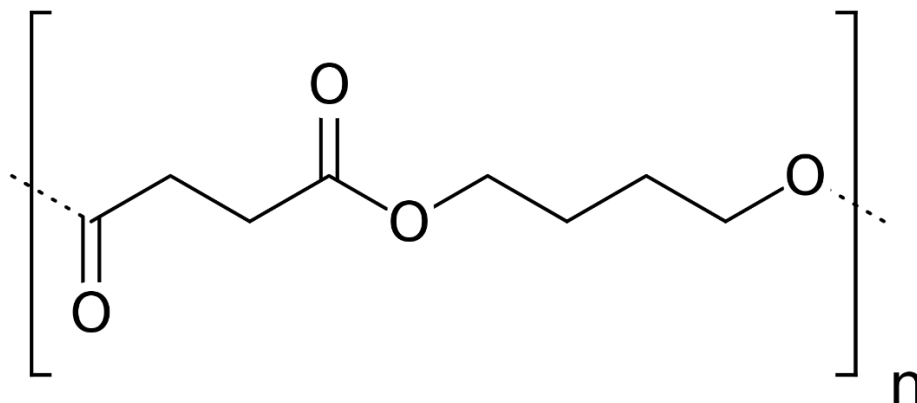
Obrázok 2: Chemická štruktúra polyhydroxybutyrátu [14].

PBAT (polybutylénadipát-ko-tereftalát) je syntetický polymér na báze fosílnych zdrojov, 100% biologicky odbúrateľný a veľmi flexibilný. Tento biopolymér sa pripravuje transesterifikačnou reakciou za kontrolovaných podmienok a preto všeobecne vykazuje predvídateľné a reprodukovateľné vlastnosti. Môže sa použiť v niekoľkých aplikáciách, ako sú obalové materiály (vrecia na odpadky, nádoby na potraviny, fólie), hygienické výrobky (bavlnené tampóny, časti plienok) a biomedicínske materiály. Biodegradácia PBAT závisí od jeho chemickej štruktúry (hlavne od obsahu tereftalátu) a okolitých podmienok. V niektorých prípadoch biodegradácia nastáva enzymatickým pôsobením mikroorganizmov ako sú huby, riasy a baktérie prítomné v životnom prostredí. V iných prípadoch k biologickej degradácii dochádza kombinovaným procesom depolymerizácie (rozklad polymérneho reťazca neenzymatickou reakciou napr. hydrolýza alebo tepelná degradácia) a metabolizáciou vzniknutých medziproduktov mikroorganizmami. Vysoké výrobné náklady a nízka termofyzikálna a mechanická odolnosť, v porovnaní s inými biopolymermi sú prekážkami, ktoré bránia širšiemu použitiu tohto polyméru. Z týchto dôvodov je rozvoj v oblasti PBAT veľmi pomalý a zameraný najmä na zlepšenie jeho vlastností a na zníženie nákladov na jeho výrobu. Jeden z takýchto spôsobov je pridanie laciných materiálov (prírodné vlákna a deriváty celulózy) na spevnenie materiálu, pričom je dôležité zachovanie jeho biologickej odbúrateľnosti. Napriek týmto nedostatkom sa PBAT a jeho kompozity používajú v rôznych oblastiach, ako napríklad v biomedicínskych aplikáciách a na výrobu obalov potravín [15, 16, 17].



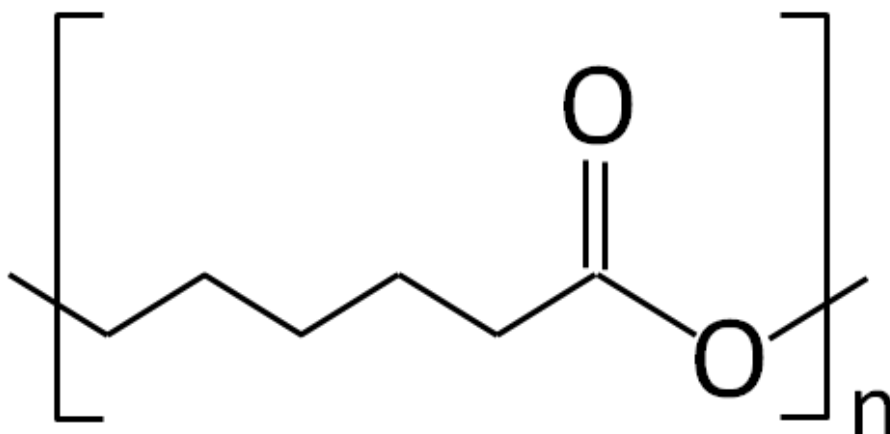
Obrázok 3: Chemická štruktúra polybutylénadipát-ko-tereftalátu [18].

PBS (polybutylénsukcinát) je biologicky degradovateľný, semikrištalický, termoplastický polyester syntetizovaný polykondenzáciou kyseliny jantárovej a 1,4-butándiolu. V minulosti tieto stavebné bloky boli výlučne získavané z fosílnych surovín, ale v súčasnosti je ich možné získať zo 100% biologických zdrojov ako je sacharóza alebo glukóza. Vďaka jeho mechanickým vlastnostiam, ktoré su zrovnateľné s bežne používaným polyetylénom s nízkou hustotou (LDPE), je to veľmi sľubný polymér. Biologicky sa rozkladá na CO₂, vodu a biomasu a práve preto je ho možné zneškodňovať spolu s iným organickým odpadom (je kompostovateľný). PBS je veľmi flexibilný, a preto nie je potrebné pridávanie plastifikátorov. Môže sa použiť ako matricový polymér (pri výrobe kopolymérov) alebo v rôznych aplikáciách, ktoré zahŕňajú balenie potravín, mulčovacie fólie, kvetináče, hygienické výrobky, rybárske siete a rybárske vlasce [19, 20].



Obrázok 4: Chemická štruktúra polybutylénsukcinátu [18].

PCL (polykaprolaktón) je syntetický, biologicky odbúrateľný polyester, ktorý sa vyrába zo surovej ropy. Má dobrú odolnosť voči vode, olejom, rozpúšťadlám a chlóru. Je to hydrofóbny semikrištalický polymér. Kryštalická povaha PCL určuje teplotu topenia (medzi 59 a 64 °C) a tvarovateľnosť pri relatívne nízkych teplotách. Jeho kryštalita má tendenciu klesať so zvyšujúcou sa molekulovou hmotnosťou. Dobrá rozpustnosť PCL, jeho nízka teplota topenia a výnimočná kompatibilita podnietili rozsiahly výskum jeho potenciálneho uplatnenia v biomedicínskych aplikáciách. Mimo biomedicínskych aplikácií (lekárske implantáty a riadené systémy dodávania liečiv) sa PCL začalo využívať v oblasti vyrábania obalov. PCL je možné pripraviť buď polymerizáciou cyklického monoméru ϵ -kaprolaktónu v prítomnosti rôznych aniónových, kationových a koordinačných katalyzátorov alebo pomocou polymerizácie 2-metylén-1,3-dioxepánu. Existujú rôzne možnosti a mechanizmy, ktoré ovplyvňujú polymerizáciu polyméru. Každá z týchto metód ovplyvňuje výslednú molekulovú hmotnosť, zloženie koncových skupín a chemickú štruktúru kopolymérov vyrobených z daného PCL. Bohužiaľ, rozšírená komercializácia PCL je obmedzená, pretože jeho výroba je zložitá a nákladná [21, 22, 23].



Obrázok 5: Chemická štruktúra polykaprolaktónu [24].

V porovnaní s týmito biopolymérmi má PLA nespočetné výhody, vrátane relatívne jednoduchej výroby laktidového monoméru, fixácie významného množstva CO₂ a významnej úspory energie. Ďalšími výhodami sú možnosť spätnej recyklácie pomocou hydrolyzy alebo alkoholýzy, zníženie objemu skládok (výroba kompostovateľných predmetov), zlepšenie kvality poľnohospodárstva a predovšetkým schopnosť prispôsobiť fyzikálne vlastnosti prostredníctvom materiálových úprav [25].

2.2 Kyselina poly(mliečna) – PLA

Prvé zmienky o PLA siahajú až k začiatku 19. storočia. No vtedajšia metóda produkovala len malé množstvo PLA nízkej kvality a trvalo takmer ďalších 100 rokov, kým bol výrobný proces zdokonalený a skomercializovaný. Všeobecne možno monomér LA získať fermentáciou dextrózy (dextrose) baktériami, pričom dextróza je získaná z rastlinného škrobu. Monomér je možné vytvoriť aj chemickou syntézou [6]. Je to teda polyester na báze škrobu s hydrolyzovateľnou kostrou, ktorá je náchylná na biodegradáciu.

Existujú dva hlavné spôsoby výroby kyseliny polymliečnej z monoméru kyseliny mliečnej. Jedná sa buď o priamu kondenzačnú polymerizáciu kyseliny mliečnej alebo ring opening polymerizáciu cez laktidový medziprodukt. Pri prvom spôsobe (priama kondenzácia) je voda ostraňovaná kondenzáciou a použitím rozpúšťadla za vysokých teplôt a vákuu. Týmto spôsobom je možné vyrábať iba polyméry s nízkou až strednou molekulovou hmotnosťou a to hlavne kvôli prítomnosti vody a nečistôt. Ďalšími nevýhodami tohto spôsobu výroby sú veľké reaktory, nutnosť odparovania a regenerácie rozpúšťadla. Pri ring-opening polymerizácii je v prvom kroku voda odstránená (za miernych podmienok a bez použitia rozpúšťadla) za vzniku prepolyméru s nízkou molekulovou hmotnosťou. Tento prepolymér sa potom katalicky depolymerizuje za vzniku diméru cyklického medziproduktu, označovaného ako laktid, ktorý sa následne prečistí destiláciou na stupeň polyméru. Vyčistený laktid sa polymerizuje bez použitia rozpúšťadla. Reguláciou čistoty laktidu je možné produkovať širokú škálu molekulových hmotností [26].

PLA získala na význame najmä vďaka svojim mechanickým vlastnostiam, ktoré sú podobné plastom ako je polystyrén (PS) a polyetyléntereftalát (PET). Má množstvo priaznivých vlastností vrátane ľahkosti výroby, nízkej toxicite, biokompatibility, vysokej mechanickej pevnosti a je kompostovateľný. Práve pre jeho dobré vlastnosti je často využívaný v biomedicínskych aplikáciách, ako sú chirurgické stehy a implantáty alebo pri riadenom

dodávaní liečiv. PLA je tiež často využívané pri výrobe rôznych obalov. PLA môže existovať v troch stereochemických formách: poly(l-laktid) (PLLA), poly(d-laktid) (PDLA) a poly(dl-laktid) (PDLLA), pričom toto rozloženie má vplyv na kryštalitu, ktorá následne ovplyvňuje teplotu topenia a teplotu skleneného prechodu. Keďže PLA je polymér syntetizovaný z obnoviteľných zdrojov, predpokladá sa, že jeho používanie by mohlo pomôcť znížiť spotrebu fosílnych palív v porovnaní z bežnými petrochemickými polymérmi [27, 28, 29].

2.2.1 Hodnotenie životného cyklu – Life cycle assessment (LCA)

Hodnotenie životného cyklu (LCA) je metóda, ktorá zohľadňuje environmentálne vplyvy spojené s výrobkom alebo službou. Pojem „životný cyklus“ znamená, že sa berú do úvahy všetky fázy života produktu, od ťažby zdrojov až po konečné zneškodnenie. LCA pozostáva z 4 hlavných fáz:

- 1) Definícia cieľu a rozsahu: slúži na definovanie účelu a rozsahu štúdie a obsahuje opis študovaného systému
- 2) Inventarizačná analýza: pozostáva zo zberu analýzy údajov. Zhromažďujú sa údaje o zásahoch do životného prostredia (emisie, využívanie pôdy a zdrojov, hluk atď.) spojené s každým procesom v životnom cykle.
- 3) Hodnotenie vplyvu: slúži na vyhodnotenie významu environmentálnych zásahov obsiahnutých v súpise životného cyklu. V praxi takýto súpis obsahuje dlhý zoznam emisií a použitých zdrojov. Účelom je určenie procesov, ktoré najviac prispievajú k celkovému vplyvu
- 4) Interpretácia: je to vyhodnotenie štúdie s cieľom odvodiť odporúčania a závery

LCA je zložitý proces, kde rôzne interpretácie môžu viesť k úprave cieľa a rozsahu alebo k ďalšiemu skúmaniu súvisiacich vplyvov. A aj keď LCA sa v posledných rokoch stalo sofistikovanešie, tento proces má stále ďaleko od dokonalosti a berie sa do úvahy, že inventarizácia úplne všetkých vplyvov nie je možná. A však vo svete, v ktorom má každá ľudská činnosť vplyv na životné prostredie, je potrebné usilovať o čo najrozsiahlejšie a najlepšie informované závery [30, 31, 32].

Niektoré štúdie porovnali LCA PLA so syntetickými plastmi a bolo zistené, že spôsob výroby PLA má menšiu produkciu čistých emisií skleníkových plynov a predstavuje menšiu záťaž pre neobnoviteľné zdroje. PLA tiež vykazovalo lepšie výsledky pri testoch zameriavajúcich sa na vznik fotochemického ozónu a pri eutrofizácii a príspevku k okysleniu poľnohospodárskych pôd [33, 34]. Avšak, tieto prínosy môžu byť narušené, ak zneškodnenie tohto materiálu (PLA) spôsobuje výrazne negatívne vplyvy na životné prostredie. S cieľom zlepšiť alternatívy likvidácie odpadu a minimalizovať ich účinky na životné prostredie je dôležité študovať vplyv PLA z hľadiska emisií a spotreby energie. Práve na toto sa zamerala jedna zo štúdií LCA [35], kde boli študované tri formy (spôsoby) nakladania s PLA odpadom. Medzi tieto formy patrila chemická a mechanická recyklácia a kompostovanie. Údaje pre hodnotenie vplyvu kompostovania boli získané pomocou experimentov v laboratórnom prostredí. Údaje o polymerizácii pri chemickej recyklácii boli získané z počítačových simulácií a údaje o mechanickej recyklácii boli získané kombináciou laboratórnych experimentov a údajov z komerčnej továrne na mechanickejšiu recykláciu plastov. V kategóriách: negatívny vplyv na podnebie, toxicita pre ľudský organizmus a čerpanie fosílnych látok LCA ukázalo, že mechanická recyklácia mala najmenší vplyv na životné prostredie.

Nasledovaná bola chemickou recykláciou a kompostovaním a v úvahu sa brala aj spotreba elektrickej energie. Tieto zistenia podporila aj ďalšia štúdia, kedy Detzel, Krüger a Kauertz [36] ukázali, že kompostovanie nemusí byť nevyhnutne najlepším riešením nakladania s PLA odpadom, pretože táto možnosť poskytuje nižšie environmentálne výhody v porovnaní s chemickou recykláciou a energetickou regeneráciou (spaľovanie v kotloch na výrobu energie). K podobným výsledkom sa prepracovali aj ďalšie štúdie [37, 38, 39].



Obrázok 6: Životný cyklus PLA polyméru [40].

2.2.2 Využitie PLA

Po dlhú dobu sa PLA, považovalo za zbytočný polymér a to z dôvodu jeho citlivosti na teplo a vodu, čo vylučovalo tepelné spracovanie. Táto situácia bola ukončená v šesťdesiatych rokoch minulého storočia, kedy boli z tohto materiálu vytvorené umelé stehy a ukázalo sa, že PLA s vysokou molekulovou hmotnosťou je zaujímavý materiál pre biomedicínske aplikácie [41]. Odvtedy bolo PLA intenzívne študované s ohľadom na potenciálne aplikácie ako dočasné terapeutické pomôcky v chirurgii (vnútorná fixácia zlomenín kostí) a farmakológii (spôsob riadeného dodávania liečiv). PLA polymér sa používa aj k výrobe ortopedických

implantátov. Z dôvodu biologickej kompatibility, degradovateľnosti, mineralizácie alebo metabolizácie vedľajších degradačných produktov je PLA polymér v súčasnosti považovaný za najlepšiu zlúčeninu pre mnohé aplikácie v biomedicínskej oblasti [42].

V dnešnej dobe bioplasty celosvetovo tvoria takmer 300 000 ton trhu s plastmi. Toto však predstavuje menej ako 1 % zo 181 milióna ton syntetických plastov, ktoré sa každoročne vo svete vyrábajú [43] a v súčasnosti sa spoločnosť Nature Works LLC považuje za lídra v technológii výroby a nakladania s PLA. Za posledných 10 rokov táto spoločnosť vykonala rozsiahly výskum vo vývoji produktov na báze PLA. Táto firma sa zameriava na dva druhy vlákien. Na vlákna používané pri výrobe plastov alebo obalov a na vlákna, ktoré sa používajú v špeciálnych textilných aplikáciách. Mimo produktov vyrobených čisto z PLA už existujú aj kopolyméry (polyméry vyrobené z viacerých druhov). Kyselina polymliečna našla úspech v kombinácii s kyselinou glykolovou (PLGA). Táto kombinácia sa začala využívať v biomedicínskych aplikáciách a v systémoch dodania liečiv založených na nanotechnológiách [44].

PLA polymér sa vďaka vhodným vlastnostiam začal vo veľkom používať na výrobu rôznych obalov, kompostových vriec, sypkých náplní a jednorazových riadov. PLA sa tiež využíva na výrobu nábytku, rôznych elektrických zariadení a súčiastok. Vo forme vlákien a netkaných textílií má PLA mnoho potenciálnych využití, napríklad pri výrobe čalúnení, oblečenia, dámskych hygienických výrobkov a plienok [45, 46].

Nedávno bola PLA navrhnutá aj ako matrica na riadené uvoľňovanie herbicídov z dôvodu níženia záťaže na životné prostredie. Skleníkové štúdie potvrdili, že použitie PLA ako enkapsulačnej matrice pre herbicídy by mohlo poskytnúť zníženie negatívneho vplyvu na životné prostredie, zlepšiť kontrolu buriny a súčasne zvýšiť výťažok sójových bôbov uvoľňovaním stimulátorov rastu rastlín vo forme oligomérskej alebo monomérskej kyseliny mliečnej [47].

2.2.3 Biologický rozklad

Biologická degradácia alebo skráteno biodegradácia, je proces degradácie polymérneho materiálu, ktorý využíva funkcie mikrobiálnych organizmov na premenu organických substrátov. Prítomné mikroorganizmy (riasy, huby a baktérie) rozoznávajú polymér ako zdroj výživy a energie, ktoré potrebujú pre život a teda polyméry sú potravou pre tieto mikroorganizmy. Proces prebieha vplyvom rôznych enzýmov a postupne vedie k tvorbe menších molekúl. Tie potom vstupujú do metabolických procesov prebiehajúcich v bunkách a súčasne s vydaním energie sa premieňajú na vodu, CO₂, biomasu a iné produkty biologického rozkladu. Charakteristické pre tieto produkty je, že nie sú toxické a sú bežné prítomné v životnom prostredí. Materiál (polymér) je týmto spôsobom konvertovaný na prvky, bežne sa vyskytujúce v prírode. V procese degradácie najskôr dochádza k fragmentácii, počas ktorej je materiál pod vplyvom biotických aj abiotických faktorov mechanicky dezintegrován, pričom produkty dezintegrácie sa v ďalšej fáze účinkom mikroorganizmov mineralizujú. Aby bolo možné tento proces označiť za biodegradáciu, musí nastať druhá fáza, kde prebieha konverzia fragmentov polymérov na konečné produkty. K biodegradácii dochádza najskôr na povrchu polyméru a vnútorná časť je všeobecne nedostupná k účinkom degradácie. Rýchlosť biodegradácie je závislá od povrchovej plochy plastu a práve tu pomáha proces fragmentácie, aby bolo umožnené vniknutie mikroorganizmov do vnútorných častí polyméru (pre iniciáciu biodegradácie) [48, 49, 50].

Schopnosť polymérov degradovať výlučne závisí od štruktúry polyméru a teda od jeho fyzikálnych a chemických vlastností. Účinnosť biodegradácie súvisí s kľúčovými vlastnosťami polymérov, ako je jeho molekulová hmotnosť a kryštalita. Nezáleží na tom, či je polymér vyrobený z obnoviteľných zdrojov (biomasa) alebo z neobnoviteľných zdrojov (ropa), ale iba od jeho konečnej štruktúry. Taktiež nezáleží od procesu výroby polyméru, keď sa môže jednať o chemický proces (syntéza) alebo biotechnologický (pôsobenie mikroorganizmov) [48, 51].

2.2.4 Degradácia PLA

PLA je prvý polymér založený na obnoviteľných surovinách, ktorý je komerčne dostupný vo veľkom meradle. Je to kompostovateľný materiál, ktorý spĺňa špecifikácie medzinárodných noriem (CEN, 2000). Proces degradácie PLA v životnom prostredí je ovplyvňovaný jej materiálovými vlastnosťami, ako je molekulárna štruktúra prvého rádu (molekulová hmotnosť, optická čistota) a štruktúry vyššieho rádu (kryštalita, T_g a T_m). Tento proces rovnako ovplyvňujú faktory prostredia ako je vlhkosť, teplota, pH, prítomnosť mikroorganizmov alebo enzýmov a intenzita UV žiarenia. Degradácia PLA sa vo všeobecnosti považuje za dvojstupňový (dvojkrokový) mechanizmus zahŕňajúci najskôr abiotické faktory (chemická hydrolyza v prítomnosti vody a pri zvýšených teplotách) a potom biotické (rozklad pomocou mikroorganizmov) [29]. Ak má PLA nízku molekulovú hmotnosť ($M_w < 100\,000$ D) je krehká, zakalená a nepriehľadná, zatiaľ čo pri vyšších molekulových hmotnostiach je PLA silnejšia, transparentnejšia a menej náchylná k degradácii [10]. Kryštalické oblasti v rámci PLA hydrolyzujú omnoho pomalšie ako amorfné oblasti, pretože voda difunduje ľahšie do menej organizovaných amorfných oblastí v porovnaní s usporiadanejšími kryštalickými oblasťami, čo spôsobuje vyššie rýchlosti hydrolyzy a zvýšenú náchylnosť k biodegradácii [29, 53]. V semikryštalickej PLA dochádza najskôr k degradácii v amorfných oblastiach a až neskôr v kryštalických oblastiach. Z tohto dôvodu časom narastá podiel kryštalických oblastí v PLA a rýchlosť degradácie klesá. Zvyšujúce sa koncentrácie D-jednotiek v PLA znižujú optickú čistotu a pravidelnosť, čo vedie k väčšej difúzii vody cez polymérnu maticu v amorfných oblastiach a urýchľuje hydrolyzu [54].

2.2.4.1 Degradácia PLA v pôde

Pretože plastový odpad (či už bioplast alebo klasický plast) často končí na skládkach alebo v pôdnom prostredí je potrebné preskúmať biodegradabilitu PLA plastov práve v tomto prostredí. V jednej zo štúdií bolo zistené že degradácia v pôdnom prostredí prebieha veľmi pomaly a že PLA pre účinnú degradáciu vyžaduje zvýšenú teplotu [55]. Ohkita a Lee sa vo svojom experimente rozhodli zakopať čisté PLA, ktoré po 6 týždňoch vykazovalo len nepatrné známky degradácie [56]. Podobný experiment sa rozhodla vyskúšať M. Kamiya, ktorá zakopala PLA filmy do pôdy po dobu 120 dní. V tomto prípade tiež nebola pozorovaná degradácia PLA filmov [57].

Dlhodobá degradácia PLA bola tiež skúmaná niekoľkými experimentmi, kedy sa rozhodli PLA zakopať v časovom rozmedzí jeden až dva roky. Po uplynutí daných časových úsekov (1 rok, 20 mesiacov, 2 roky) boli buď zistené len veľmi malé úbytky molekulárnej hmotnosti PLA (do 20 %) alebo nebol zistený žiaden hmotnostný úbytok [58, 59, 60].

Takmer vo všetkých štúdiách, ktoré sa zaoberali degradáciou PLA v pôde bolo podotknuté, že zloženie pôdy a klimatické podmienky okolia zohrávajú dôležité úlohy v procesoch degradácie.

2.2.4.2 Degradácia PLA v komposte

V prvom rade je potrebné upresniť či sa jedná o kompostovanie domáce alebo priemyselné, pretože jednotlivé druhy kompostovania môžu viesť k iným výsledkom. Štúdium PLA bioplastov v podmienkach domáceho kompostovania počas 11 mesiacov ukázalo len veľmi pomalú degradáciu, čo by sa mohlo pripísať nižšej teplote ako ktorej sa dosahuje pri priemyselnom kompostovaní [55]. Štúdie Judith Sarasi a H. K. Ahn dokázali že degradabilita PLA v procese kompostovania je ovplyvnená aj aditívami pridávanými do bioplastov v procese výroby pre zlepšenie niektorých vlastností [61, 62]. Ďalšie štúdie, zameriavajúce sa na rôzne materiály vyrobené z PLA zistili, že čas degradácie je odlišný. Pri PLA filmoch degradácia prebehala do 20 dní a pri látkach vyrobených z PLA to bolo až 40 dní. Komerčne dostupné fľaše a obaly na jedlo vyrobené z PLA v komposte zdegradovali za približne 30 dní, pričom degradácia fliaš bola rýchlejšia v dôsledku vyššieho stupňa kryštalinity [63, 64].

2.2.4.3 Degradácia PLA v akvatickom prostredí

Na rozdiel od terestrického prostredia existuje len zopár štúdií, ktoré sa zaoberajú degradáciou PLA vo vodnom prostredí. V jednej z týchto štúdií skúmali degradáciu v statickej i dynamickej morskej vode. Po 10 týždňoch nebol zistený žiaden dôkaz mikrobiálnej degradácie [65, 66], zatiaľ čo ďalšia štúdia uvádza malú zmenu v molekulovej hmotnosti PLA po 3 mesiacoch. Pri zvýšení teploty z 20 °C na 40 °C bol zistený 48 % hmotnostný úbytok, ktorý bol pripísaný skôr hydrolyze ako mikrobiálnej degradácii [67].

Ako bolo už napísané, degradabilita PLA je vysoko závislá od samotného zloženia bioplastu a od prostredia, v ktorom k degradácii dochádza. Z toho dôvodu existuje riziko rozsiahlej environmentálnej kontaminácie a environmentálnych problémov podobných tým, ktoré sa vyskytujú pri konvenčných plastoch [68]. Avšak ako kompostovateľný plast, ktorý hydrolyzuje pri zvýšených teplotách v procese urýchlennom prítomnosťou mikroorganizmov sa ukazuje kompostovanie, ako vhodný spôsob nakladania s PLA odpadom, ktorý značne znižuje riziko kontaminácie životného prostredia [3, 69].

2.3 Recyklácia bioplastov

Trvalo udržateľné využívanie zdrojov uhlíka bez ohľadu na to, či je založené na biologických zdrojoch alebo fosílnych palivách, musí zahŕňať aj recykláciu. A zvýšené využívanie bioplastov a biokompozitov môže mať v blízkej budúcnosti vážne dôsledky pre priemysel recyklácie plastov. Zavedenie bioplastov na trh prinieslo množstvo problémov, ktoré je potrebné vyriešiť. Jeden z problémov predstavuje ako efektívne oddeliť petroplasty od bioplastov pre zabránenie kontaminácie v procese recyklácie. Ďalším problémom je nutnosť zavedenia systému nakladania s bioplastovými odpadmi bez narušenia už existujúceho systému recyklácie petroplastov. Práve týmito problémami sa zaoberali v článku Azadeha Soroudi a Ignacy Jakubowicz a snažili sa zosumarizovať súčasne poznatky o témach týkajúcich sa výroby a recyklácie bioplastov [70].

2.3.1 Recyklácia PLA

PLA je jednou z najviac študovaných bioplastov v súvislosti s recyklovateľnosťou. A hoci je PLA biologicky rozložiteľný, čo významne znižuje negatívny vplyv odpadov z PLA na životné prostredie, je dôležité skúmanie možnosti recyklácie ako aj skúmanie zmien vlastností PLA pri viacnásobnom spracovaní. Práve na skúmanie vlastností PLA pri mnohonásobnom používaní sa zameralo niekoľko štúdií. Zenkiewicz testoval hodnoty pevnosti v ťahu, v priebehu 10 procesov a zistil, že tento pokles pevnosti bol len minimálny. Naopak zmena

hodnôt ako rýchlosť toku taveniny, rýchlosť prestupu vodnej pary a kyslíka bola výrazná a klesala každým ďalším procesom. So zvyšujúcim sa počtom cyklov, tepelné charakteristiky PLA ukázali mierny pokles tepelnej stability, zníženú teplotu kryštalizácie i teplotu topenia, ale žiaden vplyv na teplotu skleneného prechodu [71]. Ďalšia štúdia zase ukázala, že iba modul pevnosti v ťahu ostáva konštantný pri termomechanických cykloch (počet cyklov v štúdií bol 7). Naopak, napätie, napätie pri pretrhnutí, tvrdosť a reologické faktory všeobecne vykazujú znížené hodnoty pričom viskozita PLA výrazne klesla už po prvom cykle. Na základe týchto výsledkov bolo uvedené, že vlastnosti recyklovanej PLA sa zhoršili až natoľko, že ďalšie priemyselné využitie tohoto materiálu už nebolo možné. Znižujúce sa kvality PLA, v priebehu cyklov bolo pripísané štiepeniu reťazca, čo viedlo k významnému zníženiu molekulovej hmotnosti. V rámci experimentov zmiešali PLA s dvoma stabilizátormi (chinín a tropolón), pričom sa zistilo, že chinín je účinným stabilizátorom, ktorý zachytáva voľné radikály a udržuje dĺžku reťazca pri spracovateľských činnostiach. Po tomto zistení poukázali na fakt, že hlavným mechanizmom degradácie PLA je tvorba voľných radikálov a nie hydrolyza spôsobená vlhkosťou [72]. Nedávny zrýchlený test hygrotérmiálne starnutia potvrdil, že degradácia PLA je spôsobená reťazovými štiepnymi reakciami podporovanými teplotami, avšak s prítomnosťou vody v polymérnych maticiach sa vyskytuje aj hydrolytické štiepenie reťazca, čo bolo obzvlášť zrejme pri prepracovanej PLA a vyšších teplotách [73]. Bolo uvedené, že vlastnosti spracovanej PLA silno závisia od jej stereochemie a od podielu L a D-enantiomérov a nízke množstvá D-enantiomeru (pod 1,5 % hmot.) môžu spôsobiť zrýchlenú kryštalizáciu a krehkosť polyméru [74].

Aj keď sa momentálne mechanická recyklácia považuje za najvýhodnejší spôsob recyklácie, má stále určité obmedzenia ako napríklad už uvedená problematika premeny odpadu PLA na užitočné produkty dostatočnej kvality. Práve preto bolo potrebné preskúmať aj ostatné spôsoby recyklácie. Pri chemickej recyklácii sa molekuly polymérneho reťazca rozdeľujú na menšie uhlíkovodíkové molekuly, ktoré sa potom privádzajú do polymerizačného procesu [70]. Experimenty Saekia a kol. [75] preukázali, že účinnosť chemickej recyklácie je vysoko závislá od prevádzkových podmienok, ako je teplota, reakčný čas a pomer vody ku vzorku. Ďalej poukázali na skutočnosť, že v závislosti od teploty dochádzalo buď k recyklácii na kyselinu mliečnu (pri nižších teplotách) alebo k tepelnej degradácii na iné nízkomolekulové karboxylové kyseliny (pri vyšších teplotách).

2.4 Mikroplasty

Obavy ohľadne mikroplastov (MPs) a ich efektoch v životnom prostredí v globálnom meradle stále rastú spolu so snahou o nahradenie komerčných plastov bioplastmi. Preto musí byť prioritou výskumu aj lepšie pochopenie osudu a potenciálnych vplyvov MPs vzniknutých z bioplastov (bio-MPs). Napriek snahe o širšie pochopenie vplyvov MPs či už klasických alebo bio, ešte stále nie je presne definovaný pojem mikroplast. Avšak mnohí vedci sa zhodli na tom, že za MPs sa budú označovať častice menšie ako 5mm [76, 77, 78]. MPs sa vo všeobecnosti rozdeľujú do dvoch kategórií podľa zdroju, na primárne a sekundárne. Za primárny zdroj sa považujú mikroguličky a mikročastice, ktoré sa už dlhé roky využívajú v rôznych priemyselných aplikáciách. Sekundárne MPs sú také, ktoré vznikajú postupnou fragmentáciou väčších kusov plastov alebo výrobkov obsahujúcich plastové vlákna [79, 80]. Nebezpečie MPs spočíva v dvoch základných vlastnostiach týchto materiálov. Napriek ich malým veľkostiam to sú vynikajúce absorbenty nebezpečných látok a vďaka ich malým veľkostiam sú schopné sa akumulovať v biote a tým kontaminovať rôzne zložky životného prostredia.

Kontaminácia životného prostredia MPs sa v súčasnosti považuje za zvyšujúcu sa hrozbu pre biodiverzitu a správne fungovanie ekosystémov [81, 82].

O MPs vzniknutých z bioplastov (v tomto prípade z PLA) alebo teda o bio-mikroplastoch zatiaľ neexistuje veľa informácií a to z dôvodu toho, že PLA je kvalifikované ako biologicky rozložiteľné a preto by žiadne bio-MPs nemali vzniknúť. Napriek tejto idei bolo niekoľkými štúdiami dokázané, že PLA bio-plasty sa v pôde a v akvatickom prostredí nedegradujú tak dobre ako pri kompostovaní a preto tu môže hroziť riziko vzniku bio-MPs.

V jednej z takýchto štúdií sa zamerali na porovnávanie rýchlosti degradácie 3 druhov bioplastov, z ktorých jeden bol PLA. Tieto bioplasty boli nadrtené na prášok a zavedené do pôdy na určité časové obdobia (28 dní a 2 roky). Počas experimentu bolo taktiež zistené, že plocha povrchu nadrteného bioplastu je až 12-krát väčšia ako u bežných komerčných plastoch. Po 28 dňovom experimente na rozdiel od ostatných bioplastov u PLA neboli viditeľné žiadne známky degradácie. Po 2 rokoch boli výsledky podobné ako pri prvom experimente s rozdielom, že PLA vykazoval náznaky degradácie. Plná degradácia PLA vyžadovala ako mechanický zásah (nadrtenie) tak aj mikrobiálnu aktivitu a zvýšenú teplotu [83].

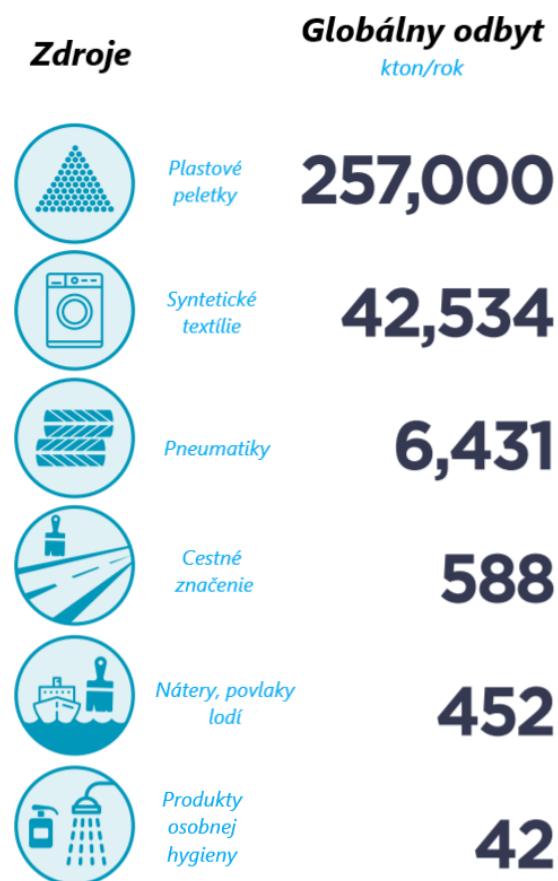
2.4.1 Vznik mikroplastov

2.4.1.1 Primárne mikroplasty (PMPs)

Za primárne zdroje mikroplastov sa považujú najmä pelety (mikroguličky a častice), ktoré sa vyrábajú a vstupujú do prostredia s malými veľkosťami [84]. Niektoré štúdie však navrhli širšiu škálu primárnych mikroplastov [85, 86, 87, 88]. Navrhli, aby medzi PMPs patrili nielen zámerne vytvorené, ale aj vedľajšie produkty vzniknuté počas používania plastových výrobkov (mikrovlákna oddelené od textílií, prachové častice z pneumatík, mikroplasty uvoľnené u umelých trávnikov či farieb). Domnievali sa že, PMPs sú tie, ktoré do životného prostredia pridávajú nový plastový materiál s malou veľkosťou (viz. Obrázok 7) a primárne zdroje mikroplastov rozdelili do troch základných skupín [85]:

- 1) Úmyselne vyrobené mikroplasty (85 %)
- 2) Vlastný vedľajší produkt iných výrobkov alebo činností: uvoľnené z textílií najmä pri praní (12 %)
- 3) Emitované do prostredia nehodou alebo neúmyselným únikom: pneumatiky alebo nátery povrchov (2 %)

Plastové mikročastice používané v prípravkoch každodennej hygieny sú už roky dobre známe ako mikroplastický zdroj. Od 70. rokov 20. storočia sa používanie mikročastíc v kozmetike výrazne zvýšilo, čím sa zvýšilo aj zaťaženie životného prostredia [85, 89]. Množstvo uvoľnených mikročastíc len z mydla na ruky sa v USA odhaduje na 1g na človeka za rok [90]. Súčasný výskum primárnych zdrojov sa zameriava najmä na emisné faktory alebo emisie z jedného zdroja. Medzi nimi je najbežnejšie uvoľňovanie mikrovlákien počas prania a vypúšťanie mikročastíc počas čistiacich procesov. V štúdií Cheunga a Foka odhadujú, že v Číne sa do vodného prostredia ročne dostane približne 3069 miliónov ton mikročastíc [84]. Medzinárodná únia na ochranu prírody (IUCN) poskytla hrubý odhad globálnych primárnych mikroplastických emisií a vypočítala množstvo vypustené do oceánu. V USA a niektorých rozvinutých krajinách Európy sú úniky primárnych mikroplastov rovnocenné alebo prevažujú sekundárne zdroje mikroplastov [88].



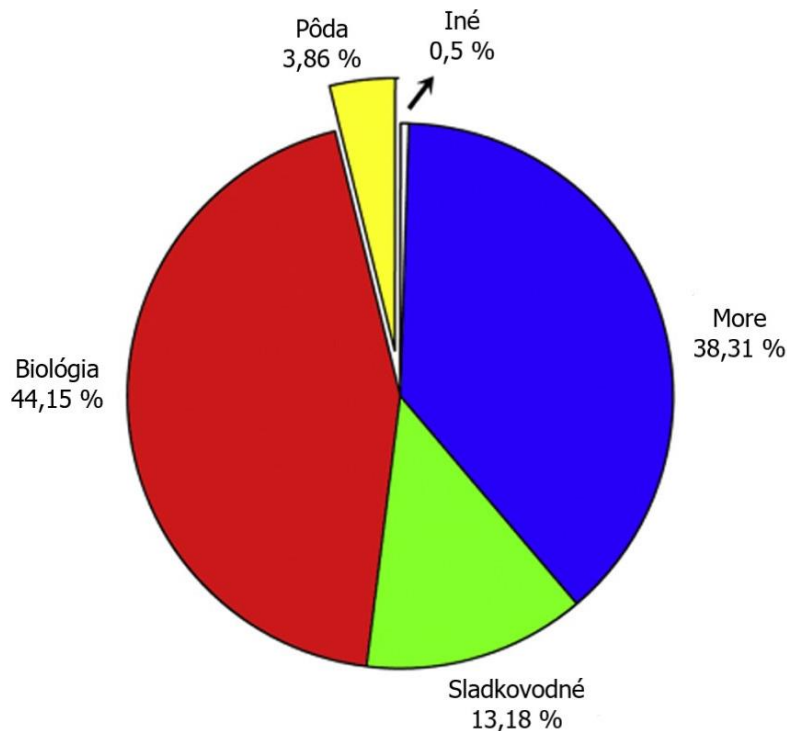
Obrázok 7: Primárne zdroje mikroplastov [173].

2.4.1.2 Sekundárne mikroplasty (SMPs)

Sekundárne mikroplasty pochádzajú z fragmentácie väčšieho plastového odpadu v prostredí [91]. Odhaduje sa, že rieky pôsobia ako hlavná dopravná cesta pre všetky veľkosti plastového odpadu a bolo vypočítané, že z riek každý rok vstupuje do oceánu od 1,15 do 2,41 milióna ton plastového odpadu [92]. Vzhľadom na veľké množstvo plastového odpadu vstupujúceho do životného prostredia sa všeobecne predpokladá, že väčšina MPs v prostredí sú sekundárneho pôvodu. Rozpad bežných plastov v suchozemskom prostredí je spôsobený najmä UV žiarením. A potom v dôsledku fotooxidačnej degradácie sa plast stáva krehkým a fragmentuje. Prírodné podmienky ako zmena teplôt (zmena ročných období) a poveternostné podmienky uľahčujú degradáciu, ktorá vedie k pomerne účinnej fragmentácii na súši a vo vode [93, 94, 95].

2.4.2 Vplyv mikroplastov v životnom prostredí

Vplyv MPs na životné prostredie a jeho zložky je už roky skúmaný po celom svete a prebehli už stovky experimentov spojené s touto problematikou. Napriek tomu, že pôdne ekosystémy, najmä poľnohospodárska pôda, boli uznané ako hlavný záchyt MPs najpodrobnejšie sú preskúmané vplyvy v akvatickom prostredí, konkrétne v slaných vodách (moria a oceány) a najmenej v terestrickom prostredí s výnimkou pôdneho prostredia, kde však stále vplyvy MPs zostávajú zväčša neznáme. Množstvo publikácií o vplyve MPs na jednotlivé zložky životného prostredia je znázornené na **Chyba! Nenašiel sa žiaden zdroj odkazov.**



Obrázok 8: Percentuálne zastúpenie publikácií zameriavajúcich sa na MPs podľa prostredia v ktorom boli skúmané [96].

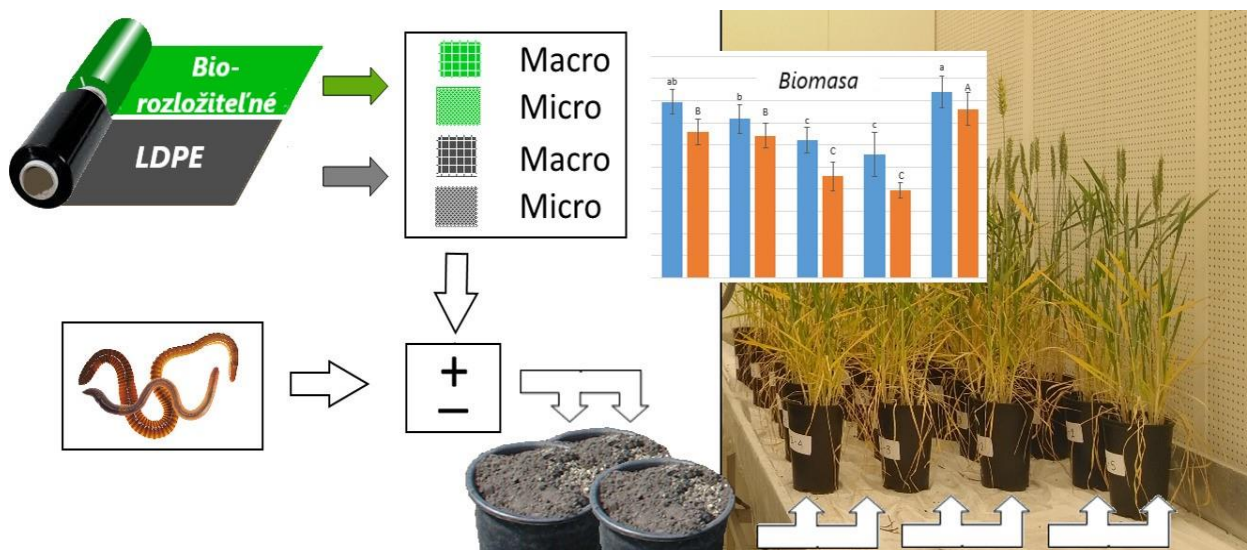
To, že MPs nepriaznivo pôsobí na biotu vo všetkých zložkách životného prostredia je už známi fakt, ktorý je podporený množstvom štúdií zameriavajúcich sa na túto problematiku. V rámci týchto štúdií prebehlo množstvo ekotoxikologických testov, vďaka ktorým boli negatívne vplyvy MPs trochu priblížené. Boli zistené priame ovplyvnenia celkovej fyziológie živočíchov, porušenie imunitných funkcií, zvýšená mortalita, znížená schopnosť reprodukcie. MPs môžu ovplyvňovať zložky životného prostredia i nepriamo a to napríklad akumuláciou vo vodnom prostredí menia prienik svetla do vodného stĺpca a tým ovplyvňujú biochemické cykly. Nebezpečná môže byť aj akumulácia MPs v sedimentoch [97, 98, 99, 100, 101, 102].

Štúdia z pred pár rokov (2016) skúmala tvorbu a distribúciu mikroskopických častíc počas degradácie rôznych plastových materiálov za urýchlených poveternostných podmienok v laboratóriu. Merané boli koncentrácie častíc vo veľkostnom rozsahu 30 nm – 60 μm. Každý jeden z použitých plastov vykazoval merateľné zvýšenie uvoľňovania častíc do roztoku, pričom PS a PLA často generovali najvyššie koncentrácie častíc. Bolo naznačené, že na začiatku poveternostných procesov sa fragmentuje veľa malých častíc z povrchu polyméru a k úplnej fragmentácii dôjde neskôr, až keď je polymér dostatočne oslabený. Zároveň bolo dokázané, že zo všetkých použitých plastov (PS, PLA - kyselina, PE - polyetylén, PP - polypropylén, PET) PLA vyprodukovalo druhú najvyššiu koncentráciu mikroskopických častíc, prekonané iba PS skupinou [103].

Ako MPs z bioplastov môžu ovplyvňovať biotu jednotlivých zložiek životného prostredia ešte nie je úplne známe. A práve na túto problematiku sa zamerala Dannielle Senga Green vo svojich štúdiách z rokov 2015 a 2016. Práve ona dodala prvé dôkazy o tom, že vysoké koncentrácie PLA vyvolali stres a zvýšili mieru respirácie u ústrie *Ostrea edulis* a podobné výsledky boli pozorované pri miere respirácie *Arenicola marina* L. v reakcii na vysoké koncentrácie PLA v piesčitých sedimentoch. Tieto zistenia naznačujú, že vyvolaný stres by

mohol ovplyvniť zdravotný stav a správanie niektorých živočíchov [104, 105].

Tým vedcov z holandskej univerzity WUR (Wageningen University & Research) porovnával vplyvy makro- a mikro-plastov (LDPE - polyetylén s nízkou hustotou) a bioplastov na rast pšenice (*Triticum aestivum*). Pokus v kvetináči (zobrazený na Obrázok 9) sa uskutočnil v klimateckej komore, pre určenie účinku pri 1% koncentrácií plastov na rast pšenice v prítomnosti a bez prítomnosti dážďoviek. Výsledky ukázali, že makro- a mikro-plastové častice ovplyvnili ako nadzemné, tak aj podzemne časti rastliny počas vegetatívneho aj reprodukčného obdobia. Bioplasty preukázali silnejšie negatívne účinky v porovnaní s polyetylénom. Prítomnosť dážďoviek mala pozitívny vplyv na rast pšenice a to predovšetkým pri skupinách kontaminovaných plastmi (bioplastmi), kedy tieto negatívne vplyvy zmierňovali. Dôsledky makro- a mikro-plastov a bioplastov na dážďovky však skúmané neboli [106].



Obrázok 9: Znárodnenie prevedenia experimentu pri skúmaní vplyvov makro- a mikro-plastov a bioplastov na rast pšenice [106].

Jedna z rozsiahlejších štúdií prebehla v Carnotovom inštitúte za účelom objasnenia ako degradácia niektorých biologicky rozložiteľných plastov môže ovplyvniť pôdnu ekológiu. Navrhnutý experiment prebehol za 21 dní (odber vzoriek každých 7 dní) a počas tohto experimentu bola sledovaná nitrifikačná aktivita. Predpoklad bol, že biologicky rozložiteľné plasty svojou degradáciou stimulujú bakteriálnu aktivitu. Avšak opak sa ukázal skutočnosťou, keď prítomnosť týchto bioplastov aktivitu znížila a bolo preukázané, že miera zníženia aktivity priamo súvisela od koncentrácie bioplastov v pôde. Počas tohto experimentu bolo rovnako sledované aj ako degradácia použitých bioplastov ovplyvňuje prítomné mikroorganizmy. A tak ako pri prvom zistení, bolo odhalené, že prítomnosť bioplastov nepriaznivo ovplyvnila aktivitu mikroorganizmov. Z týchto výsledkov bolo usúdené, že nie len pôda ma vplyv na degradáciu bioplastov ale aj to, že samotný proces degradácie bioplastov môže ovplyvniť kvalitu a ekológiu pôdy a v tomto prípade došlo k negatívnemu ovplyvneniu pôdneho prostredia [107].

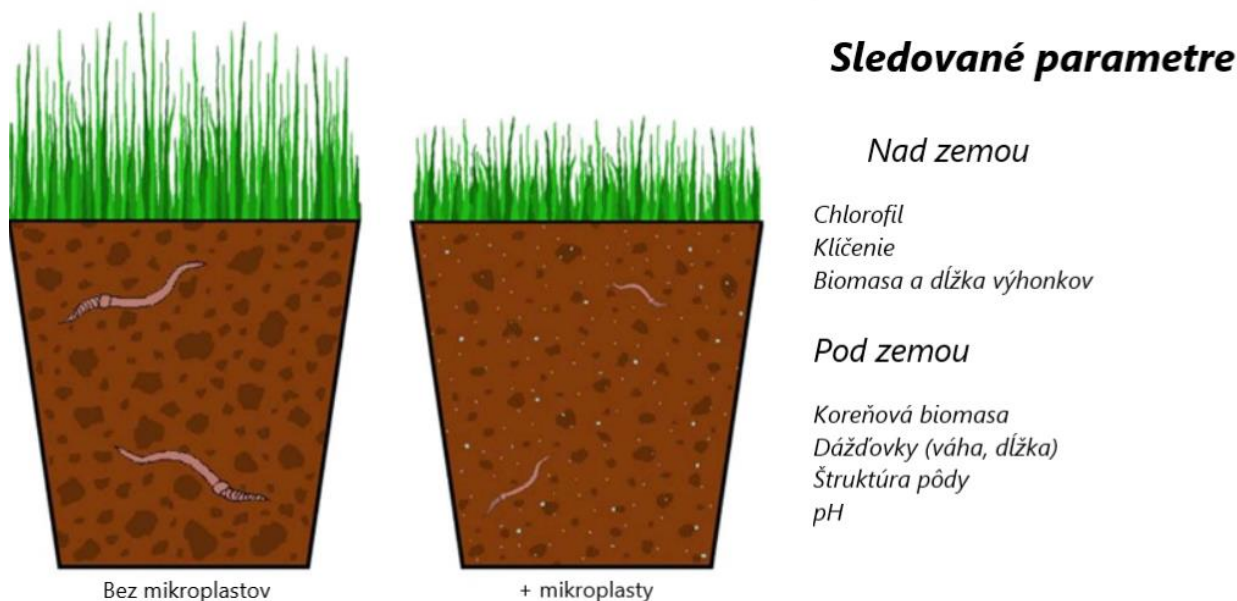
2.4.3 Vplyv MPs a PLA na pôdny ekosystém

Mikroplasty sa do pôdy môžu dostať niekoľkými cestami ako napríklad nesprávnym zachádzaním s plastovým odpadom pri jeho odstraňovaní, preprave a spracovaní. Ďalším spôsobom je rozpad poľnohospodárskych plastov (mlčové povlaky, tunely a potrubia) alebo

aplikácia čistiarenského kalu a regenerovaných odpadných vôd obsahujúcich MPs alebo plastové vlákna [108, 109, 110]. V štúdiu Hurleyho a Nizzetta z roku 2018 sa odhaduje, že týmito cestami sa do európskych pôd ročne dostáva 63 až 430 tisíc ton mikroplastov [111]. MPs sa potom môžu akumulovať v pôdnom reťazci potravín (*soil food web*) [112], kde fungujú ako sorbenty pre pesticídy a iné kontaminanty alebo nepriaznivo pôsobia na pôdne organizmy, prípadne znižujú stabilitu a kvalitu pôdy [113, 114].

Pre túto problematiku mikroplastov sa zvýšil nátlak na vyvinutie vhodných alternatív. A ako už bolo napísané najrozšírenejšou alternatívou sa stali práve bio-plasty, u ktorých sa predpokladalo, že prebehne úplná degradácia bez vzniku MPs. Táto domnienka bola vyvrátená u mnohých druhov bioplastov. Jedným z týchto plastov je práve PLA, u ktorého bolo preukázané, že k úplnej degradácii potrebuje vhodné podmienky (viz. vyššie) a bez splnenia týchto podmienok dochádza k degradácii veľmi pomaly, ak vôbec a fragmentácia na MPs prebieha rýchlejšie ako u bežných plastov. Na základe týchto poznatkov vedci začali skúmať vplyvy MPs PLA v životnom prostredí.

Štúdiá z minulého roku sa konkrétne zameriava na to ako prítomnosť PLA a iných druhov plastu môže ovplyvniť prirodzené pôdne prostredie. V tomto experimente skúmali dôsledky prítomnosti PLA ako pod zemou (koreňové systémy, stav dážďoviek, štruktúra pôdy, pH) tak nad zemou (klíčenie, výška a množstvo biomasy a množstvo chlorofylu). Sledované parametre spolu s naznačenými výsledkami sú znázornené na Obrázok 10. Na tieto testy boli využité semená rastliny *Lolium perenne* (Mätonoh trváci), *Aporrectodea rosea* (Dážďovka). Bolo zistené, že po 30 dňoch vyklíčilo výrazne menej semien v skupine kontaminovanej PLA a semená, ktoré vyklíčili mali až o 19 % nižšiu výšku oproti kontrolnej skupine. Množstvo chlorofylu sa medzi jednotlivými skupinami nijako zvlášť nelíšilo, avšak pomer medzi chlorofyl-a/chlorofyl-b bol odlišný od kontrolnej skupiny. Experiment s dážďovkami podobne ako s Mätonohom trval 30 dní a po uplynutí tejto doby boli dážďovky vybraté a preskúmané. V žiadnej z testovaných skupín nebola sledovaná mortalita a pri PLA nebola sledovaná ani žiadna výrazná strata či nabratie váhy. Pri sledovaní pH neboli vyzozorované žiadne výraznejšie zmeny. Prítomnosť PLA v pôde ovplyvnila stabilitu pôdneho agregátu priamymi zmenami vo väzbových mechanizmoch pôdy a to tým, že dochádza k redukcii veľkých makroagregátov (2000 μm) a nárastu mikroagregátov (63 μm). Stabilita pôdnej štruktúry je zásadná pre produktivitu pôdy ako aj pre stav rastlín a živočíchov prostredníctvom vplyvu pôdy na prepravu vody, plynu a živín. Zmeny v agregátoch môžu tiež spôsobiť zmeny v pôdnych uhlíkových procesoch [115].



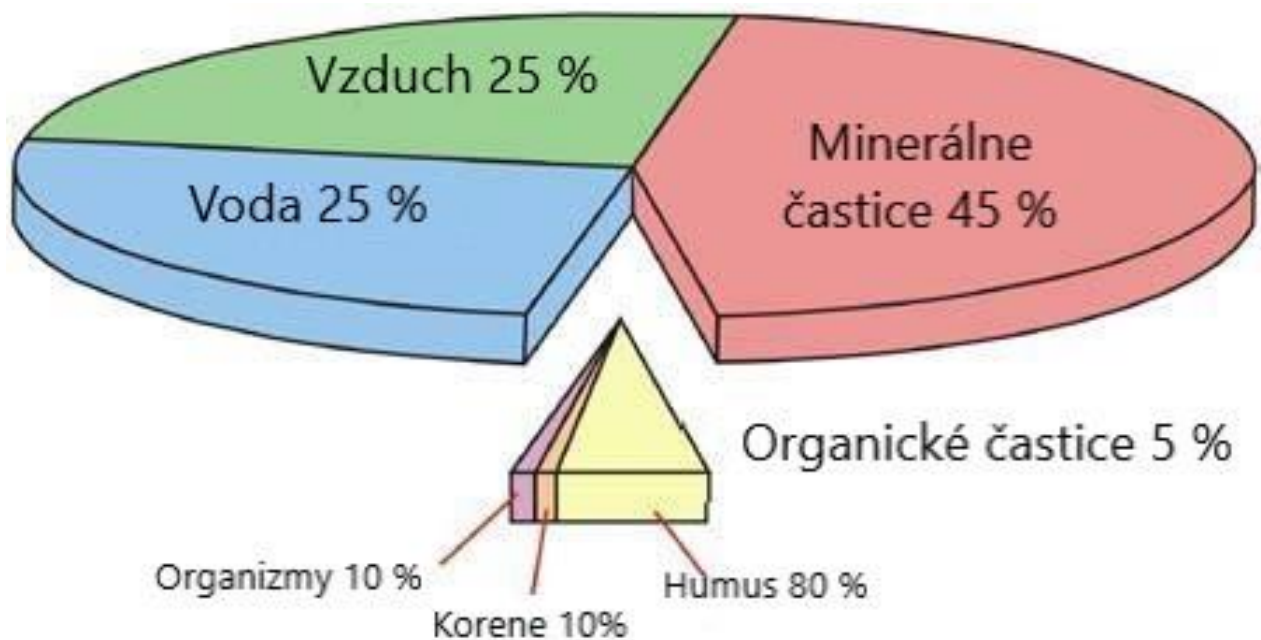
Obrázok 10: Znárodnenie vplyvu MPs na biotu pôdneho ekosystému v porovnaní z kontrolnou skupinou [115].

Ďalšie štúdie zameriavajúce sa na ekotoxicitu PLA v pôde prebehli v Brazílii. V jednej s týchto štúdií boli použité mikročastice PLA a za testovaciu rastlinu bol zvolený cesnak cibul'ový (*Allium cepa*) [116]. Tento experiment neukázal žiadne výrazné inhibície rastu, cytotoxicitu avšak prítomnosť PLA vyvolala aberáciu (odchýlka v štruktúre chromozómu). V inej štúdií sa zamerali na testovanie nanočastíc PLA, znova použitím *A. cepa*. Analýza umožnila pozorovanie inhibície bunkového delenia a genotoxické účinky pri degradácii v komposte, čo naznačuje, že toxickejšie ako samotné PLA, môžu byť produkty jeho degradácie [117].

2.5 Spôsobu stanovenia mikroplastov v pevných maticiach

2.5.1 Pôda

Za pôdu sa označuje najvrchnejšia zvetraná časť zemskej kôry, ktorá vznikla vzájomným pôsobením chemických, biologických a fyzikálnych síl. Tvorba a vývoj pôdy je dlhodobý a veľmi zložitý proces počas ktorého na materskú horninu pôsobia biotické aj abiotické faktory (zvetrávanie), čo je sprevádzané rôznymi chemickými zmenami. Počas vývoja sa prítomné látky postupne transformujú a premiestňujú (horizontálne aj vertikálne) a pôda je obohatovaná o rastlinné zbytky, prach a soli z podzemných vôd. A naopak časom sa strácajú rozpustné soli a pevné častice, ktoré sú odplavované tečúcou vodou alebo odtekajú spolu s pôdnym roztokom [118]. Pôda je trojfázový systém, ktorý je možné rozdeliť na kvapalnú, plynnú a pevnú zložku, pričom pevná zložka sa ďalej delí na minerálnu a organickú časť. Na Obrázok 11 je znázornené ilustračné percentuálne zastúpenie zložiek v pôde.



Obrázok 11: Ideálne percentuálne zastúpenie jednotlivých zložiek v pôde [119].

Pôda má niekoľko funkcií, ktorých dôležitosť sa líši od uhla pohľadu a samotné funkcie sa delia na: kultúrne, úžitkové a prírodné ekosystémové.

Pôda je zdrojom živín pre rastliny a zároveň im poskytuje oporu. Okrem živín rastliny z pôdy získavajú aj vodu, s čím súvisí aj filtračná funkcia pôdy, pretože častice pôdy sorbujú látky rozpustené vo vode alebo látky unášané vodou v pôde, tzv. pôdnym roztokom [120]. Súčasťou pôdy sú aj mikroorganizmy, ktorých prítomnosť a aktivita súvisí s zložením pôdy a zároveň ich interakcie s chemickou či biologickou zložkou pôdy môžu ovplyvniť cykly vody, dusíku, fosforu aj uhlíku [121].

Pôda hrá zásadnú a nezastupiteľnú rolu v stabilite ekosystémov a v ovplyvňovaní bilancii látok a energií. Pôsobí ako environmentálne pufrčné činidlo, ktoré okrem iného degraduje, zadržuje, ale aj za určitých podmienok uvoľňuje potenciálne rizikové látky. A teda keď sa pozrieme na pôdu z tohto pohľadu, je stav pôdneho fondu jedným z faktorov priamo vytvárajúcich a ovplyvňujúcich stav životného prostredia [121].

2.5.2 Čistiarenský kal

Ako už bolo vyššie napísané mnoho produktov každodennej spotreby ako sú krémy, telové pílíny či zubné pasty obsahujú MPs, ktoré sú po použití spláchnuté do vodovodných potrubí odkiaľ ďalej putujú do čistiarne odpadných vôd (ČOV). Práve ČOV boli identifikované ako jedny z hlavných receptorov znečistenia MPs, kde v procese čistenia odpadných vôd efektívne zachytávajú väčšinu týchto častíc práve v kale [122].

Čistiarenský kal (ČK) je kontinuálne produkováný odpad z ČOV a jeho produkcií sa nedá vyhnúť. Napriek tomu, že ČK predstavuje len malý podiel objemu odpadných vôd, je v ňom koncentrovaná väčšina nečistôt nachádzajúcich sa v odpadných vodách. Vzniká počas mechanicko-biologických technológií. Surový kal obsahuje okolo 70 % organických látok v sušine a vzhľadom k možnej prítomnosti patogénnych mikroorganizmov je klasifikovaný ako nebezpečný odpad [123].

V súčasnej dobe sa využívajú tri spôsoby nakladania s čistiarenským kalom:

1. Využitie v poľnohospodárstve a na rekultiváciu (priama aplikácia alebo aplikácia cez kompost)
2. Uloženie na skládku
3. Termické spracovanie (rôzne spôsoby spaľovania a pyrolýzy)

Z hľadiska MPs predstavujú problém najmä prvé dva spôsoby nakladania s kalom, kedy sa týmto spôsobom môžu MPs dostať do životného prostredia [123, 124]. Štúdia A. Turnera sa zamerala na možnosti adsorpcie niektorých kovov (Ag, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn) na MPs vo vodnom prostredí a bolo dokázané, že adsorpcia kovov, i keď ovplyvnená okolitým prostredím, na povrch MPs bola vysoká [125]. A keďže kaly obsahujú relatívne vysoké koncentrácie ťažkých kovov, práve MPs s kalu môžu predstavovať veľké riziko kontaminácie pôdy ťažkými kovmi.

2.5.3 Identifikácia mikroplastov

Je ťažké identifikovať mikroplasty rôznych veľkostí, tvarov a typov polymérov úplne a spoľahlivo z komplexných matric prostredia pomocou jedinej analytickej metódy. Preto sa začali používať kombinácie viacej ako dvoch analytických techník [126]. Výber vhodnej metódy identifikácie MPs je rozhodujúci pre hodnotenie mikroplastického znečistenia. Analýza MPs z rôznych vzoriek životného prostredia vyžaduje rad postupov vrátane odberu vzoriek, separácie, čistenie a identifikácie. Jedna z prvých metód identifikácie MPs bola voľným okom alebo mikroskopom. Neskôr sa k týmto základným spôsobom pridala identifikácia pomocou infračervenej spektroskopie Fourierovej transformácie (FTIR) a Ramanova spektroskopie. Vhodná metóda identifikácie by sa mala určiť v závislosti od počtu vzoriek a rozsahu veľkostí, ktoré sú predmetom záujmu [127].

Ďalšia zo skúmaných možností identifikácie a kvantifikácie MPs bolo použitie fluorescenčného farbiva Nile Red (NR). Optimálna dávka farbiva bola určená ako 5 mg/l NR v roztoku n-hexánu. Táto dávka účinne zafarbila plasty, ktoré boli potom ľahko rozpoznateľné pri zelenej fluorescencii. Avšak bolo zistené, že táto metóda nie je účinná pre všetky typy plastov ako je polyvinylchlorid (PVC), polyamid (PA) a polyester (PE). Metóda farbenia NR bola vhodná na rozlíšenie fragmentových polypropylénových častíc od veľkého počtu pieskových častíc v laboratórnych testoch. Táto metóda je priama a rýchla na identifikáciu a kvantifikáciu polymérnych častíc v laboratórne kontrolovaných vzorkách. Pred zavedením tejto metódy do praxe je ale potrebné podrobnejšie preskúmať použitie farbenia NR na poľné vzorky s organickými zvyškami [128]. Niekoľko vedcov dalo dokopy prehľad, ktorý sumarizuje metódy a techniky extrakcie MPs zo sedimentu, morskej vody a organizmov. Tento prehľad zahŕňa aj metódy kvantifikácie, diskutované sú aj výhody a výzvy použitia mikro-FTIR (infračervená spektroskopie s Fourierovou transformáciou), ATR-FTIR (infračervená spektroskopie s Fourierovou transformáciou s technikou zrkadlovej reflexie), Pry-GC/MS (pyrolýza – plynná chromatografia/hmotnostná spektrometria), RS (Ramanová spektroskopie) a EDS (disperzná röntgenová spektroskopie) [129].

FTIP sa najčastejšie používa na kvalitatívnu analýzu MPs vrátane mikro-FTIR a ATR-FTIR. Polymérne typy MPs sa dajú rýchlo a priamo identifikovať porovnaním výsledných spektier so spektrami známych plastových polymérov. Pri použití ATR-FTIR existujú dva možné meracie režimy, režimy odrazivosti a priepustnosti. Režim priepustnosti je obmedzený niektorými hrubými MPs z dôvodu celkových absorpčných vzorcov a spektrá v móde odrazu ukázali potenciál spektrálneho skreslenia refrakčnej chyby pri analýze nepravidelne

tvarovaných MPs. Pred spektrálnou analýzou je potrebné vzorky dôsledne vysušiť [129, 130]. Pri Ramanovej spektroskopii laserový lúč dopadajúci na objekt má za následok rôzne frekvencie spätne rozptýleného svetla v závislosti od molekulárnej štruktúry a prítomných atómov, ktoré vytvárajú jedinečné spektrum pre každý polymér. Ramanova analýza nielen identifikuje plasty, ale poskytuje aj profily zloženia polyméru [63]. U Ramanovej spektroskopie sa predpokladá, že by mohla identifikovať extrémne malé MPS, mať lepšie výsledky pri vlhkých vzorkách a vytvárať priestorové chemické snímky mikroplastov, taktiež RS a FTIR sa vzájomne dopĺňajú. RS môže zistiť niektoré molekulárne vibrácie, ktoré sú IR (infračervená spektroskopcia) neaktívne, a naopak. Veľkou nevýhodou u RS ostáva, že prítomnosťou farby a prísad v analyzovaných mikroplastoch dochádza k prerušeniu merania [129, 131].

2.5.3.1 Termická analýza

Na rozdiel od už spomínaných techník, termická analýza poskytuje úplne odlišný prístup, ktorý sa čoraz viac využíva k analýze MPs a funguje na princípe identifikácie materiálu (polyméru) na základe jeho degradačných produktov. Termická analýza meria zmeny fyzikálnych a chemických vlastností materiálov v závislosti na teplote. Jedná z metód sa nazýva diferencná kompenzačná kalorimetria (DSC). Princípom tejto metódy je, že teplota vzorky a referenčného materiálu je udržiavaná na rovnakej hodnote a meraná je dodaná tepelná energia. Pretože každý plastový produkt má odlišné vlastnosti, táto metóda vyžaduje referenčné materiály na identifikáciu rôznych typov materiálov. DSC môže byť užitočný na identifikáciu špecifických primárnych mikroplastov, ako sú PE mikroguličky, pre ktoré sú dostupné referenčné materiály [132]. Termogravimetria (TGA) v kombinácii s DSC umožnila stanovenie PE a PP, ale nedokázala stanoviť PVC, PA, PES, PET a PU v dôsledku prekrývajúcich sa fázových prechodových signálov [133]. Kombináciou TGA s extrakciou v tuhej fáze (SPE), ktorá bola následne spojená s tepelnou desorpciou a systémom GC/MS (TDS-GC/MS) sa spojili výhody väčšej veľkosti vzorky v porovnaní s pyrolýzou (Pyr-GC/MS) a vyššie rozlíšenie v porovnaní s DSC. Kombinácia TGA-SPE-TDS-GC-MS bola úspešne použitá pri kvantitatívnej identifikácii PP, PS a polymérnych zmesí vo vzorkách pôdy a mušlí [134]. Tandemová technika Pyr-GC/MS bola tiež použitá na získanie štruktúrnych informácií o polymérech, analýzov produktov tepelnej degradácie [135]. Touto metódou boli identifikované potenciálne plastové častice zo vzoriek sedimentu ako PE, PP, PVC, PS, PA a PET [136, 137].

Termická analýza poskytuje alternatívnu metódu k spektroskopii na chemickú identifikáciu určitých typov polymérov. Termická analýza je však deštruktívna metóda, ktorá zabraňuje následnej dodatočnej analýze. DSC analýza je pomerne jednoduchá a rýchla, ale má obmedzenia v identifikácii mikroplastov z rôznych polymérnych produktov vo vzorkách prostredia. Termická analýza v kombinácii s GC/MS môže súčasne analyzovať doplnkové látky v MPs [136]. Táto metóda vyžaduje dobre vyškoleného a skúseného operátora a podstatne viac času a úsilia na chod prístrojov a spracovanie údajov než s FTIR a RS. Táto metóda sa preukazuje veľmi užitočnou na skríningové analýzy hromadných vzoriek alebo na komplementárne analýzy MPs, ktoré neboli úplne charakterizované spektroskopiou [138]. Metóda Pyr-GC/MS sa pokladá za štandardnú metódu na analýzu polymérov a však kvôli obmedzenému množstvu vzorky približne 0,5 mg nie je vhodný na analýzu zložitých zmesí, ako sú vzorky životného prostredia. Z tohto dôvodu tým vedcov vyvinul novú termoanalytickú metódu pre identifikáciu MPs vo vzorkách prostredia. Množstvo vzorky môže byť až do 100 mg, čo zaisťuje väčšiu homogenitu vzorky. Táto vzorka sa podrobí úplnému tepelnému rozkladu, špecifické degradačné produkty príslušného polyméru sa

adsorbujú na tuhej fáze a následne po desorpcii sa analyzujú pomocou GC/MS (TED-GC-MS). Touto metódou boli zatiaľ úspešne identifikované MPs z PP, PE, PET, PA a PS v reálnych vzorkách životného prostredia [139].

Analýza uvoľnených plynov (EGA) je najužitočnejšou technikou na určenie povahy a množstva prechavých produktov vytvorených počas tepelnej degradácie, desorpcie alebo vyparovania materiálov. Jednou z jej najväčších výhod je, že nevyžaduje separáciu MPs a tak umožňuje priamu analýzu vzoriek životného prostredia. Práve preto bola táto metóda zvolená k identifikácii mikroplastov PLA v tuhých matriciach. Pri EGA sa vo všeobecnosti používajú dva prístupy, simultánna analýza a kombinovaná analýza. Pri simultánnej analýze sa používajú dve metódy na skúmanie materiálov súčasne, TG-FTIR alebo TG-MS on-line analýzy, ktoré umožňujú detekciu plynných produktov v reálnom čase. Táto detekcia je možná prepojením pyrolýznej jednotky s detekčnou jednotkou vyhrievanou kapilárou. Tento režim umožňuje operátorovi optimalizovať parametre jednotlivých častí prístrojov pre čo najlepšie výsledky meraní [140, 141, 142]. MS je výhodnou voľbou pre analýzu uvoľnených plynov kvôli jej výhodám, ako je vysoká špecificita, citlivosť, rýchla reakcia, nízke detekčné limity a detekcia viacerých iónov a izotopov súčasne. Najčastejšie sa v MS používa kvadrupólový analyzátor (QMA), kvôli jeho výhodám, ako je ľahká prevádzka, malá veľkosť, ľahká integrácia systému a nízke kapitálové náklady [143]. Tepelné spracovanie v tejto metóde môže byť buď oxidácia (spaľovanie) alebo pyrolýza v inertnej atmosfére. Definovaná časť plynných degradačných produktov sa preniesie do kvadrupólového hmotnostného spektrometra prostredníctvom spomínanej zahrievanej kapiláry. Strata hmotnosti pri špecifickej teplote môže súvisieť s MS signálom plynných produktov pyrolýzy. Aj bez chromatografickej separácie sa môžu analyty s rovnakými alebo podobnými produktmi pyrolýzy (pyrolýzne produkty z plastu a pyrolýzne produkty z pôdy) navzájom odlíšiť podľa ich odlišných teplôt rozkladu [144].

Spojovacie rozhranie medzi prístrojmi (TG-MS) býva obvykle zostavené z flexibilného vyhrievaného prenosového vedenia, ako aj z vyhrievaných adaptérov. Tento spôsob spojenia (cez kapiláru) dvoch fyzicky oddelených prístrojov má dve potenciálne nevýhody: prenosové zariadenie spôsobuje mierne oneskorenie medzi uvoľnením plynných produktov v TG systéme a ich detekciou v MS systéme. Okrem toho je možná aj kondenzácia vnútri kapiláry alebo iné interakčné efekty. Predpokladá sa, že kondenzácia v kapiláre nastáva kvôli teplotným rozdielom medzi TG systémom a samotnou kapilárou, kedy teploty v TG systéme môžu presahovať aj cez 1000 °C a vyhrievanie kapiláry býva často obmedzené s maximálnou teplotou výhrevu 300 °C [145, 146].

Analýza uvoľnených plynov PLA

V posledných rokoch sa nástroje tepelnej analýzy, ako je termogravimetria (TG) a diferenciálna skenovacia kalorimetria (DSC), stávajú dôležitými pri poskytovaní cenných informácií, pokiaľ ide o kinetické parametre, mechanizmus rozkladu a tepelnú stabilitu. Nepretržité informácie v reálnom o plynných produktoch, ako napríklad strata hmotnosti je možné získať spojením hmotnostnej spektrometrie s termogravimetriou (TG-MS). Tento tandem môže tiež poskytnúť podrobnejšie informácie o rozklade uhlíkovodíkových zlúčenín identifikáciou fragmentov iónov z pôvodných zlúčenín so zmenou teploty [147]. Výber experimentálnych parametrov je kritickou otázkou pre presnú analýzu pyrolytických produktov. Tieto parametre, najmä teploty a časy pyrolýzy, sú kľúčovými faktormi na dosiahnutie dobrej separácie a ďalšej identifikácie zlúčenín z degradovaných materiálov [148].

Zložitost' tepelnej degradácie PLA boli skúmané už v mnohých štúdiách. V jednej z takýchto práci Kopinkle [149] a jeho tím navrhli, že degradácia pri teplotách nad 200 °C zahŕňa intramolekulárnu transesterifikáciu vedúcu k laktidovým a cyklickým oligomérom, cis-elimináciu vedúcu k akrylovým oligomérom kyseliny akrylovej a fragmentáciu vedúcu k acetaldehydu a CO₂. Okrem týchto degradačných mechanizmov môžu zvyškové kovy, ktoré pochádzajú z polymerizačného katalyzátora, katalyzovať depolymerizáciu PLA za vzniku výlučne laktidu [150]. Zložitý mechanizmus tepelnej degradácie sa snažili priblížiť aj v ďalších štúdiách. Jedna z nich prebehla už v roku 2002 pod vedením Aoyagi, Yoshihiro a Koichi [151]. Zistili, že tepelná stabilita PLA je ovplyvnená mnohými faktormi ako je vlhkosť, hydrolyzované monoméry a oligoméry, molekulová hmotnosť a obsah zvyškových kovov [150, 152]. V ďalšej z takýchto štúdií [153] použili postupnú pyrolýzu (postupná pyrolýza je definovaná ako po sebe nasledujúce pyrolytické reakcie, aplikované na rovnakú vzorku za rovnakých experimentálnych podmienok, až kým sa nezistia žiadne ďalšie produkty [154]) s matematickými modelmi a použitím tejto stratégie, bolo preukázané, že PLA pri vysokých teplotách degraduje nelineárnym správaním (mechanizmom). Tiež bolo preukázané, že použitie krátkych časov pyrolýzy bolo kľúčové k dosiahnutiu dobrého chromatografického rozlíšenia a na zabránenie difúznym účinkom. Napriek rozsiahlym údajom uvádzaných, v literatúre mnohé aspekty mechanizmu degradácie PLA stále nie sú úplne objasnené.

Tepelná degradácia PLA je komplexný proces (ktorého mechanizmus stále ešte nie je úplne známi), pretože zahŕňa mnoho simultánnych reakcií a je ovplyvnená mnohými faktormi. Samotná pyrolýza PLA je neradikálna, spätne esterová výmenná reakcia zahrňujúca reťazce končiace skupinou OH. Hmotnostné spektra m/z (pomer hmotnosti k náboju) boli získané z online TG-MS systému, pre lepšie pochopenie pyrolytických mechanizmov PLA. $m/z=16$, čo môže reprezentovať metán; 28 oxid uhoľnatý; 44 acetaldehyd; 56 metylketén; 144 oligoméry laktidu. Pri pyrolýze PLA boli pozorované i malé množstvá 100 a 200 identifikované ako oligoméry laktidov. Zo získaných výsledkov bolo zrejmé, že metán, oxid uhoľnatý, acetaldehyd a metylketén sú významnými produktmi pyrolýzy PLA. Pri pyrolýze PLA boli pozorované iba malé množstvá laktidu a oligomérov. Pretože hlavnou zložkou PLA je kyselina mliečna, dá sa primerane očakávať, že sa v pyrolýznom procese vyrobí acetaldehyd, laktid a oligoméry laktidu. Okrem oligomérov laktidu je možné pozorovať i teplotné rady metánu a oxidu uhoľnatého. Oxid uhoľnatý a metán možno vysvetliť rozkladom acetaldehydu [147, 155].

K podobným výsledkom prišli aj v štúdií C. Westphal [156], keď pomocou tandemovej analýzy Py-GC-MS pri 400 a 500 °C sa v poly(laktide) (PLA) identifikovali acetaldehyd, kyselina akrylová, kyselinu laktoylakrylovú, dva laktidové izoméry a cyklické oligoméry až do pentaméru. Pomer mezo-laktidu k _{D,L}-laktidu bol nižší v bioticky hydrolyzovanej PLA, zatiaľ čo zmeny matric PLA nezasiahnutých (*unaged*) a chemicky hydrolyzovaných vzoriek poskytli celkom podobné pyrogramy.

3 CIEĽ PRÁCE

Ako už bolo uvedené, rýchle a rozsiahle zavedenie niektorých bioplastov bez hlbšieho preskúmania ich správania v reálnych podmienkach predstavilo niekoľko problémov. Jeden z týchto problémov je, tvorba mikroplastov a preto je potrebné mať (vyvinúť) metódu, ktorou by bolo možné tieto biomikroplasty stanoviť. Ďalší problém predstavuje fakt, že väčšina metód detekcie a analýzy mikroplastov je časovo a materiálovo náročná a výsledky nie sú vždy použiteľné, pričom spôsoby identifikácie biomikroplastov v pôde neboli doteraz skúmané takmer vôbec. Z tohto dôvodu cieľom tejto diplomovej práce je vývoj rýchlej metódy, vhodnej na identifikáciu a stanovenie množstva bio-MPs v pôde a iných pevných matriciach, bez potreby predúpravy vzorkou. Na vývoj tejto metódy, ako modelový bioplast bola použitá kyselina polymliečna (PLA). Tento bioplast, vďaka mnohým výhodám (napríklad relatívne jednoduchá výroba a dobré vlastnosti) začal nahrádzať klasické plasty v mnohých aplikáciách a preto do budúcnosti môže predstavovať potenciálny kontaminant životného prostredia.

Použitie systému TGA-MS k identifikácii a ku kvantifikácii mikroplastov v pôde je relatívne nový prístup, ktorý má stále niekoľko nedostatkov. Analýza je komplikovaná chemickou a fyzikálnou zložitosťou pôdy a kalu. Ďalšie komplikácie predstavuje nehomogenita vzorkou. Napriek tomuto TGA-MS analýza má veľký potenciál v budúcom stanovovaní mikroplastov v pevných matriciach, najmä vďaka tomu, že analýza je relatívne rýchla a možná bez náročnej pred úpravy vzorkou.

4 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

4.1 Použité prístroje, pomôcky a chemikálie

- Termogravimeter Netzsch 449F1
- Hmotnostný spektrometer (MS) Agilent 5977B
- Analytické váhy Mettler AE240
- Termogravimetrické panvičky
- Bežné laboratorné vybavenie

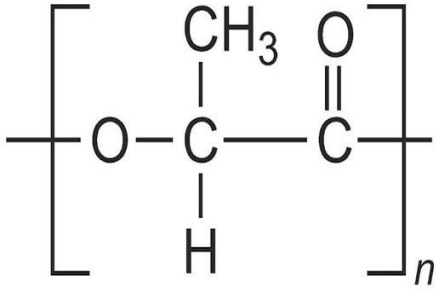
4.2 Chemikálie a štandardy (matrice)

- Kyselina polymliečna (PLA)
- Štandardná pôda LUFA od firmy Speyer (typ pôdy 2.2)
 - CEC [meq/100g]: 8,5±12,1
 - Obsah organického uhlíku [%]: 1,71±0,30
 - pH: 5,6±0,4
- Pôda P185 a P84 (Tabuľka 2)
- Kal – kal bol vysušený na vzduch a pochádzal z ČOV Modřice (ekvivalentná populácia 500 000 obyvateľov)

4.3 Mikroplastové analyty

K analýze boli použité vzorky semikryštalickej PLA, značky Infeo od firmy Natureworks. Častice boli menšie ako 1mm, vytvorené z granúl na strižnom mlyne za použitia tekutého dusíku (Tabuľka 1).

Tabuľka 1: Základné informácie o PLA.

	Kyselina poly(mliečna)
Skratka	PLA
Chemická štruktúra	
Chemický vzorec	(C ₃ H ₄ O ₂) _n
Teplota topenia	130 – 180 °C
Rozpustnosť	Chlórované rozpúšťadlá, horúcom benzéne, tetrahydrofuráne a dioxáne
Použitie	PLA sa často používa v 3D tlači, v textilnom priemysle (zmes s bavlnou a vlnou), na výrobu rôznych obalov

4.4 Pracovný postup

4.4.1 Príprava vzorkou

Pre každý druh matrice sme pripravili kalibračnú radu v približnom rozsahu 0,1% až 5% a vo výsledku mala každá rada 10 rôznych koncentrácií PLA. Kvôli možným problémom s homogenitou, vzorky kalu a pôdy boli spikované priamo v termogravimetrickej panvičke. Celková hmotnosť vzorku sa pohybovala okolo 40 mg. Predpripravené vzorky boli uložené pri laboratórnej teplote. Prehľad jednotlivých vzorkou ich navážky a koncentrácie sú zapísané v Tabuľka 8 zobrazenej v kapitole Prílohy.



Obrázok 12: TGA piecka použitá v experimente.

Tabuľka 2: Lokalita odberu, typ a vlastnosti pôd použitých na analýzu.

	Pôda	
	P84	P185
Lokalita odberu	Postoupky/Pokusy	Šaratice/Šaratické Slíny
Pôdny typ	Kambizem luvická	Černozem černická
Hĺbka odberu [cm]	10 - 40	10 - 40
Humus [%]	0,59 - 1,43	1,34 - 3,73
pH	4,8 - 5,8	7,1 - 7,35
Pórovitosť [%]	37 - 42	45,5 – 49,4

4.4.2 Analýza uvoľnených plynov

Na analýzu bola zvolená metóda Analýza uvoľnených plynov, ktorá využíva tandemovú metodiku, kde je termogravimeter spojený s hmotnostným spektrometrom (s elektrónovou ionizáciou) vyhrievanou kapilárou. Analýza prebehla v inertnej argónovej atmosfére. Sledované m/z a nastavené parametre prístrojov sú zobrazené v Tabuľka 3. Celý experiment bol meraný v spolupráci s AV ČR v Řeži, Ústav anorganické chemie.



Obrázok 13: Použitý systém TG-GC/MS pri analýze.

Tabuľka 3: Nastavené parametre TGA/MS.

TGA	
Teplotný rozsah	36 - 700 °C
Teplotný krok	10 K/min
Reakčná atmosféra	50 ml/min
Ochranná atmosféra váh	20 ml/min
Teplota kapiláry	120 °C
MS	
Sledované m/z	29, 31, 42, 43, 44, 45, 46
Prietok hélia	14 ml/min

4.4.3 Analýza čistého PLA a matric

Vzorky pôd a kalu sme preosiali na frakcie menšie ako 2 mm a následne sme manuálne odstránili nehomogenity (kamienky, koreničky, kúsky slamy). Potom sme zanalyzovali čisté PLA, aby sme zistili aké m/z sú pre daný biopolymér charakteristické a merateľné za daných podmienok. Pred začatím analýzy koncentračnej rady sme zmerali aj čisté matrice bez pridaného PLA, aby sme zistili, či už samotná matrica neposkytuje signál na sledované m/z .

Všetky vzorky boli podrobené teplotnému kroku 10 K/min v rozmedzí 36 až 700 °C pri prúde plynu 50 ml/min (protective gas 20 ml/min) v TGA komore naplnenej argónom (Termogravimeter 449F1, Netzsch). TG bol spojený s hmotnostným spektrometrom (MS 5977B, Agilent) cez kremennú kapiláru (QMS 403) s možným výhrevom až do 300°C (nastavená teplota bola 150 °C). Vyhrievanie celého systému (oven, inlet box, valve box) bolo nastavené na 120 °C. Detektor bol nastavený do režimu online, aby bola možná priama detekcia zvolených m/z .

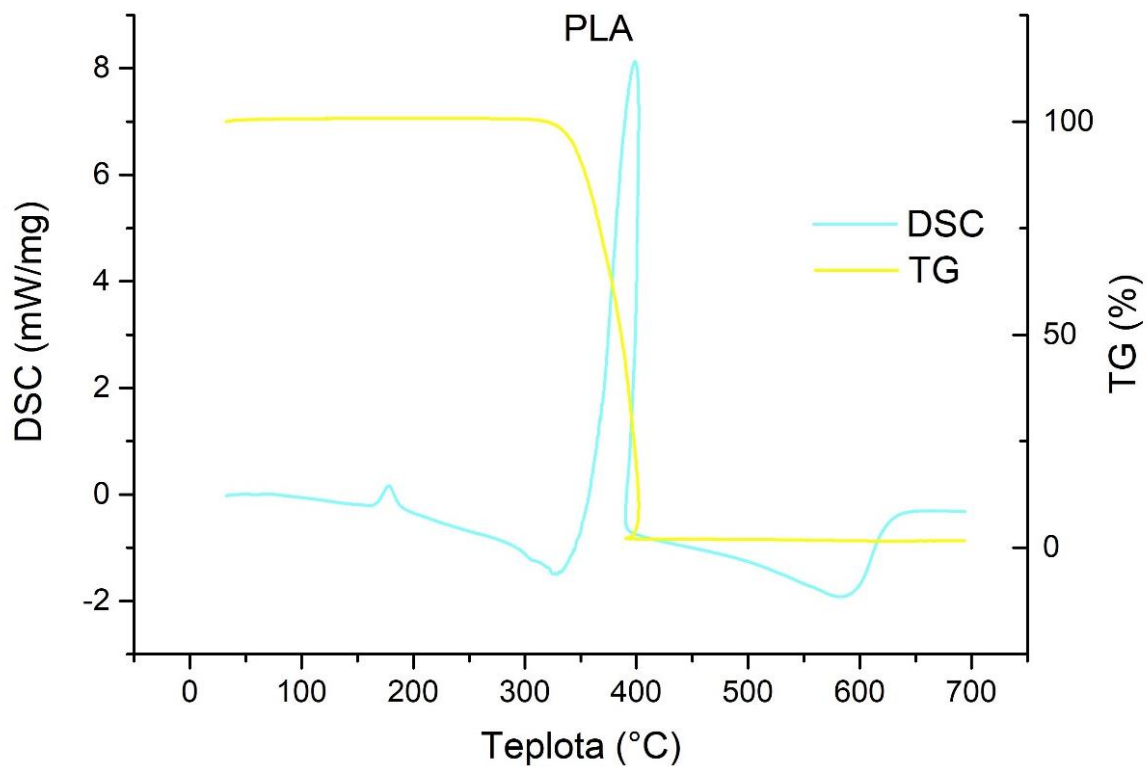
5 VÝSLEDKY A DISKUSIA

5.1 Analýza uvoľnených plynov čistého PLA

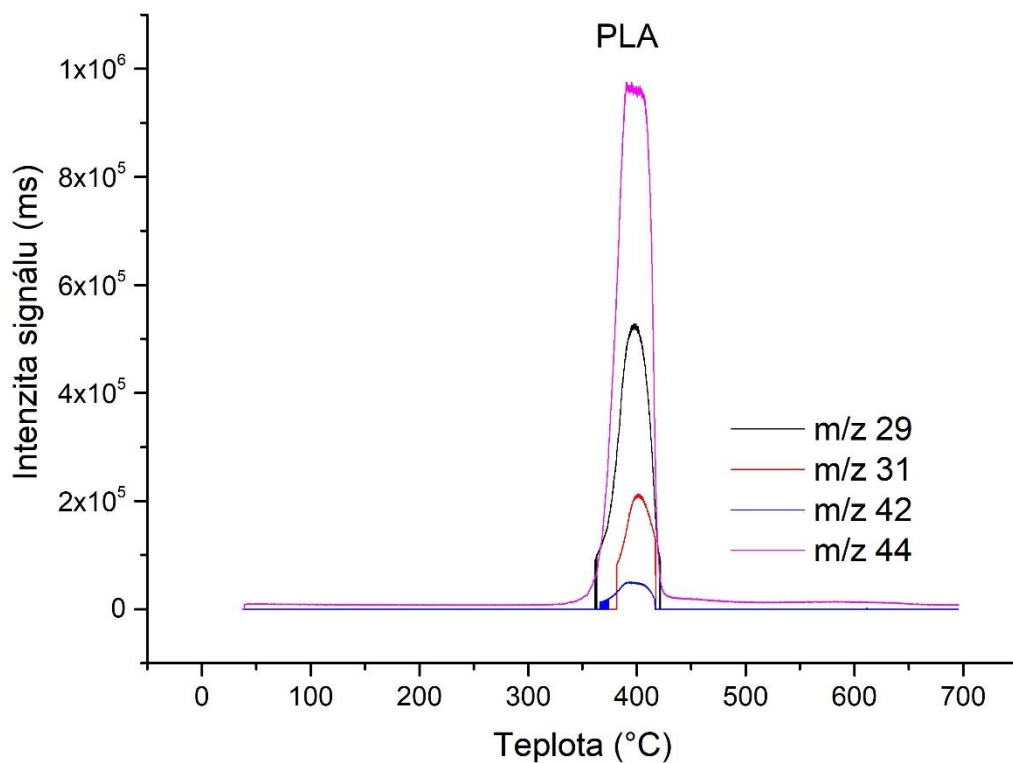
Výstupom každej z prebehnutých analýz boli krivka termogravimetrickej analýzy a krivka diferenčnej kompenzačnej kalorimetrie. Krivka TGA ukazuje závislosť hmotnosti od teploty (alebo času), ktoré sú proporcionálne. Ak teplota spôsobuje fyzikálne a/alebo chemické zmeny, výsledná krivka ukazuje zmeny hmotnosti. DSC zase meria teplotu a tepelný tok spojený s prechodmi v materiáloch ako funkciu teploty a času. DSC krivka poskytuje informácie o fyzikálnych a chemických zmenách, ktoré zahŕňajú ako endotermické tak aj exotermické procesy alebo zmeny tepelnej kapacity.

Termogravimetrická krivka (Obrázok 14), ktorá je na obrázku znázornená žltou farbou, ukazuje, že vzorka PLA je stabilná do 300 °C. Od 300 °C až 320°C začína pomerná intenzívna a rýchla degradácia, ktorá končí zhruba pri 400°C. V tomto prípade zdegradovala celá vzorka. DSC krivka (tyrkysová farba) ukázala, že nastali dva endotermy. Jeden okolo 150°C, ktorý odpovedá teplote bodu topenia čistého PLA. Druhý endoterm sme zaznamenali približne pri 310 °C, kde začala degradácia. Najskôr je vidieť mierny exoterm a potom intenzívny entoterm, ktorý je spojený s degradačnými reakciami.

Pri analýze (tepelnej degradácie) čistého PLA bol hmotnostný spektrometer (pripojený k TG peci) nastavený do skenovacieho režimu, aby sme našli hmotnostné spektrá charakteristické pre tepelnú degradáciu PLA za daných podmienok. Termickou analýzou čistého PLA sme úspešne detekovali 7 signálov m/z : 29, 31, 42, 43, 44, 45 a 46 (Obrázok 15).



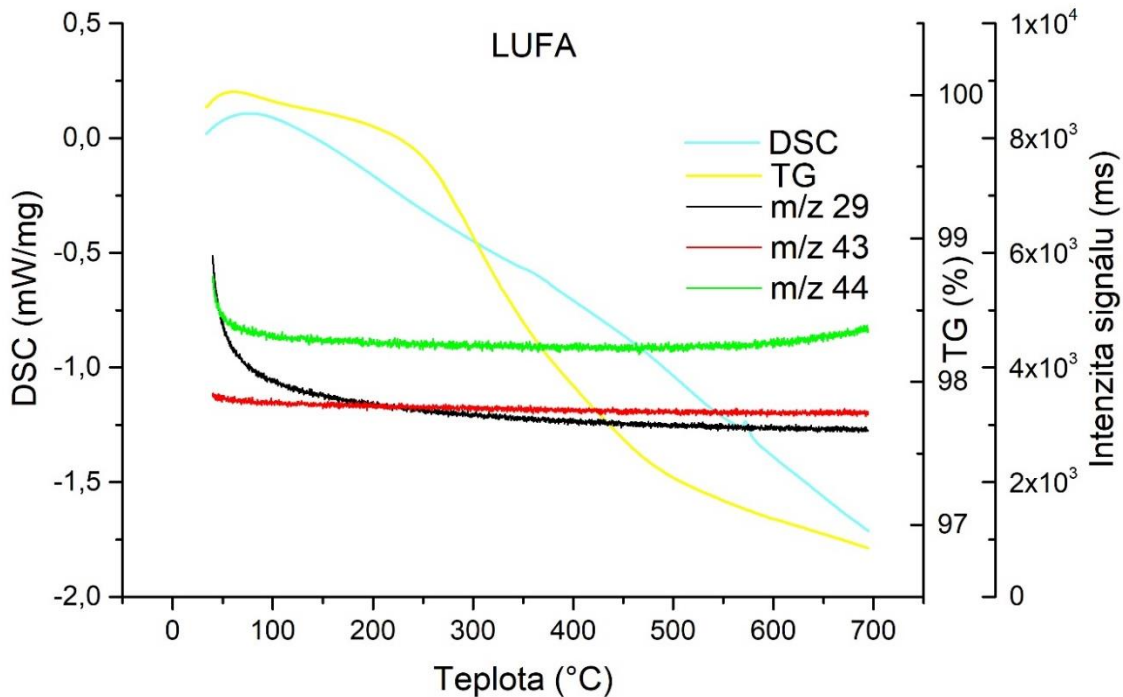
Obrázok 14: Záznam analýzy termickej degradácie čistého PLA, exoterm u DSC je smerom dole.



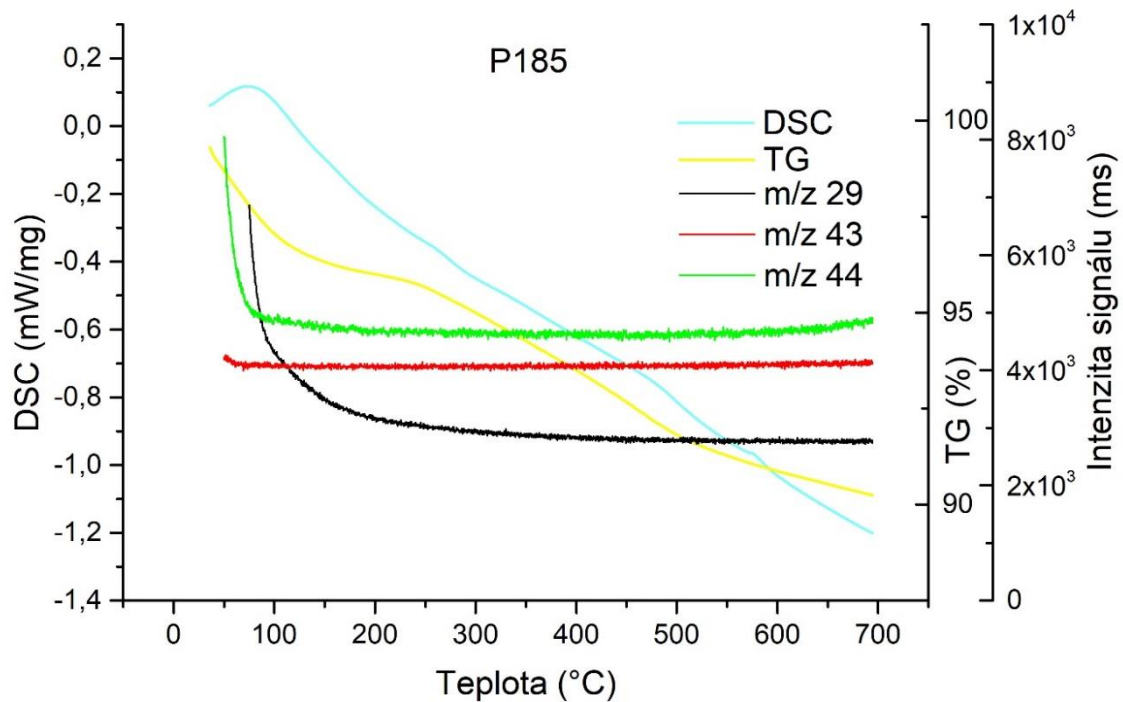
Obrázok 15: Ukážka záznamu niektorých detekovaných signálov m/z zaznamenaných systémom TGA-MS počas tepelnej degradácie PLA.

5.2 Analýza uvoľnených plynov čistej pôdy

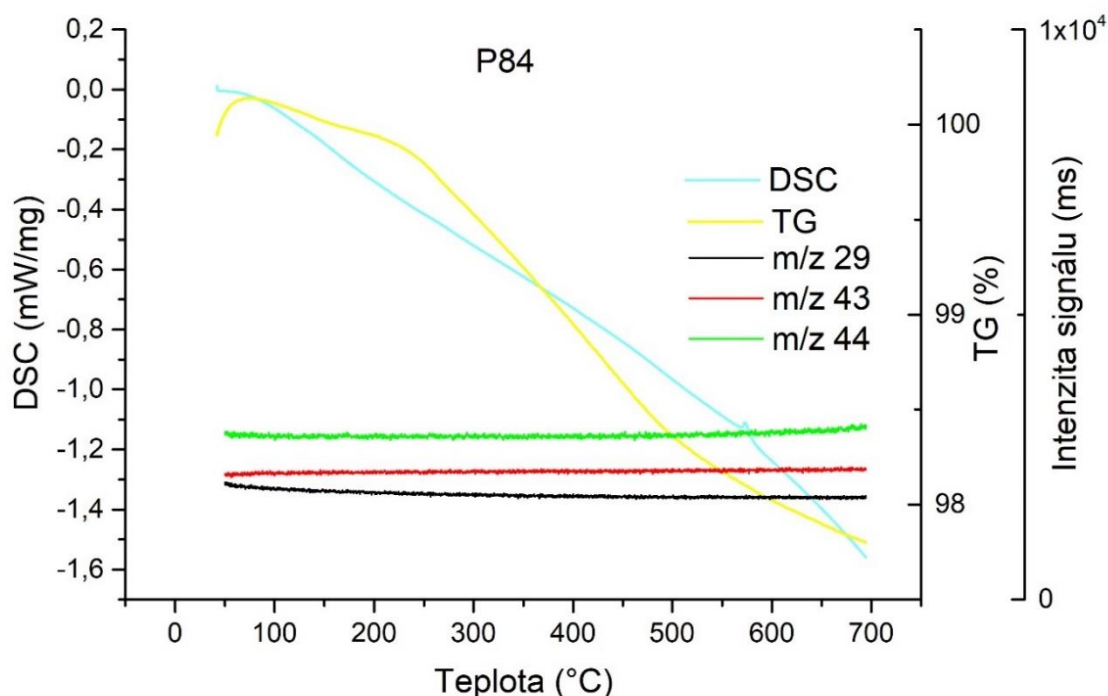
Pre podrobnejšiu analýzu a lepšie výsledky bolo potrebné vykonať aj analýzu jednotlivých matric, použitých v experimentoch. V experimente boli použité tri druhy pôdnych matric označované ako P84, P185 a LUFA.



Obrázok 16: Záznam analýzy čistej pôdy typu LUFA spolu so sledovanými signálmi zvolených m/z.



Obrázok 17: Záznam analýzy čistej pôdy typu P185 spolu so sledovanými signálmi zvolených m/z.



Obrázok 18: Záznam analýzy čistej pôdy typu P84 spolu so sledovanými signálmi zvolených m/z .

Táto analýza bola nevyhnutná, aby sa zistilo či samotná matrica neposkytuje odozvu na sledované signály, nami určených ako charakteristické pre PLA. Pri typu pôdy LUFA a P84 signály (m/z 29, 43 a 44) neposkytujú žiadnu odozvu a zvýšenie základnej línie bolo pripísané šumu (Obrázok 16 a Obrázok 18).

Pôda P185 poskytla podobné výsledky ako dve predchádzajúce pôdy a však výraznejšie zvýšenie základnej línie bolo pozorované pri m/z 43 a 44 (Obrázok 17).

5.3 Analýza uvoľnených plynov kontaminovanej pôdy

5.3.1 Kvalitatívna analýza

Kombinácia termickej analýzy a hmotnostnej spektrometrie umožňuje získať informácie o zložení uvoľnených plynov počas tepelného rozkladu tuhých látok. Na hmotnostnom spektrometri je možné nastaviť spôsoby skenovania. A to či má prebehnúť detailné skenovanie všetkých uvoľnených plynov alebo či detektor bude nastavený iba na konkrétne signály m/z . Prvá z týchto možností (detailný sken) sa často nevyužíva, pretože získané dáta by neposkytli veľa užitočných informácií a to z dôvodov, že čím viac m/z je naskenovaných, tým pomalší je zber dát pre jednotlivé signály m/z . Z tohto tiež vyplýva, že čím menej údajov pre každé m/z je pri analýze získané, tým je analýza menej citlivá. Z tohto dôvodu sa častejšie využíva metóda, kedy sa dopredu nastaví záujmové m/z . Pre správny výber m/z je potrebné vziať do úvahy niekoľko faktorov, z ktorých najdôležitejší je ten, že počas pyrolýzy zmesi pôdy a mikroplastov prebiehajú reakcie, ktoré ešte neboli podrobne vysvetlené. Inertná atmosféra spolu s vysokými teplotami vytvárajú reaktívne prostredie, ktoré môže spôsobiť nešpecifické interakcie medzi materiálom a uvoľnenými plynmi, pôdou a taveninou polyméru alebo medzi degradačnými produktami [157, 158, 159]. Ďalšiu komplikáciu pri vyhodnocovaní výsledkov môžu predstavovať pyrolýzne produkty PLA, z ktorých niektoré by mohli byť identické s pyrolyznými produktmi organických látok prirodzene sa vyskytujúcich v pôdach [160].

5.3.1.1 Výber vhodných m/z pre identifikáciu PLA v pôde

Ako už bolo uvedené, tepelná degradácia PLA je spôsobená hlavne vnútromolekulárnymi transesterifikačnými reakciami, ktoré vedú k tvorbe cyklickým oligomérom kyseliny mliečnej laktidu a súčasne dochádza k rekombinácii cyklických oligomérov prostredníctvom inzerčných reakcií. Pyrolitická eliminácia, ktorá vytvára molekuly s akrylovými koncovými skupinami, je menej dôležitou vedľajšou reakciou.

Výber experimentálnych parametrov je kritickým faktorom pre presné stanovenie pyrolitických produktov. Tieto parametre, najmä teploty a časy pyrolýzy, sú kľúčovými na dosiahnutie dobrej separácie a k identifikácii zlúčenín vzniknutých pyrolýzou materiálov. V závislosti od podmienok (čas a teplota) PLA poskytuje vysoko komplexné chromatogramy a so zvyšovaním teplôt pyrolýzy sa získava vyšší počet produktov, čo máva za následok zlé separáciu týchto degradačných produktov. Avšak pri vhodných podmienkach vo väčšine prípadov tepelná degradácia PLA poskytuje odozvu hlavne na tieto signály (m/z) [147, 161]:

$m/z = 44$ - acetaldehyd

$m/z = 56$ - metalketén

$m/z = 100$ - oligomér laktidu

$m/z = 144$ - oligomér laktidu

$m/z = 200$ - oligomér laktidu

Pyrolýza vzorku (PLA+matrica) sa uskutočnila v aluminovej (Al_2O_3) panvičke. A ako sa píše vyššie v kapitole Analýza uvoľnených plynov čistého PLA, pomocou módu sken sme v daných podmienkach boli schopný detekovať 7 signálov m/z , na ktoré sme sa zamerali aj v prípade analýz kontaminovaných matric a MS bol nadstavený do režimu monitorovania týchto konkrétnych signálov m/z : 29, 31, 42, 43, 44, 45 a 46.

$m/z = 29$ - fragment acetaldehydu

$m/z = 31$ – fragment laktid

$m/z = 42$ - laktidový monomér

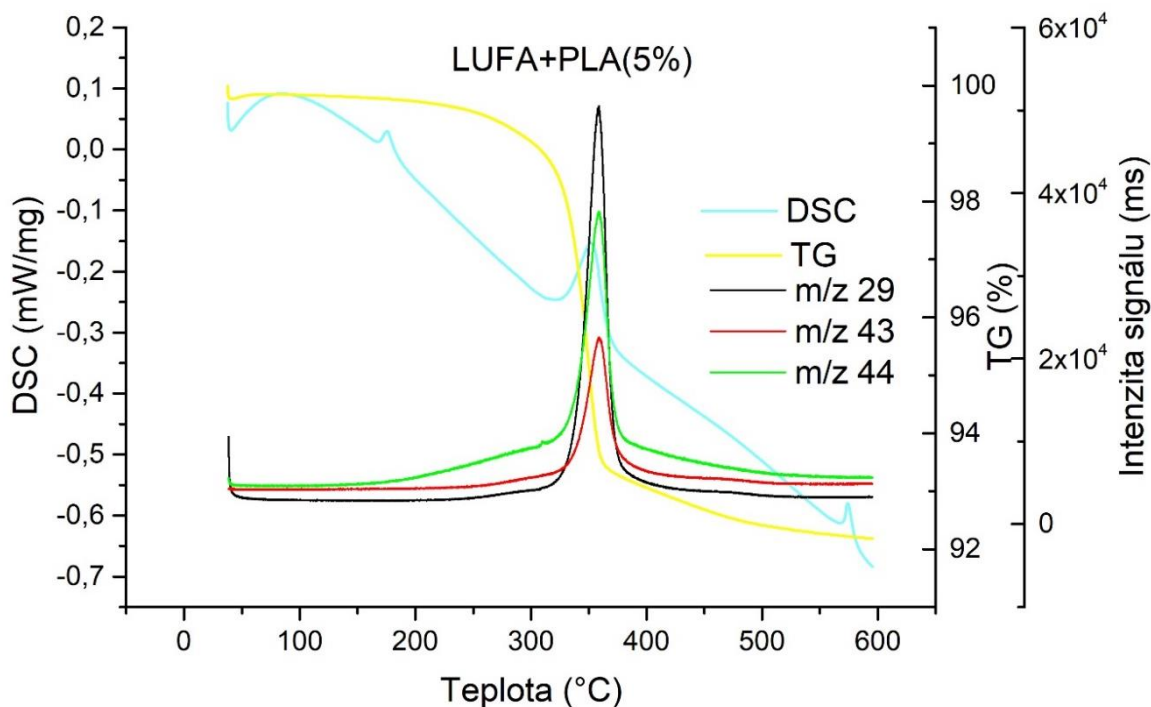
$m/z = 43$ – fragment acetaldehydu

$m/z = 44$ - acetaldehyd, CO_2

$m/z = 45$ - mesolaktid

$m/z = 46$ - oligomér laktidu

Zo všetkých siedmich detekovaných signálov, sme k nasledujúcim analýzám vybrali tie m/z , ktoré poskytli najintenzívnejší signál. Boli to m/z : 29, 43, 44. Pretože hlavnou zložkou PLA je kyselina mliečna, dá sa očakávať, že jeden z produktov v pyrolýznom procese bude práve acetaldehyd. Dôvodom prečo pri tejto analýze boli zaznamenané nižšie m/z je predpoklad, že pre nízko nadstavenú teplotu kapiláry (150 °C) došlo k čiastočnej kondenzácii, hlavne vysokomolekulárnych látok. Tento predpoklad sme potvrdili (viz. kapitola Kondenzácie degradačných produktov v kapiláre) ďalším experimentom, kedy sme teplotu kapiláry nastavili na 270 °C a pomocou MS sme zaznamenali vyššie molekulové hmotnosti m/z : 56, 100 a 128.



Obrázok 19: Príklad záznamu analýzy (TG a DSC krivky) spolu s intenzitami sledovaných signálov m/z . Záznam je z analýzy typu pôdy LUFA s koncentráciou PLA 5 %.

Krivka TGA má minimum pri nižšej teplote ako vrchol MS piku m/z 29 (Obrázok 19) čo mohlo byť spôsobené prenosom plynov kapilárkou a oneskorením detektora [162].

Signály m/z : 29, 43 a 44 sme určili ako najintenzívnejšie signály tepelnej degradácie PLA za daných podmienok. Napriek tomu tieto signály nemožno považovať za absolútne špecifické pre PLA. Ako už bolo v tejto práci napísané, podľa niektorých autorov [147, 155, 156], degradačné produkty PLA sa môžu líšiť v závislosti od zloženia (rôzne aditíva) a štruktúry analyzovaného PLA (L a D-enantioméry) a tiež od podmienok analýzy (teplota pyrolýzy a ostatných vyhrievaných komponentov), počas ktorej je PLA identifikované. Toto považujeme za dôvody, prečo sme tepelnou degradáciou PLA dostali čiastočne odlišné produkty ako boli uvedené v literatúre [147, 155, 156]. A však súvislosť signálov MS so špecifickým teplotným rozsahom degradácie PLA, 280 °C až 350 °C (za presne daných podmienok), nám umožnila obmedziť falošne pozitívne detekcie.

Oproti nekontaminovanej matrici, analýza PLA + pôda, ukázala zreteľné piky (Obrázok 19), pozorovateľné aj pri nízkych koncentráciách (0,2%) z čoho vyplýva, že v pôdach týmto spôsobom (pomocou určených m/z) je možné identifikovať PLA pomerne jednoducho a spoľahlivo.

5.3.2 Kvantitatívna analýza

Aby sa dosiahli reprodukovateľné výsledky, TG-MS systém by mal spĺňať nasledovné podmienky:

1. Je potrebná vysoká stabilita prietoku cez systém TG-MS a konštantný tlak v MS systéme. Túto podmienku je možné zabezpečiť ako kapilárnym prepojením systémov tak aj priamym vstupom
2. Teplota v peci by nemala ovplyvňovať intenzitu signálu MS

Ak sú tieto podmienky splnené, tak kalibračná krivka získaná rozkladom tuhých látok pri špecifických teplotách bude platná pre kvantitatívne stanovenie neznámej látky. Intenzita signálu MS by tiež nemala byť ovplyvnená rýchlosťou zahrievania pri analýze [163].

V kvantitatívnej analýze existuje niekoľko metód ako určiť obsah analytu vo vzorke. V tejto práci sme sa rozhodli pre nezávislú metódu (staršie označovaná ako absolútna metóda). Táto metóda poskytuje výsledky merania bez použitia pomocných látok (referenčných materiálov). Výsledok merania je funkciou fyzikálnych konštánt alebo atómových hmotností a priamo meraných veličín. Toto meranie je založené na základných veličinách SI sústavy a na fyzikálnych konštántach bez vedľajších krokov, poskytuje nízku neistotu merania. Táto analytická metóda sa vyznačuje tým, že nie je potrebné vopred kalibrovať signál [164]. A teda táto metóda využíva kalibračnú krivku, vytvorenú zo známych množstiev analytu a vynesением meraného signálu v závislosti od známej koncentrácie.

Na získanie údajov potrebných k vytvoreniu grafov kalibračnej krivky sa uskutočnili experimenty kvantitatívnej analýzy. Tieto údaje sme získali termickou analýzou vzorkou koncentračnej rady (0,1 až 5%). Následne v programe NETZSCH Proteus boli zaznamenané signály vyhodnotené pomocou funkcie integrácie plochy pikov. Lineárne vzťahy medzi inštrumentálnou odozvou a koncentraciami produktu boli stanovené pomocou lineárnej regresie najmenších štvorcov (plocha pikov v závislosti na koncentrácií).

Kalibračné krivky sme vytvorili dvoma spôsobmi. Najskôr sme k vytvoreniu závislostí využili plochy pikov, neskôr ich intenzitu. Vzorky na analýzu boli predpripravené a uložené pri laboratórnej teplote.

5.3.3 Limity detekcie a limity kvantifikácie

Účelom analytickej metódy je poskytnutie kvalitatívneho alebo kvantitatívneho výsledku s prijateľnou úrovňou neistoty. V praxi validácia metódy (neistota merania) podáva informácie ohľadne niekoľkých aspektov ako je presnosť, pravdivosť, selektivita, linearita, citlivosť, limit detekcie (LOD), limit kvantifikácie (LOQ) [165]. LOD a LOQ sú v kvantitatívnej analýze dva dôležité parametre. LOD je definovaný ako parameter limitných testov. Je to najnižšia koncentrácia analytu, ktorú je možné zistiť, ale nemusí sa kvantifikovať za stanovených experimentálnych podmienok. LOD preukazuje prítomnosť danej látky v hladine spoľahlivosti 95 %. Naopak, LOQ je definovaný ako parameter kvantitatívnych testov pre nízke hladiny zlúčenín v analyzovaných maticiach. LOQ je najnižšia koncentrácia vo vzorke, ktorá sa môže merať s prijateľnou úrovňou presnosti za stanovených experimentálnych podmienok a preukazuje prítomnosť danej látky v hladine spoľahlivosti 99 % [166], [167].

Lineárna korelácia medzi koncentráciou každej zlúčeniny (os x) a chromatografickými plochami pikov (os y) bola daná regresnou rovnicou, $y = kx + q$. To umožnilo výpočet koeficientu determinácie R^2 a LOD, LOQ. V našom prípade je možné do týchto rovníc dosadiť hodnoty z definície LOD ($3N$ – trojnásobok šumu) a LOQ ($10N$ – desiatnásobok šumu). Tím získame sústavu rovníc 1 a 2. Výsledná forma rovníc je zobrazená pomocou rovnice 3 a 4. V prípade, že úsek q je veľmi malý, je možné ho zanedbať a z rovnice odstrániť [168].

$$3N = kx + q \rightarrow LOD = \frac{3N-q}{k} \quad (1)$$

$$10N = kx + q \rightarrow LOQ = \frac{10N-q}{k} \quad (2)$$

$$LOD = \frac{3N-q}{k} \quad (3)$$

$$LOQ = \frac{10N-q}{k} \quad (4)$$

Pomocou týchto rovníc boli z kalibračných kriviek vypočítané limity detekcie a kvantifikácie.

Použitím plochy pikov sme získali grafy kalibračných kriviek s napohľad veľmi dobrými výsledkami avšak pri výpočte limitov (LOD a LOQ) v mnohých prípadoch poskytol tento spôsob neadekvátne vysoké hodnoty. Pre porovnanie výsledkov sú niektoré z vypočítaných limitov zapísané v Tabuľka 4. V kapitole Prílohy sú priložené grafy závislosti plochy pikov na koncentrácií (Obrázok 35 - Obrázok 37) pomocou ktorých boli vypočítané limity detekcie a limity kvantifikácie uvedené v tabuľke 4.

Tabuľka 4: Ukážka niektorých vypočítaných hodnôt limitov a koeficientov determinácie použitím plochy pikov.

	m/z	R ²	LOD [%]	LOQ [%]
P84	43	0,98	1,57	6,78
P185	29	0,59	1,88	10,99
LUFA	44	0,99	21,91	73,11

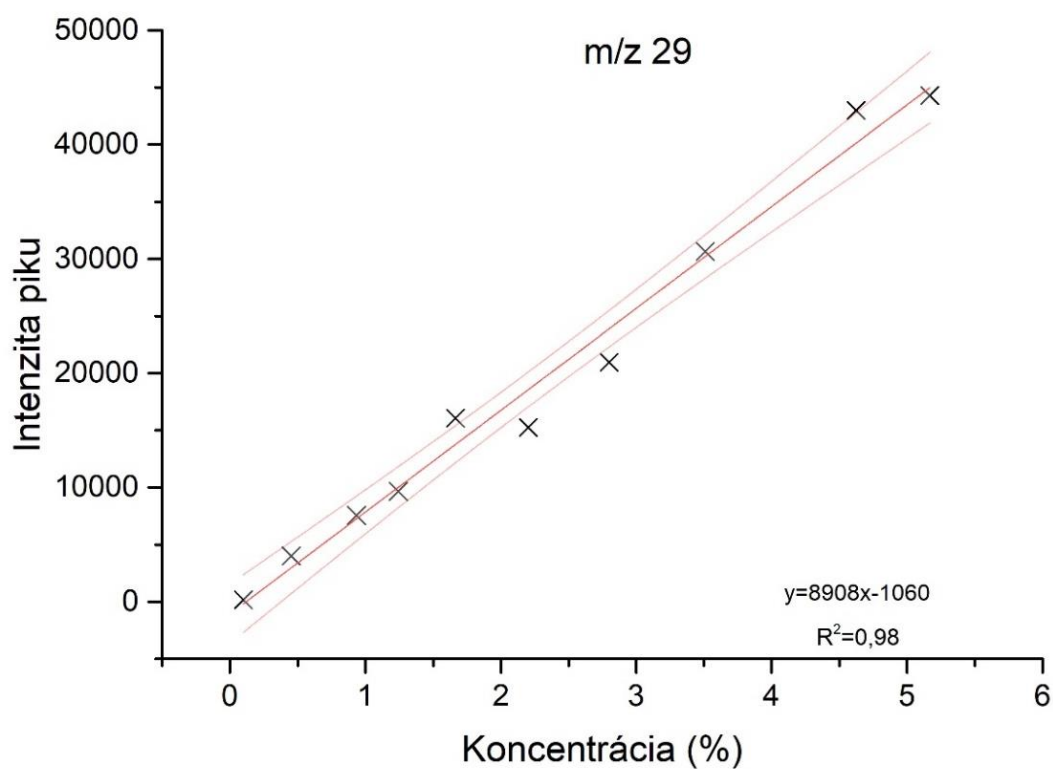
Nakoľko sme hľadali metódu, ktorá by poskytla čo najmenšie hodnoty LOD a LOQ sa tento spôsob vyhodnotenia dát (použitie plochy pikov) preukázal pre nás nedostatočný, pretože koncentrácie pre LOD od 6 – 73% sú príliš vysoké. Práve preto sme pristúpili k druhému spôsobu, kedy sme k výpočtu limitov namiesto plochy pikov použili ich intenzitu.

Intenzitu pikov k výpočtu limitov detekcie a kvantifikácie sme zvolili preto, lebo systém vyhodnotenia dát využívajúci plochy pikov je prebratý z chromatografie a chromatografií sú píky symetrické. V našom prípade tomu tak nie je a pri EGA sú píky nesymetrické a vyhodnotenie využitím plochy pikov môže byť problematické. Po maxime sa pík preťahuje a niekedy sa ani len nevracia na základnú líniu. Taktiež píky bývajú rozťahnuté (napr. začína na 250 °C a končí až na 500 °C) a v tom prípade sa na základnej línii môže prejavovať aj teplota. Z týchto dôvodov môžu nastať pomerne vysoké chyby vo vyhodnocovaní plochy pikov a preto sme pri výpočte LOD a LOQ uprednostnili intenzity pikov [169].

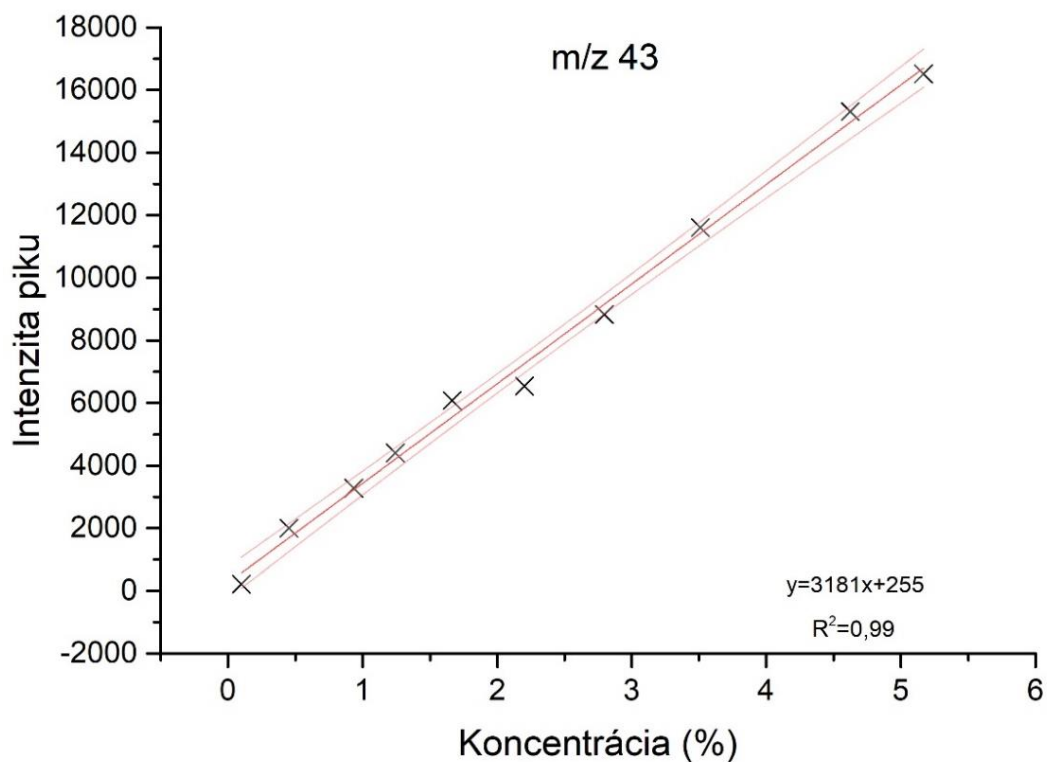
Vypočítané hodnoty limitov použitím intenzity pikov sú zapísané v Tabuľka 5. Keďže tieto limity vyšli pre tri rozdielne pôdy, použité v experimente približne rovnako, dá sa predpokladať, že aj u ďalších typov pôd by boli tieto limity podobné. Grafy intenzít pikov v závislosti od koncentrácie u typu pôdy LUFA sú pre ukážku zobrazené nižšie (Obrázok 20, Obrázok 21 a Obrázok 22). Grafy závislosti typu pôd P84 a P185 sú zobrazené v kapitole Prílohy (Obrázok 38 - Obrázok 43Obrázok 43).

Tabuľka 5: Vypočítané hodnoty koeficientov determinácie, LOD a LOQ použitím intenzít pikov.

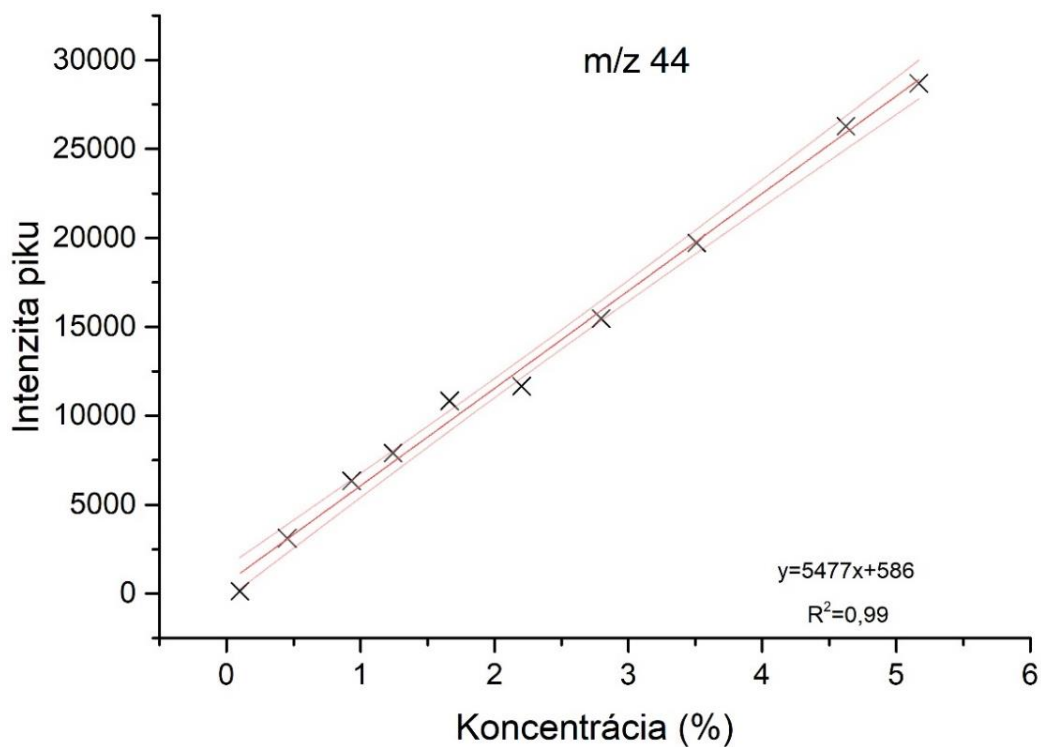
	m/z	R^2	LOD [%]	LOQ [%]
P84	29	0,98	0,02	0,08
	43	0,98	0,06	0,21
	44	0,98	0,03	0,11
P185	29	0,93	0,02	0,08
	43	0,72	0,05	0,16
	44	0,74	0,04	0,14
LUFA	29	0,98	0,02	0,06
	43	0,99	0,06	0,18
	44	0,99	0,04	0,13



Obrázok 20: Graf kalibračnej krivky (PLA v LUFA, m/z 29) vytvorený použitím intenzít pikov.



Obrázok 21: Graf kalibračnej krivky (PLA v LUFA, m/z 43) vytvorený použitím intenzít pikov.



Obrázok 22: Graf kalibračnej krivky (PLA v LUFA, m/z 44) použitím intenzít pikov.

Tým, že plocha piku je lineárne závislá na koncentrácií PLA v pôde, bolo preukázané, že tento spôsob analýzy (EGA) je vhodný pre kvantitatívnu analýzu v danom koncentračnom rozmedzí.

Rôzne zloženie pôd použitých pri experimente má veľmi pravdepodobne vplyv na množstvo uvoľnených plynov a teda na intenzitu signálu a tvar píku.

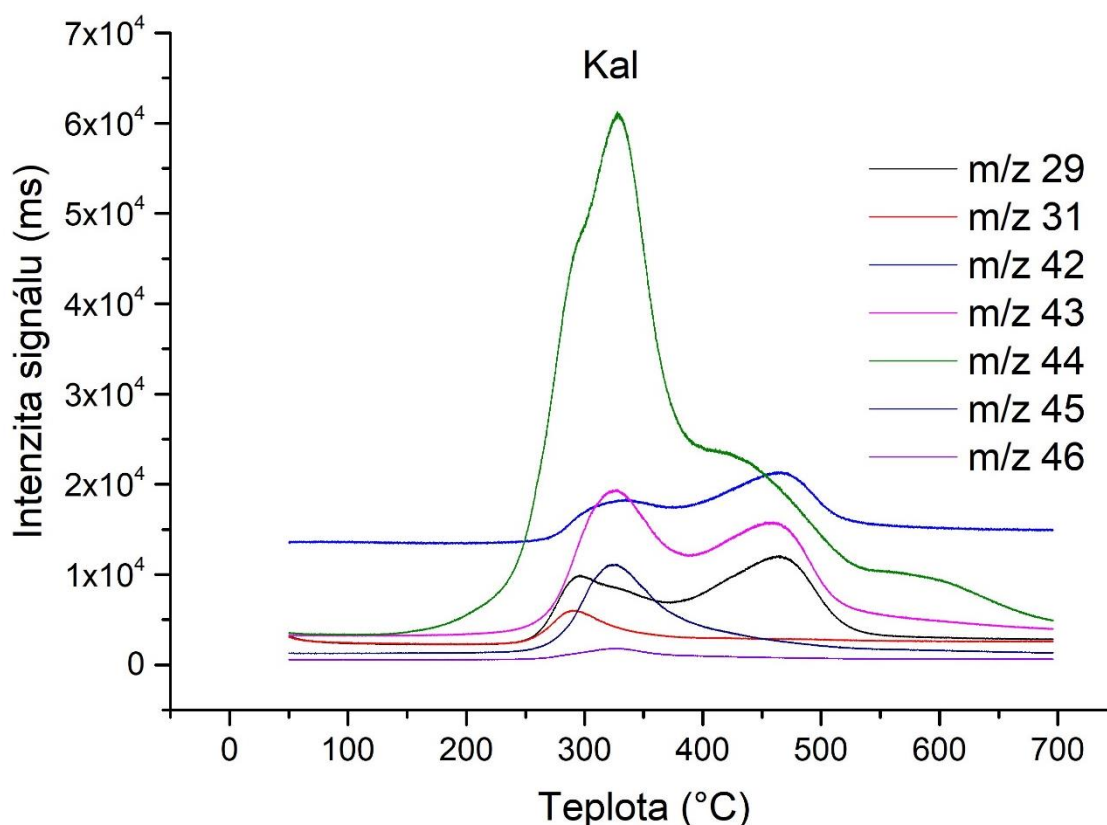
Na dynamiku degradácie PLA v pôde (PLA v rôznych pôdach, degradovalo pri rôznych teplotách) môžu mať vplyv predovšetkým mineráli prítomné v pôde alebo/a zloženie organickej zložky pôdy.

Pri type pôdy P185 niektoré body kalibračnej krivky sú viac odľahlejšie (Obrázok 41 - Obrázok 43). Tento jav sme pripísali faktu, že pôda P185 obsahovala veľa nečistôt a organickej hmoty (kamienky, koreničky a kúsky slamy), ktoré sa ani po manuálnom zásahu nepodarilo úplne odstrániť a vysokej nehomogenite jednotlivých vzorkou.

5.4 Analýza uvoľnených plynov čistého kalu

Analýza PLA v kale boli prevedené rovnakým spôsobom ako analýzy PLA v pôdach a výstupom analýzy tak ako v predchádzajúcich prípadoch boli TG a DSC záznamy.

Problém však nastal (viz.Obrázok 23) hneď pri termickej analýze matrice (kalu), kedy sme zistili, že čistý kal (bez pridaného PLA) poskytuje odozvu na všetkých 7 sledovaných signálov, ktoré sa uvoľňujú pri termickej degradácii PLA (m/z : 29, 31, 42, 43, 44, 45, 46).

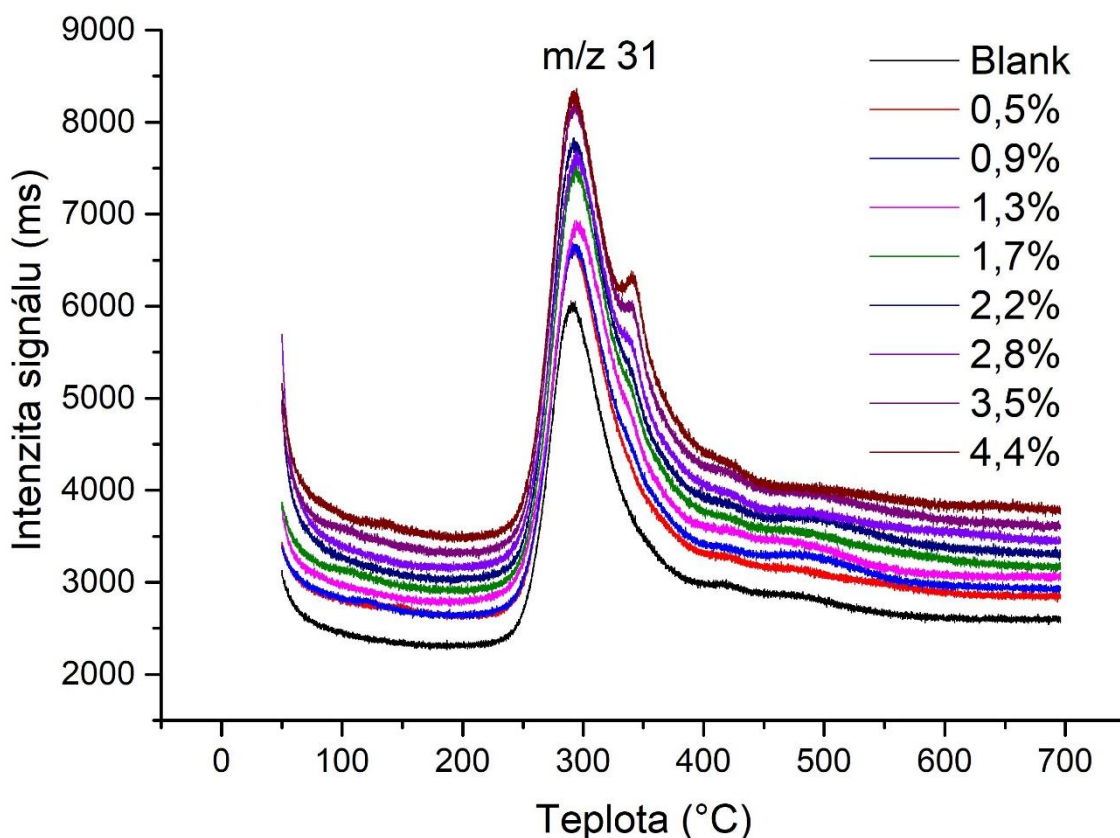


Obrázok 23: Záznam analýzy čistého kalu (bez pridaného PLA) s vloženými intenzitami sledovaných signálov m/z .

5.5 Analýza uvoľnených plynov kontaminovaného kalu

Pre lepší prehľad v nameraných dátach kontaminovaného kalu, sme vyniesli všetky koncentrácie signálu m/z do grafu. Z týchto grafov, sme potom boli schopný vyčítať, že výška piku a plocha piku sa zvyšuje so zvyšujúcou sa koncentráciou analytu (v našom prípade PLA) vo vzorke, pri rovnakej hmotnosti navažky (viz.Obrázok 24).

Čistiarenský kal možno definovať ako zložitú suspenziu tuhých anorganických a organických látok, koloidov a iných nečistôt, ktoré sa oddelili v priebehu procesu čistenia odpadových vôd. Kaly tiež obsahujú rôzne zmesi kyselín, čo v našom prípade môže viesť k falošne pozitívnym výsledkom. Na riešenie takýchto typov problémov bolo vyvinutých množstvo normalizačných metód. Ich použiteľnosť sa však veľmi líši a do veľkej miery závisí od povahy študovaných materiálov. Okrem toho vzhľadom na komplexnosť skutočných údajov nie je možné vždy dáta vyhodnotiť len jedným spôsobom [170]. Práve preto sme k vyhodnoteniu získaných dát pristúpili niekoľkými spôsobmi.



Obrázok 24: Ukážka záznamu analýz koncentračnej rady intenzít signálu m/z 31 v kale.

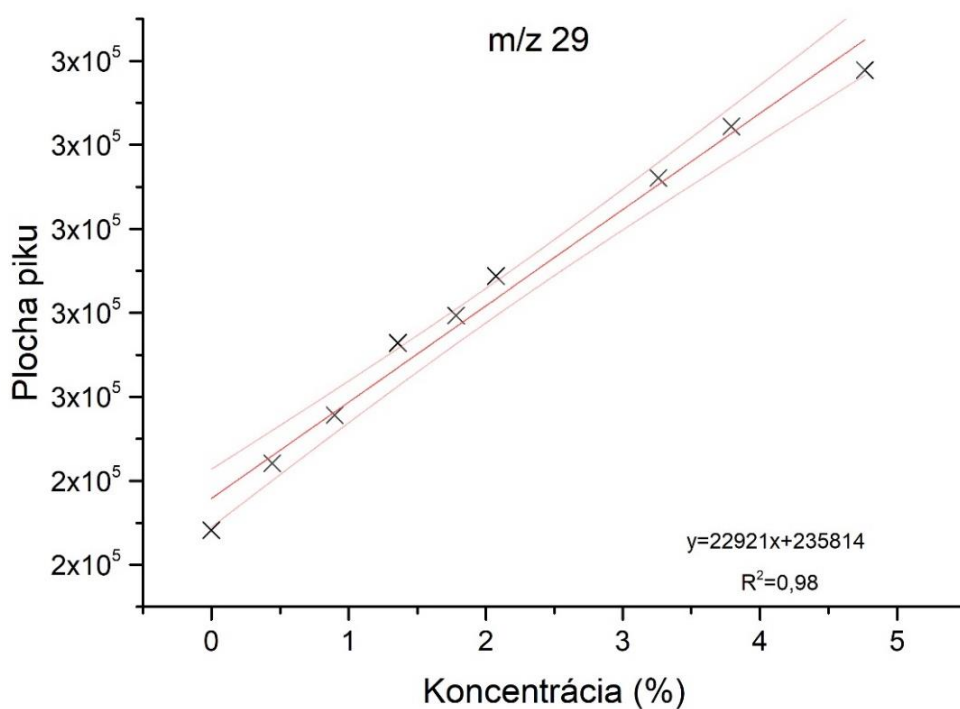
5.5.1 Vyhodnotenie dát pomocou plochy piku

Najskôr sme sa zamerali na vyhodnotenie dát pomocou plochy pikov ich normalizáciou. Nenormalizovanú plochu piku je možné normalizovať dvoma spôsobmi:

- 1) Vydeliť celkovú plochu piku váhou navažky
- 2) Vydeliť celkovú plochu piku hmotnostným úbytkom získaným z TG krivky

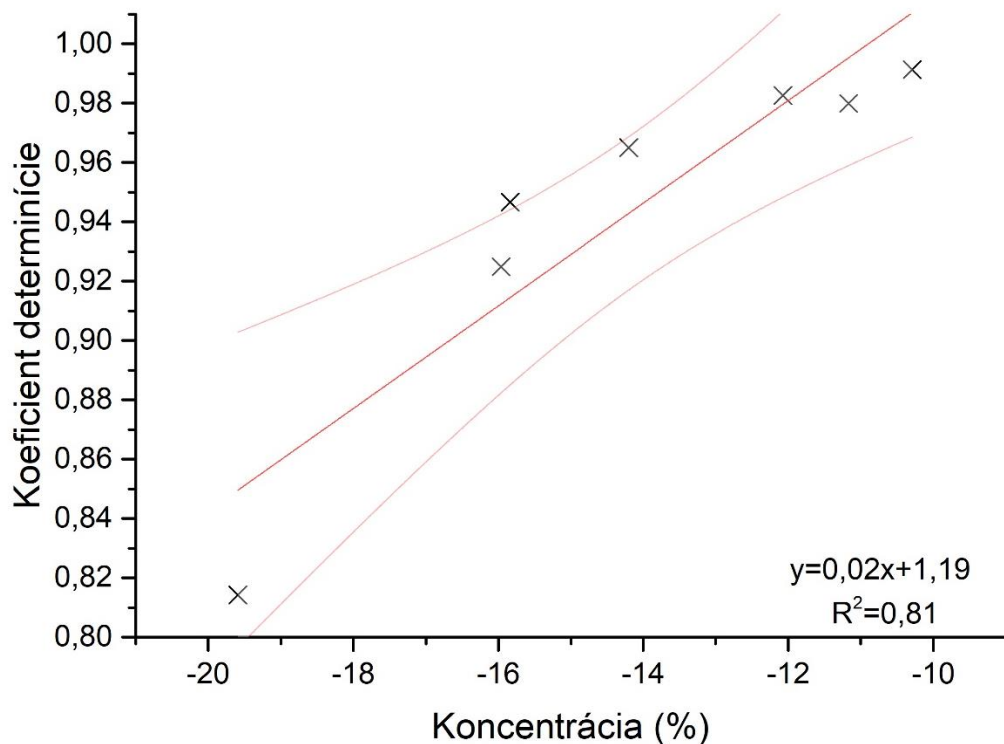
Pri vyhodnotení údajov sme použili prvý prvý spôsob, kedy sme vydělili plochu pikú, váhou navážky. Dôvodom prečo sme použili práve tento spôsob, bola eliminácia chyby spôsobenej tým, že sa u pikov ťažko presne definovali začiatky a konce procesov. To spôsobilo nepresnosti ako na ploche pikov tak aj v hmotnosti a podelením plochy pikú celkovou hmotnosťou sme jednu z týchto chýb eliminovali. Získané údaje (plochy pikov) sme následne vyniesli do grafu v závislosti od použitej koncentrácie (Obrázok 25).

Pre falošne pozitívne výsledky analýzy čistého kalu, vynesenie normalizovanej plochy pikú v závislosti od koncentrácie pre kvantitatívnu analýzu nebolo dostatočné. Samotný čistý kal mohol obsahovať látky, ktorých plynné produkty termickej degradácie sú podobne tým získaných termickou degradáciou PLA a bolo treba vypočítať množstvo týchto látok v kale. Preto sme vypočítali tzv. zápornú koncentráciu, ktorú ďalej označujeme ako teoretickú koncentráciu. Tieto koncentrácie sme využili k výpočtu teoretického množstva PLA, ktoré by bolo v kale alebo koncentrácie látok, ktoré termickou degradáciou poskytujú falošne pozitívne výsledky.



Obrázok 25: Ukážka grafu normalizovanej plochy pikú v závislosti od koncentrácie pre $m/z = 29$.

Teoretickú koncentráciu PLA v kale sme spočítali pre všetky signály m/z . Ich hodnoty boli vynesené do grafu (Obrázok 26) a vypočítané teoretické koncentrácie sú vypísané v Tabuľka 6.



Obrázok 26: Grafické znázornenie teoretických koncentrácií PLA v kale.

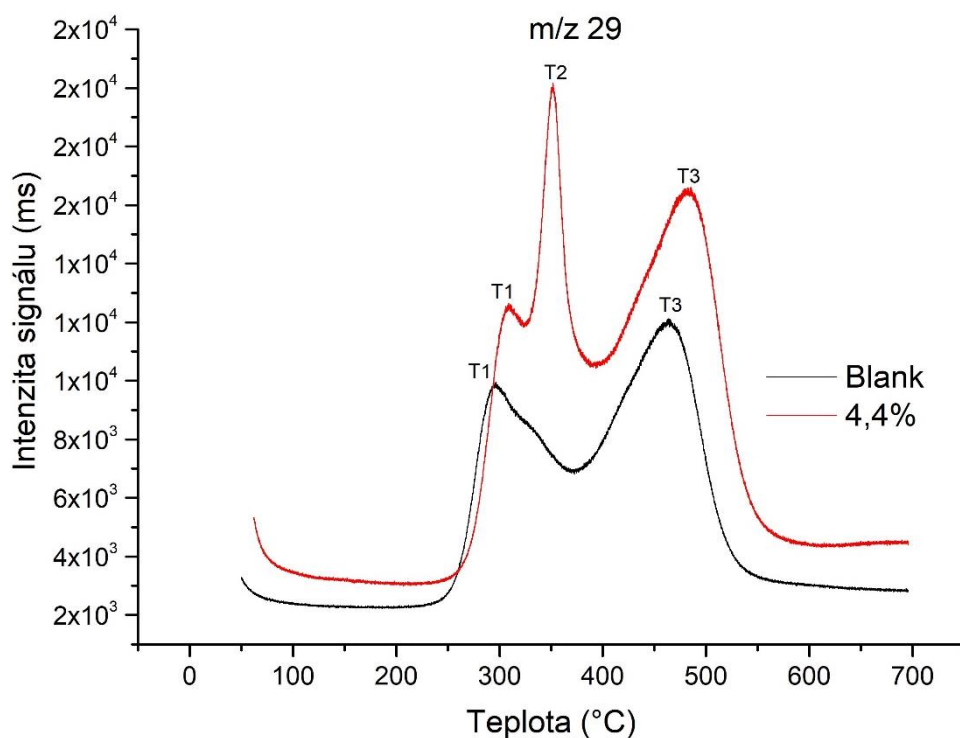
Tabuľka 6: Súhrn vypočítaných hodnôt teoretických koncentrácií pre všetky merané m/z .

m/z	29	31	42	43	44	45	46
Teoretická koncentrácia	-10,3	-16	-19,6	-15,8	-14,2	-12,1	-11,2
Extrapolovaná koncentrácia pre všetky m/z							-11,4

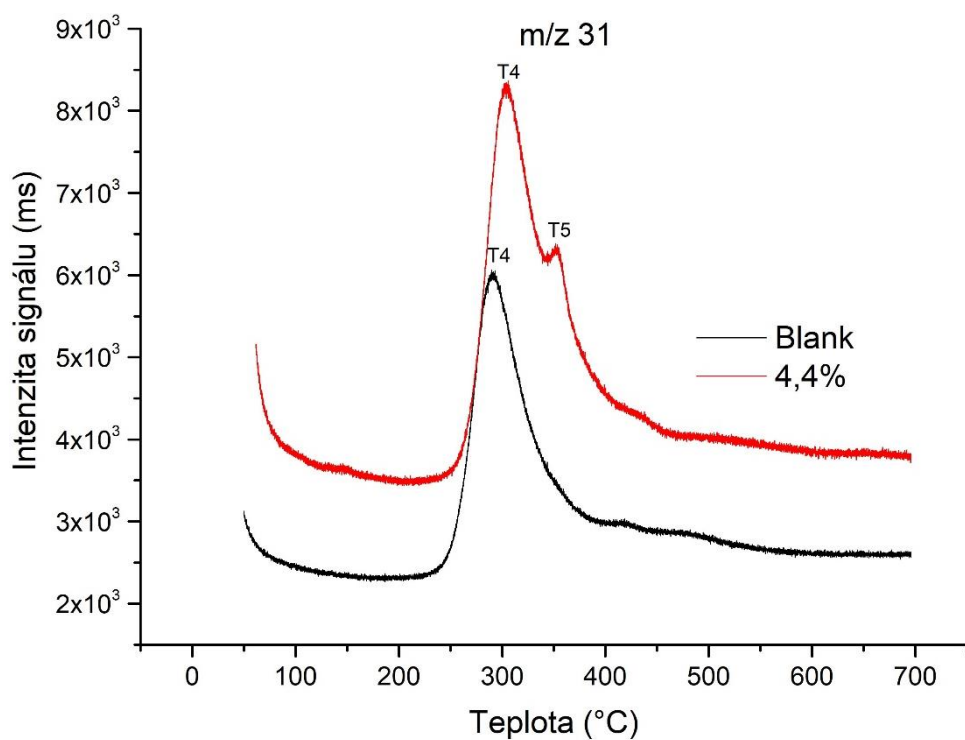
Ako už bolo povedané, pre každé m/z sme vypočítali teoretickú koncentráciu (Obrázok 26) a na prvý pohľad vyzerajú, že sú rozdielne, ale treba vziať do úvahy, že každá z nich je zaťažená inou chybou. Takže, keď vezmeme v úvahu aj chybu, tak sa ukazuje, že čím viac sa chyba zväčšuje, tým viac sa zväčšuje aj vzdialenosť medzi bodmi (medzi teoretickými koncentraciami). To značí, že vypočítané teoretické koncentrácie jednotlivých m/z by mohli byť rovnaké. Preto sme vyniesli graf závislosti koeficientu determinácie na koncentracii, ktorá ukázala závislosť medzi vnesenými parametrami a poskytla tak možnosť výpočtu jednej extrapolovanej koncentrácie (Tabuľka 6). Vypočítaním extrapolovanej koncentrácie pre všetky m/z sme získali hodnotu, ktorá odpovedá teoretickému množstvu PLA v kale. A ak vylúčime možnosť kontaminácie kalu PLA, potom táto koncentrácia odpovedá koncentracii komplexu látok, štruktúrne podobných PLA, ktoré pri termickej degradácii poskytujú rovnaké m/z signály ako pyrolyzované PLA. Ale vzhľadom na to, že dynamika uvoľnenia plynov je rovnaká, tento prístup nie je možné využiť pre kvantitatívne stanovenie PLA v kale u neznámej vzorke.

5.5.2 Vyhodnotenie dát pomocou intenzity pikov

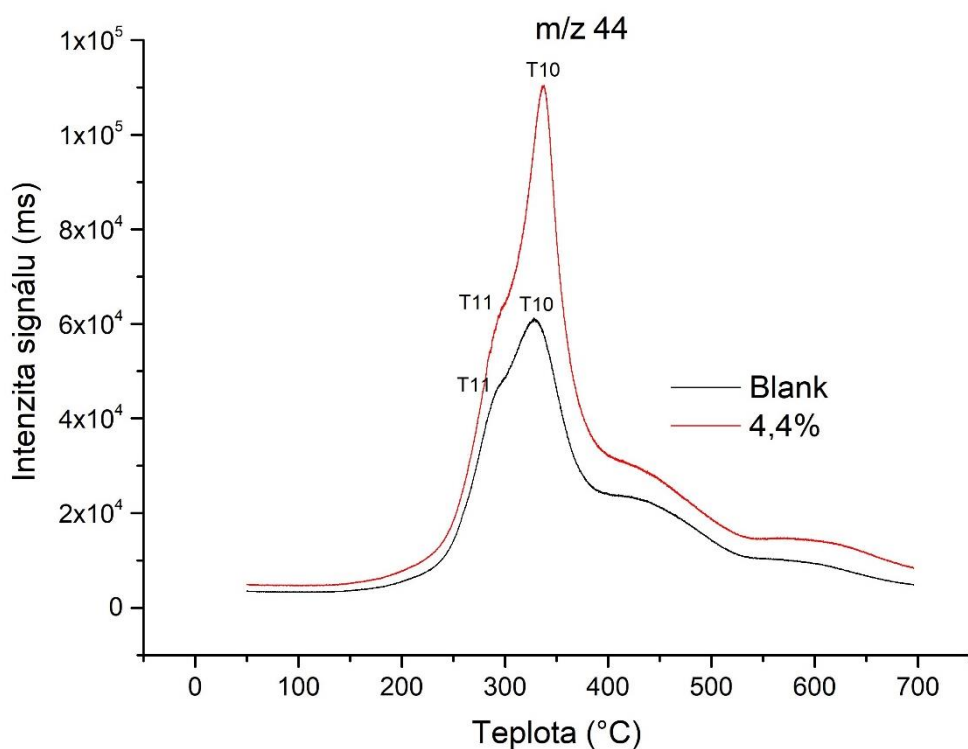
Pre nedostatočné výsledky použitím prvej metódy vyhodnotenia dát, sme k vyhodnoteniu skúsili podrobnejšiu analýzu získaných pikov a pri tomto spôsobe sme sa miesto na plochu pikov, zamerali na ich intenzitu a priebeh. K tomuto spôsobu vyhodnotenia dát sme zo 7 sledovaných signálov použili 5 a to m/z : 29, 31, 42, 43 a 44. K podrobnejšej analýze nás viedlo zistenie, že pri niektorých pikoch dochádzalo k štiepeniu (Obrázok 27 - Obrázok 28) a pri kontaminovaných vzorkách vznikali charakteristický PLA pík. Píky pre jednotlivé signály m/z sú v obrázkoch označené ako T₁ až T₁₁. Charakteristické PLA píky vznikali pri signáloch m/z : 29 a 31. Po pozornejšej analýze získaných dát sme zistili, že k štiepeniu dochádza aj pri m/z 44 a však toto štiepenie nie je dobre viditeľné. Obrázok 29 nám ukazuje, že k výraznejšiemu štiepeniu dochádza až pri vyšších koncentráciách PLA vo vzorku a nami použité koncentrácie neboli dostatočné k zaznamenaniu výraznejšieho štiepneho piketu. Preto sme fragment 44 vylúčili z ďalšieho spracovania dát a zamerali sme sa na fragmenty signálov 31 a 29 a to najmä na 29 kde štepový pík charakteristický pre PLA (T₂) je výrazný a je možné ho zaznamenať už od najnižších koncentrácií použitých v experimentoch.



Obrázok 27: Ukážka záznamov analýz fragmentového iónu m/z 29 pri najvyššej použitej koncentrácii PLA a záznamy analýz bez pridaného PLA.



Obrázok 28: Ukážka záznamov analýz fragmentového iónu m/z 31 pri najvyššej použitej koncentrácii PLA a záznamy analýz bez pridaného PLA.



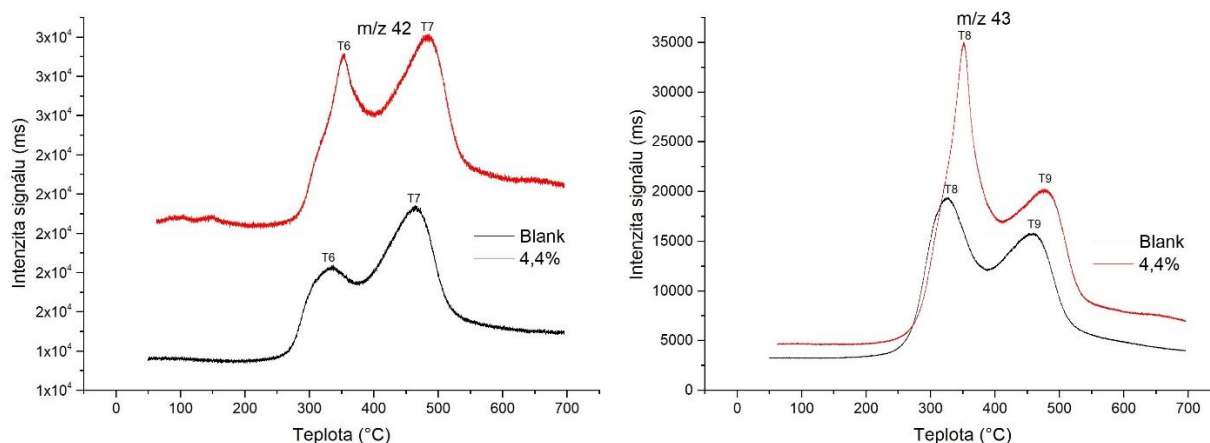
Obrázok 29: Ukážka záznamov analýz fragmentového iónu m/z 44 pri najvyššej použitej koncentrácii PLA a záznamy analýz bez pridaného PLA.

Termická degradácia kalu pri sledovanom m/z 29 (Obrázok 27) prebiehala v dvoch krokoch, na rozdiel od termickej degradácie PLA v kale, ktorá prebiehala v troch krokoch. Z toho vyplýva, že pík T_2 vzniká iba pri degradácii PLA a je možné ho považovať za charakteristický pík pre PLA. Na základe týchto zistení sme usúdili, že tento pík (T_2) je pre PLA charakteristický a je možné ho využiť ku kvalitatívnej analýze PLA v kale.

K podobnému javu dochádza aj pri m/z : 31 a 44. Avšak pri m/z 31 (Obrázok 28) sa PLA pík (T_5) začal vyvíjať až pri vyšších koncentráciách, konkrétne od 2,8% (viz. Obrázok 24) a ako už bolo zmienené pri m/z 44 (Obrázok 29) je PLA pík (T_{11}) pri nižších koncentráciách zanedbateľný.

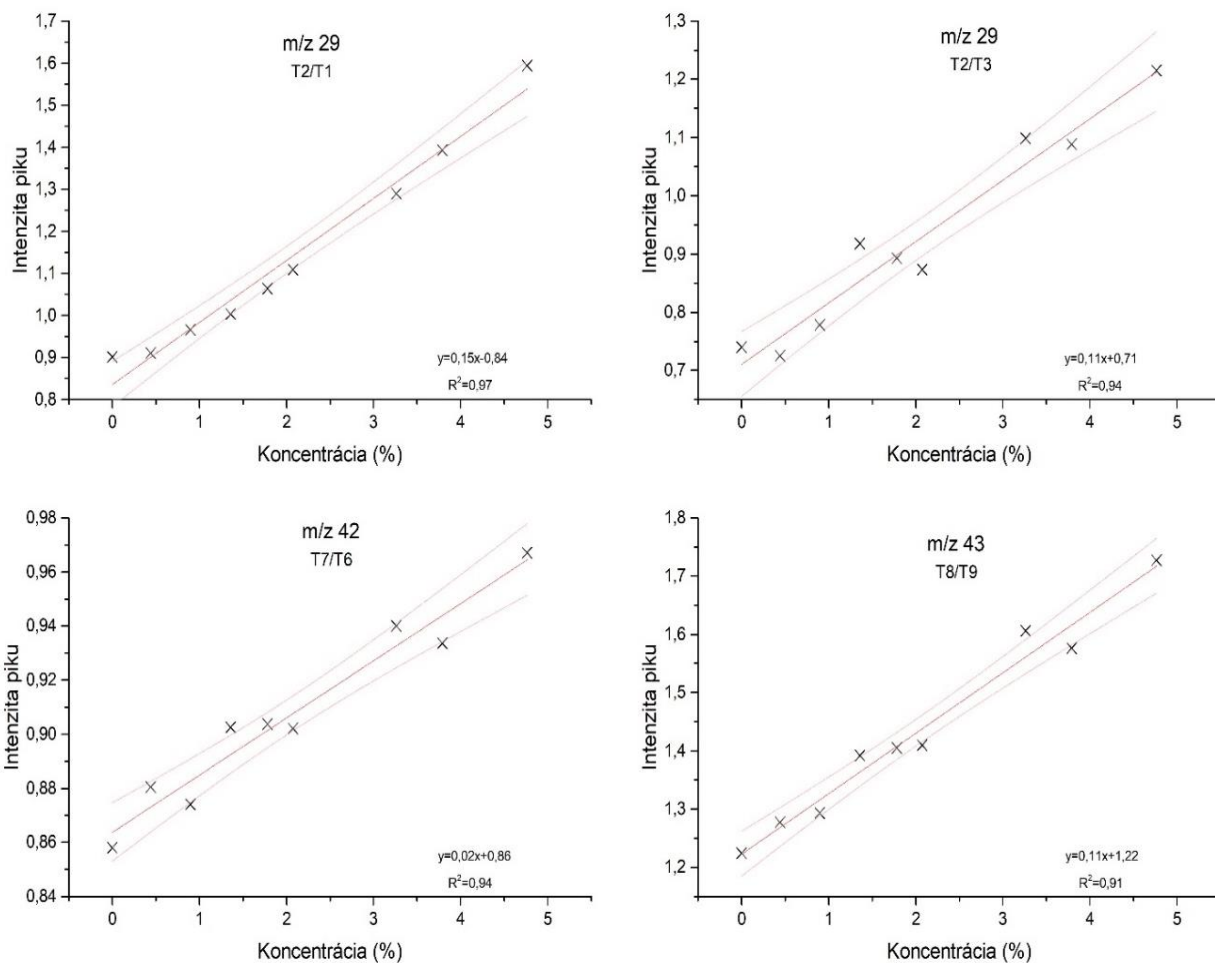
Analýzami kontaminovaných vzoriek kalu sme sa snažili vyvinúť metódy ako kvalitatívnej analýzy tak aj kvantitatívnej analýzy. Zistili sme, že k identifikácii (ku kvalitatívnej analýze) je možné využiť signály m/z 29 (pík T_2) a čiastočne aj 31 (pík T_5 pri vyšších koncentráciách).

Ku kvantitatívnej analýze sme pristúpili podobne ako pri pôdach a k tejto analýze sme použili tri signály m/z : 29, 42 a 43 (Obrázok 27 a Obrázok 30). Tieto signály boli vybrané kvôli tomu, že ich degradácia v kale prebehla aspoň v dvoch krokoch (vzniká viacej pikov). A do grafov závislosti sme vyniesli ich pomery v závislosti od koncentrácie (Obrázok 31).



Obrázok 30: Ukážka vybraných intenzít signálov ku kvantitatívnej analýze (m/z : 42 a 43) pri najvyššej použitej koncentrácii PLA v kale a záznamy analýz čistého kalu, bez pridaného PLA.

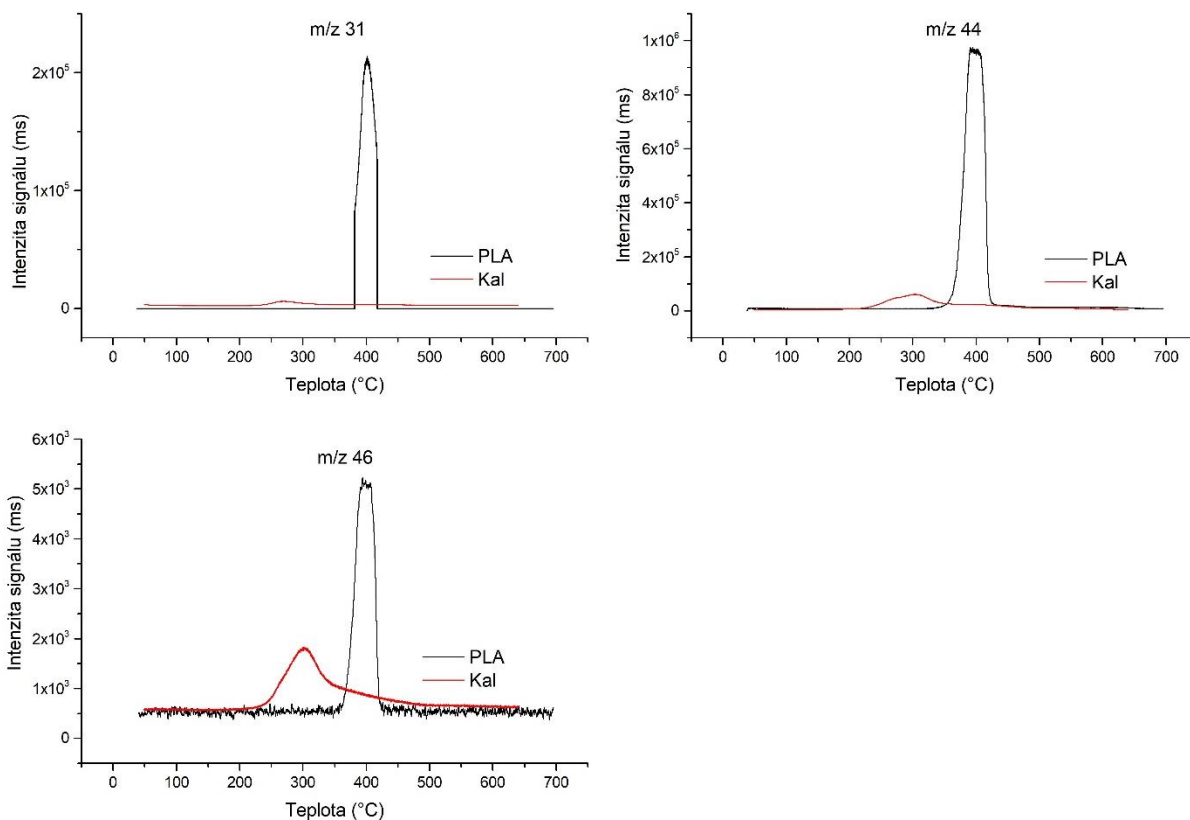
Nakoľko pri signáli m/z 29 vznikli až tri piky, pre tento signál sme vytvorili dva grafy závislosti. K vytvoreniu prvého grafu bol použitý pomer intenzít pikov T_2/T_1 v závislosti od koncentrácie. Pri druhom grafe sme použili pomer intenzít pikov T_2/T_3 v závislosti od koncentrácie (Obrázok 31). Rovnaký postup sme použili aj pri signáli m/z 42 kedy sme k vytvoreniu grafu použili pomer intenzít pikov T_7/T_8 a pri signáli m/z 43 kedy sme použili pomer intenzít pikov T_8/T_9 (Obrázok 31). Lineárne vzťahy medzi inštrumentálnou odozvou a koncentraciami PLA boli stanovené pomocou lineárnej regresie najmenších štvorcov (Obrázok 31). Tým, že intenzita pikov (pomer intenzít pikov) je lineárne závislá na koncentracii PLA v kale, sme dokázali, že tento postup analýzy a vyhodnotenia dát je pravdepodobne možné použiť ku kvantitatívnej analýze PLA v kale.



Obrázok 31: Grafické znázornenie lineárnej závislosti pomeru intenzít pikov na koncentrácií PLA v kale u vybratých fragmentových iónov (m/z: 29, 42 a 43).

5.5.3 Vyhodnotenie dát pomocou teplotného posunu

Pri analýze získaných dát sme pozorovali ešte jeden jav pomocou, ktorého by bola možná identifikácia PLA v kale. Jednalo sa o rozdielne teploty, toho istého signálu m/z , pri ktorých sa začali vyvíjať piky v čistom kale a v čistom PLA. Tento jav bol najlepšie viditeľný pri signáloch m/z : 31, 44 a 46 (Obrázok 32). Pri m/z 31 je teplotný posun značný a ako je vidieť pík kalu sa vyvíjal približne o 80 °C skôr ako pík PLA. Pri signáloch m/z : 44 a 46 je posun omnoho menší a však v oboch prípadoch je možné vidieť, že pík PLA sa začína vyvíjať až pri takej teplote, kedy sa pík kalu vyvíjať prestáva. Na základe týchto zistení sme usúdili, že tieto teplotné posuny predstavujú ďalšiu možnosť kvalitatívnej analýzy PLA v kale. Avšak, túto otázku nechávame otvorenú, pretože nemôžeme posúdiť, či sa jedná o obecný trend alebo sa jednalo iba o jav, ktorý vznikol konkrétne v tomto kale.



Obrázok 32: Ukážka porovnania záznamov čistého PLA a čistého kalu pre znázornenie teplotného posunu vybraných signálov m/z: 31, 44 a 46.

5.6 Kondenzácie degradačných produktov v kapiláre

Kapilára (respektíve jej vlastnosti), ktorá spája MS systém s TG systémom môže ovplyvniť kvalitu výsledkov rovnako ako aj celú analýzu. Napríklad, uvoľnené plyny sa môžu za určitých podmienok adsorbovať na povrchu kapiláry, čo môže spôsobiť chyby v meraní. Adsorbovanie na povrchu kapiláry pri plastoch bolo už zaznamenané v niekoľkých štúdiách [145, 146] a často býva zapríčinené teplotou kapiláry. Mnohé z plastov ako aj PLA degraduje až pri vyšších teplotách (PLA nad 300 °C) a ak je teplota kapiláry nastavená na nižšiu teplotu alebo ak by kapilára nebola vyhrievaná vôbec, náhlým rozdielom teplôt dochádza ku kondenzácii a do hmotnostného spektrometru sa nedostávajú všetky plynné produkty, ktoré sa počas degradácie materiálu uvoľnili.

Na druhú stranu, nižšia teplota kapiláry nespôsobí ďalšiu degradáciu reakčných produktov, takže na detektor dostanú skutočne uvoľnené molekuly a nie ich ďalšie fragmenty. Najmä z tohto dôvodu sa v experimentoch niekedy využíva skôr nižšia teplota kapiláry.

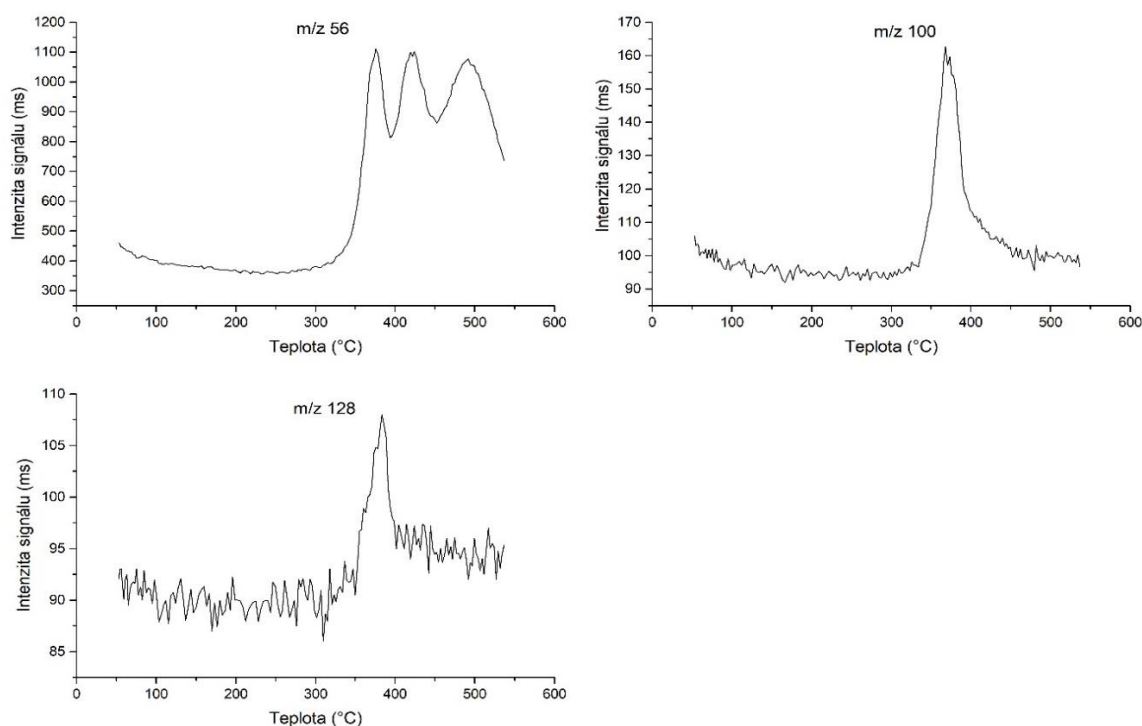
K podobnému problému došlo aj pri našom experimente, kedy teplota kapiláry bola nastavená na 150 °C. Do hmotnostného spektrometru sa tak dostali iba plynné produkty s nižšou molekulovou hmotnosťou a produkty s vyššou molekulovou hmotnosťou pravdepodobne kondenzovali na kapiláre.

Z tohto dôvodu sme urobili ešte jeden experiment, kedy sme zvýšili teplotu kapiláry a urobili sme ďalší záznam čistého PLA aby sme zistili, či zachytíme aj produkty s vyššou molekulovou hmotnosťou. Základne parametre nastavené pre tento experiment sú zaznamenané v Tabuľka 7 a navážka čistého PLA bola 21,24 mg.

Tabuľka 7: Novo nastavené parametre prístrojov pri druhom experimente.

TGA	
Teplotný rozsah	36 - 600 °C
Teplotný krok	10 K/min
Reakčná atmosféra	50 ml/min
Ochranná atmosféra váh	20 ml/min
Teplota kapiláry	280 °C
MS	
Nastavený mód	sken
Prietok hélia	14 ml/min

Zvýšenie teploty kapiláry sa preukázalo prospešné a boli sme schopný zaznamenať plynné produkty s vyššími molekulovými hmotnosťami a to konkrétne m/z : 56, 100 a 128 (Obrázok 33). Všetky z týchto fragmentov boli, už v predchádzajúcich štúdiách [147, 155, 156] zaznamenané ako súčasť produktov vzniknutých pri tepelnej degradácii PLA. Týmto experimentom sme potvrdili, že teplota kapiláry môže ovplyvniť výsledky analýz a že v rámci experimentu je nutné dbať na správne podmienky merania a prípadne previesť viacej experimentov. Taktiež nám to naznačilo možnosti identifikácie PLA v kale pomocou vysokomolekulových produktov degradácie.



Obrázok 33: Ukážka záznamu analýzy (čitého PLA) s novo nájdenými vysokomolekulárnymi signálmi m/z : 56, 100 a 128. Analýza prebehla pri zvýšenej teplote kapiláry (280°C).

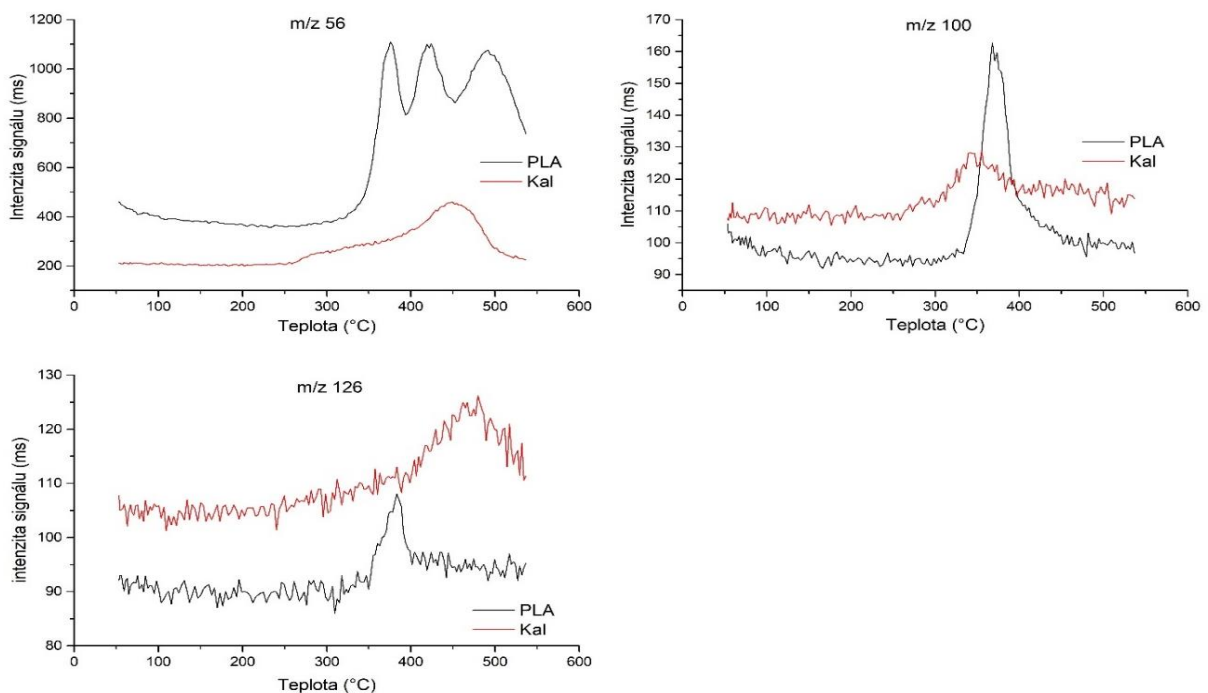
Následne sme previedli ešte jeden experiment, kedy sme samotný kal (hmotnosť navážky bola 12,55 mg) zanalyzovali za nových podmienok (zvyšená teplota kapiláry) a výsledky sme porovnali s analýzou čistého PLA (Obrázok 34).

Napriek naším snahám sa nám nepodarilo získať identifikačný vysokomolekulárny produkt (signál m/z), ktorý by bol pre PLA charakteristický a ktorý by sa dal použiť k identifikácii PLA v kale (signál, ktorý by pri termickej degradácii kalu neposkytol odozvu). Aj keď sa nám nepodarilo nájsť signál charakteristický pre PLA, získané výsledky termickej degradácie kalu a PLA pri zvýšenej teplote kapiláry, poskytli určité možnosti identifikácie PLA v kale.

U fragmentového iónu m/z 56 ako u jediného s týchto iónov dochádza k štiepeniu piku podobne ako to bolo pri m/z 29. Ako je vidieť (Obrázok 34) pri analýze PLA dochádza štiepením k vytvoreniu až 3 pikov, zatiaľ čo analýza čistého kalu poskytla odozvu na tento signál vo forme iba jedného piku a teda by sa mohol tento ión v budúcnosti použiť k identifikácii PLA v kale.

Ióny 100 a 128 by sa mohli využiť k identifikácii PLA pomocou teplotného posunu. I keď oba tieto ióny poskytujú odozvu v oboch materiáloch (kal aj PLA), pri PLA k tomu dochádza v rozdielnych teplotách ako pri kale. Pri m/z 100 je tento posun iba mierny ale pri m/z 128 je teplotný posun výraznejší a pík v PLA sa začína vyvíjať približne pri 80 °C nižšej teplote, ako pík pri kale. Teplota vyvíjajúceho sa iónu 128 by sa teda mohla využiť k identifikácii PLA v kale. Nevýhodou pri tomto ióne predstavuje vysoké zašumenie výsledkov a tiež relatívne slabý signál z PLA. Zašumenie by sa mohlo teoreticky odstrániť lepším nastavením prístroja, kedy by sa znížil šum a zvýšila intenzita signálu. Avšak ostáva problém slabého signálu.

V tomto experimente bolo merané čisté PLA (navážka bola 21,24 mg) a ak by tento signál bol meraný vo vzorke, kde by obsah PLA bol napríklad len 0,1% (cca 100 krát nižšia navážka), potom by sme pravdepodobne neboli schopný tento signál zaznamenať vôbec.



Obrázok 34: Ukážka porovnania analýz čistého PLA a čistého kalu pre sledované vysokomolekulárne ióny pri zvýšenej teplote kapiláry.

5.7 Zhrnutie výsledkov

Pri pôdach (P84, P185 a LUFA) boli pomocou analýzy čistého PLA namerané nízkomolekulové signály m/z : 29, 31, 42, 43, 44, 45 a 46 z ktorých sa tri (29, 43 a 44) neskôr preukázali vhodné na identifikáciu PLA v pôdach.

Pre kvantitatívnu analýzu použitím niektorých z učených m/z (29, 43 a 44) boli vytvorené grafy kalibračných kriviek (plocha píku/intenzita píku v závislosti od koncentrácie) a zo získaných dát boli vypočítané LOD a LOQ. Tieto limity boli vypočítané pre každý z určených signálov v každom type pôdy a využitie intenzít píkov bolo sa preukázalo ako lepšia možnosť (spôsob). LOD všetkých signálov u všetkých druhov pôd sa pohyboval v rozmedzí 0,02 – 0,06 % a LOQ 0,06 – 21. Na základe podobnosti vypočítaných hodnôt LOD a LOQ u troch rôznych typov pôdy vznikol predpoklad, že použitie tejto metódy bude vhodné pre kvantitatívnu analýzu aj u iných druhov pôd.

Pre komplikovanejšiu povahu získaných dát z čistého aj kontaminovaného kalu, bolo k ich vyhodnoteniu prístupné niekoľkými spôsobmi. Pri vyhodnotení týchto dát sa ukázalo, že možnosť sledovania priebehu analýzy bola veľkou výhodou, ktorú napr. online spojenie pyr-MS nemusí mať.

K identifikácii PLA v kale bol určený signál m/z 29. Presnejšie k identifikácii bol určený jeden z píkov (T_2), vznikajúcich pri termickej degradácii PLA v kale. Tento pík (T_2) bol určený za charakteristický pre PLA a vhodný k identifikácii. Tiež bolo zistené, že pri vyšších koncentráciách PLA v kale ($\geq 2,8\%$) je možné k jeho identifikácii využiť pík (T_5), ktorý vzniká štiepením signálu m/z 31.

Ďalším z navrhnutých spôsobov identifikácie PLA, bolo využitie teplotného posunu, ktorý vznikal pri termickej degradácii PLA v kale. K tejto identifikácii bol učený signál m/z 31 ako najlepšia z možností, vďaka tomu, že pík kalu sa vyvíjal približne o 80 °C skôr ako pík PLA a teplotný posun tam bol najvýraznejší. Tento spôsob identifikácie, je však zatiaľ limitovaný iba na jeden druh kalu, ktorý sme použili v experimente a miera jeho použiteľnosti pre identifikácie PLA sa bude musieť zistiť v ďalších experimentoch, použitím rôznych druhov kalov.

Ku kvantitatívnej analýze bolo prístupné podobne ako pri pôdach a k vyhodnoteniu boli vytvorené grafy kalibračných kriviek. Pri kale boli využité ako závislosti plochy píkov od koncentrácie, tak aj závislosti intenzít píkov v závislosti od koncentrácie.

Pri spôsobe, kedy boli ku kvantitatívnej analýze použité plochy píkov, bola následne vypočítaná aj teoretická koncentrácia pomocou ktorej bola stanovená extrapolovaná koncentrácia pre všetky m/z (29, 31, 42, 43, 44, 45 a 46). Po vylúčení možnosti kontaminácie kalu, táto koncentrácia odpovedala koncentracií komplexu látok, ktoré pri termickej degradácii poskytujú rovnaké m/z ako pyrolyzované PLA.

Pri kvantitatívnej analýze PLA v kale použitím intenzít píkov boli využité pomery intenzít píkov vznikajúcich pri termickej degradácii PLA v kale. K tomuto spôsobu vyhodnotenia dát boli použité pomery intenzít troch sledovných signálov m/z : 29, 42 a 43.

V rozpore s výsledkami niektorých štúdií [147, 155, 161] boli termickou analýzou PLA získané iba nízkomolekulové signály. Tento jav bol pripísaný nízkej teplote kapiláry, čo bolo dokázané aj ďalším experimentom, kedy bolo možné zvýšením teploty kapiláry detekovať aj vysokomolekulové signály m/z : 56, 100 a 126.

6 ZÁVER

V tejto práci bol vyvinutý nový analytický prístup ku kvalitatívnej a kvantitatívnej analýze PLA mikroplastov v pevných matriciach využitím analýzy uvoľnených plynov pomocou systému TGA-MS. Tento prístup k analýze mikroplastov sa preukázal ako zaujímavá alternatíva k doposiaľ používaným analytickým technikám. A to najmä vďaka jeho jednoduchosti, relatívne nízkym nákladom a vďaka tomu, že nevyžaduje predúpravy vzorkou. Ďalšou výhodou tejto metódy je, že môže poskytnúť lepšie porozumenie degradačných procesov PLA, ktoré prebiehajú počas pyrolýzy tohto materiálu.

Ďalej bolo dokázané, že teplota kapiláry ovplyvňuje výsledky analýzy a to najmä v tom aké produkty sa dostávajú na detektor v MS a že k analýze PLA je možné využiť aj nízkomolekulárne signály m/z a nie len vysokomolekulárne, ktoré boli doteraz využívané v mnohých literatúrach [147, 150, 153].

Napriek úspešnosti experimentov, ktoré prebehli v rámci tejto práce je potrebné do budúcnosti overiť predpoklad, že spôsob tento spôsob analýzy je skutočne univerzálny pre všetky pôdy a kali. To si vyžaduje rozsiahlejší výskum, než aký sme boli schopní spraviť v rámci tejto diplomovej práce.

Ďalej je potrebné zistiť čo sa stane s PLA keď bude v kale a pôde dlhšiu dobu a čo sa stane ak PLA prejde celým procesom biodegradácie na ČOV.

7 ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

- [1] Plastics - the Facts 2017. In: *PlasticEurope* [online]. 2017, s. 1-44 [cit. 2020-04-30]. Dostupné z: <https://www.plasticseurope.org/en/resources/publications/274-plastics-facts-2017>
- [2] JAMBECK, Jenna R, Roland GEYER, Chris WILCOX, et al. Marine pollution. Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science (New York, N.Y.)* [online]. 2015, **347**(6223), 768-771 [cit. 2020-04-27]. DOI: 10.1126/science.1260352. ISSN 00368075. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/1655522255/>
- [3] SONG, J H, R J MURPHY, R NARAYAN, G B H DAVIES a J H SONG. Biodegradable and compostable alternatives to conventional plastics. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* [online]. 2009, **364**(1526), 2127-2139 [cit. 2020-02-14]. DOI: 10.1098/rstb.2008.0289. ISSN 09628436. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/67387337/>
- [4] ASHTER, Syed Ali. *Introduction to Bioplastics Engineering*. Elsevier Science, 2016. ISBN 9780323393966.
- [5] Biologicky rozložiteľné plasty a bioplasty: Mýty, sny a skutočnosť. *Vesmír* [online]. 2019, **68**(691) [cit. 2020-04-30]. Dostupné z: <https://vesmir.cz/cz/casopis/archiv-casopisu/2019/cislo-12/biologicky-rozlozitelne-plasty-bioplasty.html>
- [6] A.R, Rahmat a Rahman W.A.W.A. Overview of Poly(Lactic Acid). *Poly(lactic Acid) - PLA Biopolymer Technology and Applications*. Elsevier, 2012, s. 1-1. ISBN 9781437744590. Dostupné také z: [https://app.knovel.com/hotlink/pdf/rcid:kpPAPLABT1/id:kt00BKIFC1/poly\(lactic-acid\)-pla-biopolymer/overview-poly-lactic?kpromoter=Summon](https://app.knovel.com/hotlink/pdf/rcid:kpPAPLABT1/id:kt00BKIFC1/poly(lactic-acid)-pla-biopolymer/overview-poly-lactic?kpromoter=Summon)
- [7] AVÉROUS, Luc. Biodegradable Multiphase Systems Based on Plasticized Starch: A Review. *Journal of Macromolecular Science, Part C* [online]. Taylor & Francis Group, 2004, **44**(3), 231-274 [cit. 2020-02-10]. DOI: 10.1081/MC-200029326. ISSN 1532-1797. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1081/MC-200029326>
- [8] CHANDRA, R a Renu RUSTGI. Biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science* [online]. Elsevier, 1998, **23**(7), 1273-1335 [cit. 2020-02-13]. DOI: 10.1016/S0079-6700(97)00039-7. ISSN 0079-6700.
- [9] ROY, Ipsita. Biodegradable Polymers. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* [online]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 2010, **85**(6), 731-731 [cit. 2020-04-15]. DOI: 10.1002/jctb.2420. ISSN 0268-2575.
- [10] JAMSHIDIAN, Majid, Elmira Arab TEHRANY, Muhammad IMRAN, Muriel JACQUOT a Stéphane DESOBRY. Poly-Lactic Acid: Production, Applications, Nanocomposites, and Release Studies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. Malden, USA: Blackwell Publishing, 2010, **9**(5), 552-571 [cit. 2020-04-30]. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2010.00126.x. ISSN 1541-4337.
- [11] REHM, Bernd H. Bacterial polymers: biosynthesis, modifications and applications. *Nature Reviews. Microbiology* [online]. London: Nature Publishing Group, 2010, **8**(8), 578-92 [cit. 2020-04-15]. DOI: 10.1038/nrmicro2354. ISSN 17401526. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/612664929/>
- [12] DOS SANTOS, Antonio José, Luiz Veriano Oliveira DALLA VALENTINA, Andrey Alayo Hidalgo SCHULZ a Márcia Adriana Tomaz DUARTE. From Obtaining to Degradation

of PHB: A Literature Review. Part II. *Ingeniería y ciencia* [online]. 2018, (27), 207-228 [cit. 2020-04-15]. ISSN 1794-9165. Dostupné z: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/oaiart?codigo=6554525>

[13] ARTSIS, M. I, A. P BONARTSEV, A. L IORDANSKII, G. A BONARTSEVA a G. E ZAIKOV. Biodegradation and Medical Application of Microbial Poly(3-Hydroxybutyrate). *Molecular Crystals and Liquid Crystals: Proceedings of the 11th International Conference on Frontiers of Polymers and Advanced Materials (ICFPAM 2011)* [online]. Taylor & Francis Group, 2012, **555**(1), 232-262 [cit. 2020-04-15]. DOI: 10.1080/15421406.2012.635549. ISSN 1542-1406. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15421406.2012.635549>

[14] Poly[(R)-3-hydroxybutyric acid]. In: *MERCK* [online]. [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/363502?lang=en&ion=SK>

[15] RODRIGUES, Bruno V.M, Aline S SILVA, Gabriela F.S MELO, Luana M.R VASCONCELLOS, Fernanda R MARCIANO a Anderson O LOBO. Influence of low contents of superhydrophilic MWCNT on the properties and cell viability of electrospun poly (butylene adipate-co-terephthalate) fibers. *Materials Science & Engineering C* [online]. Elsevier B.V, 2016, **59**, 782-791 [cit. 2020-04-15]. DOI: 10.1016/j.msec.2015.10.075. ISSN 0928-4931.

[16] FERREIRA, F. V., I. F. PINHEIRO, R. F. GOUVEIA, G. P. THIM a L. M. F. LONA. Functionalized cellulose nanocrystals as reinforcement in biodegradable polymer nanocomposites. *Polymer Composites* [online]. 2018, **39**(S1), E9-E29 [cit. 2020-04-15]. DOI: 10.1002/pc.24583. ISSN 0272-8397.

[17] RAJA, V, R NATESAN a T THIYAGU. Preparation and Mechanical Properties of Poly (butylene adipate-co-terephthalate) Polyvinyl Alcohol/SiO₂ Nanocomposite Films for Packaging Applications. *Journal Of Polymer Materials* [online]. PRINTS PUBLICATIONS PVT, 2015, **32**(1), 93-101 [cit. 2020-04-15]. ISSN 0973-8622.

[18] Polybutylene Succinate. In: *Ishanee's blog* [online]. 2019 [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: <https://ishaneesharma.home.blog/2019/05/14/types-of-biodegradable-plastics/>

[19] ALI, Fathilah Binti a Raja MOHAN. Thermal, mechanical, and rheological properties of biodegradable polybutylene succinate/carbon nanotubes nanocomposites. *Polymer Composites* [online]. Hoboken: Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 2010, **31**(8), 1309-1314 [cit. 2020-04-16]. DOI: 10.1002/pc.20913. ISSN 0272-8397.

[20] LIM, S.T., Y.H. HYUN, H.J. CHOI a M.S. JHON. Synthetic biodegradable aliphatic polyester/montmorillonite nanocomposites. *Chemistry of Materials* [online]. 2002, **14**(4), 1839-1844 [cit. 2020-04-16]. DOI: 10.1021/cm010377j. ISSN 08974756.

[21] WOODRUFF, Maria Ann a Dietmar Werner HUTMACHER. The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. *Progress in Polymer Science* [online]. Elsevier, 2010, **35**(10), 1217-1256 [cit. 2020-04-16]. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002. ISSN 0079-6700.

[22] TEMTEM, Márcio, Teresa CASIMIRO, João F MANO a Ana AGUIAR-RICARDO. Preparation of membranes with polysulfone/polycaprolactone blends using a high pressure cell specially designed for a CO₂-assisted phase inversion. *The Journal of Supercritical Fluids* [online]. Elsevier B.V, 2008, **43**(3), 542-548 [cit. 2020-04-16]. DOI: 10.1016/j.supflu.2007.07.012. ISSN 0896-8446.

- [23] CHEN, Tt, Tj CAI, Q JIN a J JI. Design and fabrication of functional polycaprolactone. *E-Polymers* [online]. WALTER DE GRUYTER, 2015, **15**(1), 3-13 [cit. 2020-04-16]. DOI: 10.1515/epoly-2014-0158. ISSN 1618-7229.
- [24] Polycaprolactone, MW 25000. In: *Polysciences, chemistry beyond the ordinary* [online]. 2020 [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: <https://www.polysciences.com/default/catalog-products/monomers-polymers/polymers/biodegradable-polymers/polycaprolactone/polycaprolactone-mw-25000/>
- [25] DORGAN, John, Hans LEHERMEIER a Michael MANG. Thermal and Rheological Properties of Commercial-Grade Poly(Lactic Acid)s. *Journal of Polymers and the Environment* [online]. New York: Kluwer Academic Publishers-Plenum Publishers, 2000, **8**(1), 1-9 [cit. 2020-04-15]. DOI: 10.1023/A:1010185910301. ISSN 1566-2543.
- [26] VINK, Erwin T.H, Karl R RÁBAGO, David A GLASSNER a Patrick R GRUBER. Applications of life cycle assessment to NatureWorks™ polylactide (PLA) production. *Polymer Degradation and Stability* [online]. Elsevier, 2003, **80**(3), 403-419 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1016/S0141-3910(02)00372-5. ISSN 0141-3910.
- [27] SIN, Lee Tin. *Polylactic Acid: PLA Biopolymer Technology and Applications*. Elsevier Science, 2012. DOI: 10.1016/C2010-0-65966-9. ISBN 9781437744590.
- [28] VINK, E.T.H., K.R. RÁBAGO, D.A. GLASSNER, B. SPRINGS, R.P. O'CONNOR, J. KOLSTAD a P.R. GRUBER. The sustainability of nature works™ polylactide polymers and ingeo™ polylactide fibers: An update of the future. Initiated by the 1 st International Conference on Bio-based Polymers (ICBP 2003), November 12-14 2003, Saitama, Japan. *Macromolecular Bioscience* [online]. 2004, **4**(6), 551-564 [cit. 2020-02-13]. DOI: 10.1002/mabi.200400023. ISSN 16165187.
- [29] KARAMANLIOGLU, Mehlika, Richard PREZIOSI a Geoffrey D ROBSON. Abiotic and biotic environmental degradation of the bioplastic polymer poly(lactic acid): A review. *Polymer Degradation and Stability* [online]. Elsevier, 2017, **137**, 122-130 [cit. 2020-02-13]. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2017.01.009. ISSN 0141-3910.
- [30] VINK, Erwin T.H, Karl R RÁBAGO, David A GLASSNER a Patrick R GRUBER. Applications of life cycle assessment to NatureWorks™ polylactide (PLA) production. *Polymer Degradation and Stability* [online]. Elsevier, 2003, **80**(3), 403-419 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1016/S0141-3910(02)00372-5. ISSN 0141-3910.
- [31] KLUPPEL, H.-J. ISO 14041: Environmental management - Life cycle assessment goal and scope definition - Inventory analysis. Editorial. *International Journal of Life Cycle Assessment* [online]. Springer Verlag, 1998, **3**(6), 301 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1007/BF02979337. ISSN 09483349.
- [32] LECOULS, Henri. ISO 14043: Environmental management · life cycle assessment · life cycle interpretation. *The International Journal of Life Cycle Assessment* [online]. Dordrecht: Springer Nature B.V, 1999, **4**(5), 245 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1007/BF02979166. ISSN 09483349. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/663046692/>
- [33] GROOT, Wim a Tobias BOREN. Life cycle assessment of the manufacture of lactide and PLA biopolymers from sugarcane in Thailand. *The International Journal of Life Cycle Assessment* [online]. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, 2010, **15**(9), 970-984 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1007/s11367-010-0225-y. ISSN 0948-3349.
- [34] Life Cycle Inventory and Impact Assessment Data for 2014 Ingeo™ Polylactide

Production. *Industrial Biotechnology* [online]. 2015, **11**(3) [cit. 2020-04-30]. Dostupné z: <https://www.liebertpub.com/doi/full/10.1089/ind.2015.0003>

[35] COSATE DE ANDRADE, Marina, Patrícia SOUZA, Otávio CAVALETT a Ana MORALES. Life Cycle Assessment of Poly(Lactic Acid) (PLA): Comparison Between Chemical Recycling, Mechanical Recycling and Composting. *Journal of Polymers and the Environment* [online]. New York: Springer US, 2016, **24**(4), 372-384 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1007/s10924-016-0787-2. ISSN 1566-2543.

[36] KRÜGER, Martin. Life Cycle Assessment of food packaging made of Ingeo™ biopolymer and (r)PET. In: *Addendum to the LCA study on food packaging made of NatureWorks® biopolymer and alternative materials [2006]* [online]. D-69120 Heidelberg, 2009, s. 1-40 [cit. 2020-04-30]. Dostupné z: https://www.natureworkslc.com/~media/Files/NatureWorks/What-is-Ingeo/Why-it-Matters/LCA/IFEU_LCA__Ingeo_Full_Report_012709_FINAL.pdf.pdf?la=en

[37] PAPONG, Seksan, Pomthong MALAKUL, Ruethai TRUNGKAVASHIRAKUN, Pechda WENUNUN, Tassaneewan CHOM-IN, Manit NITHITANAKUL a Ed SAROBOL. Comparative assessment of the environmental profile of PLA and PET drinking water bottles from a life cycle perspective. *Journal of Cleaner Production* [online]. Elsevier, 2014, **65**, 539-550 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1016/j.jclepro.2013.09.030. ISSN 0959-6526.

[38] ROSSI, Vincent, Nina CLEEVE-EDWARDS, Lars LUNDQUIST, Urs SCHENKER, Carole DUBOIS, Sebastien HUMBERT a Olivier JOLLIET. Life cycle assessment of end-of-life options for two biodegradable packaging materials: sound application of the European waste hierarchy. *Journal of Cleaner Production* [online]. Elsevier, 2015, **86**, 132-145 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1016/j.jclepro.2014.08.049. ISSN 0959-6526.

[39] PIEMONTE, V., S. SABATINI a F. GIRONI. Chemical Recycling of PLA: A Great Opportunity Towards the Sustainable Development? *Journal of Polymers and the Environment* [online]. Boston: Springer US, 2013, **21**(3), 640-647 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1007/s10924-013-0608-9. ISSN 1566-2543.

[40] *New biodegradable material square bottom packaging bags for coffee bean packing.* [online]. In: . [cit. 2020-04-14]. Dostupné z: <https://www.oempackagingbag.com/new-biodegradable-material-square-bottom-packaging-bags-for-coffee-bean-packing.html>

[41] KULKARNI, R K, K C PANI, C NEUMAN a F LEONARD. WALTER REED ARMY MEDICAL CENTER WASHINGTON DC ARMY MEDICAL BIOMECHANICAL RESEARCH LAB. *POLYLACTIC ACID FOR SURGICAL IMPLANTS*. 1966. Dostupné také z: <http://www.dtic.mil/docs/citations/AD0636716>

[42] VERT, M, G SCHWARCH a J COUDANE. Present and Future of PLA Polymers. *Journal of Macromolecular Science, Part A* [online]. Taylor & Francis Group, 1995, **32**(4), 787-796 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1080/10601329508010289. ISSN 1060-1325. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10601329508010289>

[43] WEE, Yj, Jn KIM a Hw RYU. Biotechnological production of lactic acid and its recent applications. *Food Technology And Biotechnology* [online]. FACULTY FOOD TECHNOLOGY BIOTECHNOLOGY, 2006, **44**(2), 163-172 [cit. 2020-04-14]. ISSN 1330-9862.

[44] MADHAVAN NAMPOOTHIRI, K, Nimisha Rajendran NAIR a Rojan Pappy JOHN. An

overview of the recent developments in polylactide (PLA) research. *Bioresource Technology* [online]. Elsevier, 2010, **101**(22), 8493-8501 [cit. 2020-04-30]. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.05.092. ISSN 0960-8524.

[45] STEINBÜCHEL, A a Y DOI. *Biopolymers. Volume 4, Polyesters III: applications and commercial products*. Weinheim: Wiley-VCH, 2002, 398 s. ISBN 3-527-30225-5.

[46] WOLF, Oliver, Manuela CRANK, Martin PATEL, Frank MARSCHEIDER-WEIDEMANN, Joachim SCHLEICH, Bärbel HÜSING a Gerhard ANGERER. *Techno-economic feasibility of large-scale production of bio-based polymers in Europe*. Luxembourg: Publications Office, 2005. ISBN 9279012304. ISSN 1018-5593. Dostupné také z: <http://bookshop.europa.eu/uri?target=EUB:NOTICE:LFNA22103:EN:HTML>

[47] Use of low MW polylactic acid and lactide to stimulate growth and yield of soybeans. *Plant Growth Regulation* [online]. 1996, **19**, 223-232 [cit. 2020-04-30]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00037795>.

[48] GROSS, Richard A, Bhanu KALRA a Richard A GROSS. Biodegradable polymers for the environment. *Science (New York, N.Y.)* [online]. 2002, **297**(5582), 803-807 [cit. 2020-04-16]. DOI: 10.1126/science.297.5582.803. ISSN 00368075. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/71982059/>

[49] PATHAK, Vinay a Vinay NAVNEET. Review on the current status of polymer degradation: a microbial approach. *Bioresources and Bioprocessing* [online]. Berlin/Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2017, **4**(1), 1-31 [cit. 2020-04-16]. DOI: 10.1186/s40643-017-0145-9.

[50] Microbial degradation of plastic: a review. © *Biochemical Technology Society* [online]. , 1-10 [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: <https://jbiochemtech.com/storage/models/article/RLVOybv0ejQcKcpQrrJRX6AaXOgj4YN8AcbTDS2FzqLBjMD84buciQL8J332/microbial-degradation-of-plastic-a-review.pdf>

[51] DAVID, C, C DEKESEL, F LEFEBVRE a M WEILAND. THE BIODEGRADATION OF POLYMERS - RECENT RESULTS. *Angewandte Makromolekulare Chemie* [online]. HUTHIG & WEPF VERLAG, 1994, **216**, 21-35 [cit. 2020-04-16]. ISSN 0003-3146.

[52] Degradation of polylactic acid (PLA) plastic in Costa Rican soil and Iowa State University compost rows. *Journal of Environmental Polymer Degradation* [online]. 1999, **7**(4), 173-177 [cit. 2020-02-18]. Dostupné z: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-0033294963&origin=inward&txGid=c8447bf8d99ba9558dd4a567c88ce74f>

[53] DRUMRIGHT, R. E., P. R. GRUBER a D. E. HENTON. Polylactic Acid Technology. *Advanced Materials* [online]. Weinheim: WILEY-VCH Verlag, 2000, **12**(23), 1841-1846 [cit. 2020-02-13]. DOI: 10.1002/1521-4095(200012)12:23<1841::AID-ADMA1841>3.0.CO;2-E. ISSN 0935-9648.

[54] HÖGLUND, Anders, Karin ODELIUS, Ann-christine ALBERTSSON a Anders HÖGLUND. Crucial differences in the hydrolytic degradation between industrial polylactide and laboratory-scale poly(L-lactide). *ACS applied materials & interfaces* [online]. 2012, **4**(5), 2788-2793 [cit. 2020-02-14]. DOI: 10.1021/am300438k. ISSN 19448244. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/1015755139/>

[55] RUDNIK, E a D BRIASSOULIS. Degradation behaviour of poly(lactic acid) films and fibres in soil under Mediterranean field conditions and laboratory simulations

testing. *Industrial Crops & Products* [online]. Elsevier B.V, 2011, **33**(3), 648-658 [cit. 2020-02-14]. DOI: 10.1016/j.indcrop.2010.12.031. ISSN 0926-6690.

[56] OHKITA, Tsutomu a Seung-hwan LEE. Thermal degradation and biodegradability of poly (lactic acid)/corn starch biocomposites. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. Hoboken: Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 2006, **100**(4), 3009-3017 [cit. 2020-02-14]. DOI: 10.1002/app.23425. ISSN 0021-8995.

[57] KAMIYA, M., S. ASAKAWA a M. KIMURA. Molecular analysis of fungal communities of biodegradable plastics in two Japanese soils. *Soil Science and Plant Nutrition* [online]. 2007, (5), 568-574 [cit. 2020-02-14]. ISSN 0038-0768.

[58] SHOGREN, R.L, W.M DOANE, D GARLOTTA, J.W LAWTON a J.L WILLETT. Biodegradation of starch/polylactic acid/poly(hydroxyester-ether) composite bars in soil. *Polymer Degradation and Stability* [online]. Elsevier, 2003, **79**(3), 405-411 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1016/S0141-3910(02)00356-7. ISSN 0141-3910.

[59] URAYAMA, Hiroshi, Takeshi KANAMORI a Yoshiharu KIMURA. Properties and Biodegradability of Polymer Blends of Poly(L -lactide)s with Different Optical Purity of the Lactate Units. *Macromolecular Materials and Engineering* [online]. Weinheim: WILEY-VCH Verlag, 2002, **287**(2), 116-121 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1002/1439-2054(20020201)287:2<116::AID-MAME116>3.0.CO;2-Z. ISSN 1438-7492.

[60] GALLET, G, R LEMPIÄINEN a S KARLSSON. Characterisation by solid phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry of matrix changes of poly(l-lactide) exposed to outdoor soil environment. *Polymer Degradation and Stability* [online]. Elsevier, 2000, **71**(1), 147-151 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1016/S0141-3910(00)00165-8. ISSN 0141-3910.

[61] SARASA, Judith, Jose M GRACIA a Carlos JAVIERRE. Study of the biodisintegration of a bioplastic material waste. *Bioresource Technology* [online]. Elsevier, 2009, **100**(15), 3764-3768 [cit. 2020-02-14]. DOI: 10.1016/j.biortech.2008.11.049. ISSN 0960-8524.

[62] AHN, H.K, M.S HUDA, M.C SMITH, W MULBRY, W.F SCHMIDT a J.B REEVES. Biodegradability of injection molded bioplastic pots containing polylactic acid and poultry feather fiber. *Bioresource Technology* [online]. Elsevier, 2011, **102**(7), 4930-4933 [cit. 2020-02-14]. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.01.042. ISSN 0960-8524.

[63] KALE, Gaurav, Rafael AURAS a Sher Paul SINGH. Comparison of the degradability of poly(lactide) packages in composting and ambient exposure conditions. *Packaging Technology and Science* [online]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 2007, **20**(1), 49-70 [cit. 2020-02-14]. DOI: 10.1002/pts.742. ISSN 0894-3214.

[64] ITÄVAARA, Merja, Sari KARJOMAA a Johan-fredrik SELIN. Biodegradation of polylactide in aerobic and anaerobic thermophilic conditions. *Chemosphere* [online]. Elsevier, 2002, **46**(6), 879-885 [cit. 2020-02-14]. DOI: 10.1016/S0045-6535(01)00163-1. ISSN 0045-6535.

[65] TSUJI, Hideto a Kaori SUZUYOSHI. Environmental degradation of biodegradable polyesters 2. Poly(ϵ -caprolactone), poly[(R)-3-hydroxybutyrate], and poly(L-lactide) films in natural dynamic seawater. *Polymer Degradation and Stability* [online]. Elsevier, 2002, **75**(2), 357-365 [cit. 2020-02-14]. DOI: 10.1016/S0141-3910(01)00239-7. ISSN 0141-3910.

[66] TSUJI, Hideto a Kaori SUZUYOSHI. Environmental degradation of biodegradable polyesters. IV. The effects of pores and surface hydrophilicity on the biodegradation of

poly(ϵ -caprolactone) and poly[(R)-3-hydroxybutyrate] films in controlled seawater. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. Hoboken: Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 2003, **90**(2), 587-593 [cit. 2020-02-14]. DOI: 10.1002/app.12781. ISSN 0021-8995.

[67] LE DUGOU, A, P DAVIES a C BAILEY. Seawater ageing of flax/poly(lactic acid) biocomposites. *Polymer Degradation and Stability* [online]. Elsevier, 2009, **94**(7), 1151-1162 [cit. 2020-02-14]. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2009.03.025. ISSN 0141-3910.

[68] SHIMAO, Masayuki. Biodegradation of plastics. *Current Opinion in Biotechnology* [online]. Elsevier, 2001, **12**(3), 242-247 [cit. 2020-02-14]. DOI: 10.1016/S0958-1669(00)00206-8. ISSN 0958-1669.

[69] AGARWAL, Mukul, Kurt W. KOELLING a Jeffrey J. CHALMERS. Characterization of the Degradation of Polylactic Acid Polymer in a Solid Substrate Environment. *Biotechnology Progress* [online]. USA: American Chemical Society, 1998, **14**(3), 517-526 [cit. 2020-02-14]. DOI: 10.1021/bp980015p. ISSN 8756-7938.

[70] SOROUDI, Azadeh a Ignacy JAKUBOWICZ. Recycling of bioplastics, their blends and biocomposites: A review. *European Polymer Journal* [online]. Elsevier, 2013, **49**(10), 2839-2858 [cit. 2020-02-18]. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2013.07.025. ISSN 0014-3057.

[71] ŻENKIEWICZ, Marian, Józef RICHERT, Piotr RYTLEWSKI, Krzysztof MORACZEWSKI, Magdalena STEPCZYŃSKA a Tomasz KARASIEWICZ. Characterisation of multi-extruded poly(lactic acid). *Polymer Testing* [online]. Elsevier, 2009, **28**(4), 412-418 [cit. 2020-02-18]. DOI: 10.1016/j.polymertesting.2009.01.012. ISSN 0142-9418.

[72] PILLIN, Isabelle, Nicolas MONTRELAY, Alain BOURMAUD a Yves GROHENS. Effect of thermo-mechanical cycles on the physico-chemical properties of poly(lactic acid). *Polymer Degradation and Stability* [online]. Elsevier, 2008, **93**(2), 321-328 [cit. 2020-02-18]. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2007.12.005. ISSN 0141-3910.

[73] BADIA, J.D, L SANTONJA-BLASCO, A MARTÍNEZ-FELIPE a A RIBES-GREUS. Hygrothermal ageing of reprocessed polylactide. *Polymer Degradation and Stability* [online]. Elsevier, 2012, **97**(10), 1881-1890 [cit. 2020-02-18]. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2012.06.001. ISSN 0141-3910.

[74] SÖDERGÅRD, Anders a Mikael STOLT. Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition. *Progress in Polymer Science* [online]. Elsevier, 2002, **27**(6), 1123-1163 [cit. 2020-02-18]. DOI: 10.1016/S0079-6700(02)00012-6. ISSN 0079-6700.

[75] SAEKI, T, H TSUJI, H DAIMON a K FUJIE. Recycling Of Poly Lactic Acid Into Lactic Acid With High Temperature And High Pressure Water. *WIT Transactions on Ecology and the Environment* [online]. Southampton: W I T Press, 2006, **92** [cit. 2020-02-18]. DOI: 10.2495/WM060251. ISBN 1845641736. ISSN 1746-448X. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/2261170770/>

[76] FENDALL, Lisa S a Mary A SEWELL. Contributing to marine pollution by washing your face: Microplastics in facial cleansers. *Marine Pollution Bulletin* [online]. Elsevier, 2009, **58**(8), 1225-1228 [cit. 2020-02-16]. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2009.04.025. ISSN 0025-326X.

[77] MOORE, Charles James. Synthetic polymers in the marine environment: A rapidly

increasing, long-term threat. *Environmental Research* [online]. Elsevier, 2008, **108**(2), 131-139 [cit. 2020-02-16]. DOI: 10.1016/j.envres.2008.07.025. ISSN 0013-9351.

[78] Arthur, C., Baker, J., and Bamford, H., , 2009. Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects and Fate of Micro-plastic Marine Debris, Sept 9-11, 2008. NOAA Technical Memorandum NOS-ORR-30. Dostupné z: <https://pdfs.semanticscholar.org/7f8c/9dd6437a34f96812836c66ca83d69f7ea9eb.pdf>

[79] O'DONNELL, Bridget a Eunah LEE. Characterizing Microplastic Fibers Using Raman Spectroscopy. *Spectroscopy* [online]. Monmouth Junction: MultiMedia Healthcare, 2019, **34**(s6), 32-40 [cit. 2020-02-16]. ISSN 08876703. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/2248181895/>

[80] JAIKUMAR, Gayathri, Nadja R BRUN, Martina G VIJVER a Thijs BOSKER. Reproductive toxicity of primary and secondary microplastics to three cladocerans during chronic exposure. *Environmental Pollution* [online]. Elsevier, 2019, **249**, 638-646 [cit. 2020-02-16]. DOI: 10.1016/j.envpol.2019.03.085. ISSN 0269-7491.

[81] IVAR DO SUL, Juliana A a Monica F COSTA. The present and future of microplastic pollution in the marine environment. *Environmental Pollution* [online]. Elsevier, 2014, **185**, 352-364 [cit. 2020-02-16]. DOI: 10.1016/j.envpol.2013.10.036. ISSN 0269-7491.

[82] ANDRADY, Anthony L. Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin* [online]. Elsevier, 2011, **62**(8), 1596-1605 [cit. 2020-02-16]. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2011.05.030. ISSN 0025-326X.

[83] ADHIKARI, Dinesh. Degradation of Bioplastics in Soil and Their Degradation Effects on Environmental Microorganisms. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment* [online]. 2016, **5**(1), 1-12 [cit. 2020-02-18]. Dostupné z: https://www.scirp.org/html/3-2750175_64039.htm

[84] CHEUNG, Pui Kwan a Lincoln FOK. Characterisation of plastic microbeads in facial scrubs and their estimated emissions in Mainland China. *Water Research* [online]. Elsevier, 2017, **122**, 53-61 [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.1016/j.watres.2017.05.053. ISSN 0043-1354.

[85] SUNDT, Peter, Per-Erik SCHULZE a Frode SYVERSEN. *Sources of microplastics-pollution to the marine environmnet* [online]. In: . s. 1-86 [cit. 2020-04-10]. Dostupné z: <https://www.miljodirektoratet.no/globalassets/publikasjoner/M321/M321.pdf>

[86] WANG, Teng, Baojie LI, Xinqing ZOU, et al. Emission of primary microplastics in mainland China: Invisible but not negligible. *Water Research* [online]. Elsevier, 2019, **162**, 214-224 [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.1016/j.watres.2019.06.042. ISSN 0043-1354.

[87] KOLE, Pieter Jan, Ansje J. LÖHR, Frank G. A. J. VAN BELLEGHEM, Ad M. J. RAGAS a Department SCIENCE. Wear and Tear of Tyres: A Stealthy Source of Microplastics in the Environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. 2017, **14**(10) [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.3390/ijerph14101265. ISSN 1660-4601.

[88] BOUCHER, Julien a Damien FRIOT. *Primary Microplastics in the Oceans: a Global Evaluation of Sources* [online]. In: . IUCN, Gland, Switzerland, 2014, s. 1-46 [cit. 2020-04-10]. DOI: [dx.doi.org/10.2305/IUCN.CH.2017.01.en](https://doi.org/10.2305/IUCN.CH.2017.01.en). ISBN 978-2-8317-1827-9.

[89] FENDALL, Lisa S a Mary A SEWELL. Contributing to marine pollution by washing your face: Microplastics in facial cleansers. *Marine Pollution Bulletin* [online]. Elsevier,

2009, **58**(8), 1225-1228 [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2009.04.025. ISSN 0025-326X.

[90] GOUIN, Todd, Nicola ROCHE, Rainer LOHMANN, Geoff HODGES a Todd GOUIN. A thermodynamic approach for assessing the environmental exposure of chemicals absorbed to microplastic. *Environmental science & technology* [online]. 2011, **45**(4), 1466-1472 [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.1021/es1032025. ISSN 0013936X. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/1323279682/>

[91] HOH, Eunha, Hideshige TAKADA a Swee TEH. Policy: Classify plastic waste as hazardous. *Nature* [online]. Nature Publishing Group, 2013, **494**(7436), 169 [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.1038/494169a. ISSN 0028-0836.

[92] DAMSTEEG, Jan-willem, Boyan SLAT, Anthony ANDRADY a Julia REISSER. River plastic emissions to the world's oceans. *Nature Communications* [online]. Nature Publishing Group, 2017, **8**(1) [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.1038/ncomms15611. ISSN 2041-1723.

[93] EFIMOVA, Irina, Margarita BAGAEVA, Andrei BAGAEV, Alexander KILESO a Irina P. CHUBARENKO. Secondary Microplastics Generation in the Sea Swash Zone With Coarse Bottom Sediments: Laboratory Experiments. *Frontiers in Marine Science* [online]. Frontiers Research Foundation, 2018, **5** [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.3389/fmars.2018.00313. ISSN 2296-7745.

[94] ANDRADY, Anthony L. Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin* [online]. Elsevier, 2011, **62**(8), 1596-1605 [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2011.05.030. ISSN 0025-326X.

[95] DUIS, Karen a Anja COORS. Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. *Environmental Sciences Europe* [online]. Berlin/Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2016, **28**(1), 1-25 [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.1186/s12302-015-0069-y. ISSN 2190-4707.

[96] HE, Defu, Yongming LUO, Shibo LU, Mengting LIU, Yang SONG a Lili LEI. Microplastics in soils: Analytical methods, pollution characteristics and ecological risks. *Trends in Analytical Chemistry* [online]. Elsevier B.V, 2018, **109**, 163-172 [cit. 2020-02-27]. DOI: 10.1016/j.trac.2018.10.006. ISSN 0165-9936.

[97] EERKES-MEDRANO, Dafne, Richard C THOMPSON a David C ALDRIDGE. Microplastics in freshwater systems: A review of the emerging threats, identification of knowledge gaps and prioritisation of research needs. *Water Research* [online]. Elsevier, 2015, **75**, 63-82 [cit. 2020-02-16]. DOI: 10.1016/j.watres.2015.02.012. ISSN 0043-1354.

[98] SOUZA MACHADO, Anderson Abel, Werner KLOAS, Christiane ZARFL, Stefan HEMPEL a Matthias C. RILLIG. Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems. *Global Change Biology* [online]. 2018, **24**(4), 1405-1416 [cit. 2020-02-16]. DOI: 10.1111/gcb.14020. ISSN 1354-1013.

[99] LEI, Lili, Siyu WU, Shibo LU, et al. Microplastic particles cause intestinal damage and other adverse effects in zebrafish *Danio rerio* and nematode *Caenorhabditis elegans*. *Science of the Total Environment* [online]. Elsevier B.V, 2018, **619-620**, 1-8 [cit. 2020-02-16]. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.11.103. ISSN 0048-9697.

[100] COLE, Matthew, Pennie LINDEQUE, Elaine FILEMAN, Claudia HALSBAND, Tamara S GALLOWAY a Matthew COLE. The impact of polystyrene microplastics on feeding, function and fecundity in the marine copepod *Calanus helgolandicus*. *Environmental*

science & technology [online]. 2015, **49**(2), 1130-1137 [cit. 2020-02-16]. DOI: 10.1021/es504525u. ISSN 0013936X. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/1680177974/>.

[101] HUERTA LWANGA, Esperanza, H.F. GERTSEN, H. GOOREN, et al. Microplastics in the terrestrial ecosystem: Implications for *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta, Lumbricidae). *Environmental Science and Technology* [online]. 2016, **50**(5), 2685-2691 [cit. 2020-02-16]. DOI: 10.1021/acs.est.5b05478. ISSN 0013-936x.

[102] ZHU, Dong, Qing-lin CHEN, Xin-li AN, Xiao-ru YANG, Peter CHRISTIE, Xin KE, Long-hua WU a Yong-guan ZHU. Exposure of soil collembolans to microplastics perturbs their gut microbiota and alters their isotopic composition. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. Elsevier, 2018, **116**, 302-310 [cit. 2020-02-16]. DOI: 10.1016/j.soilbio.2017.10.027. ISSN 0038-0717.

[103] LAMBERT, Scott a Martin WAGNER. Formation of microscopic particles during the degradation of different polymers. *Chemosphere* [online]. Elsevier, 2016, **161**, 510-517 [cit. 2020-02-16]. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.07.042. ISSN 0045-6535.

[104] GREEN, Dannielle Senga. Effects of microplastics on European flat oysters, *Ostrea edulis* and their associated benthic communities. *Environmental Pollution* [online]. Elsevier, 2016, **216**, 95-103 [cit. 2020-02-16]. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.05.043. ISSN 0269-7491.

[105] GREEN, Dannielle Senga. Effects of conventional and biodegradable microplastics on a marine ecosystem engineer (*Arenicola marina*) and sediment nutrient cycling. *Environmental Pollution* [online]. 2016, **208**(Part B), 426-434 [cit. 2020-02-16]. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0269749115301147#!>

[106] QI, Yueling, Xiaomei YANG, Amalia Mejia PELAEZ, Esperanza HUERTA LWANGA, Nicolas BERIOT, Henny GERTSEN, Paolina GARBEVA a Violette GEISSEN. Macro- and micro- plastics in soil-plant system: Effects of plastic mulch film residues on wheat (*Triticum aestivum*) growth. *Science of the Total Environment* [online]. Elsevier B.V, 2018, **645**, 1048-1056 [cit. 2020-02-27]. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.07.229. ISSN 0048-9697.

[107] Impact of the degradation of plastics called "biodegradable" on soil ecology, by monitoring of Nitrifying Activity and Respirometry. *RITMO Agroenvironnement* [online]. 2011, , 1-2 [cit. 2018-05-06]. Dostupné z: http://www.rittmo.com/IMG/pdf/resume_ThierryPlumere_EdouardEscot.pdf

[108] BLÄSING, Melanie a Wulf AMELUNG. Plastics in soil: Analytical methods and possible sources. *Science of the Total Environment* [online]. Elsevier B.V, 2018, **612**, 422-435 [cit. 2020-04-20]. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.08.086. ISSN 0048-9697.

[109] DRIS, Rachid, Johnny GASPERI, Mohamed SAAD, Cécile MIRANDE a Bruno TASSIN. Synthetic fibers in atmospheric fallout: A source of microplastics in the environment? *Marine Pollution Bulletin* [online]. Elsevier, 2016, **104**(1-2), 290-293 [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2016.01.006. ISSN 0025-326X.

[110] STEINMETZ, Zacharias, Claudia WOLLMANN, Miriam SCHAEFER, et al. Plastic mulching in agriculture. Trading short-term agronomic benefits for long-term soil degradation? *Science of the Total Environment* [online]. Elsevier B.V, 2016, **550**, 690-705 [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.01.153. ISSN 0048-9697.

[111] HURLEY, Rachel R a Luca NIZZETTO. Fate and occurrence of micro(nano)plastics in soils: Knowledge gaps and possible risks. *Current Opinion in Environmental Science &*

Health [online]. Elsevier B.V, 2018, **1**, 6-11 [cit. 2020-04-20]. DOI: 10.1016/j.coesh.2017.10.006. ISSN 2468-5844.

[112] RILLIG, Matthias C a Matthias C RILLIG. Microplastic in terrestrial ecosystems and the soil? *Environmental science & technology* [online]. 2012, **46**(12), 6453-6454 [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.1021/es302011r. ISSN 0013936X. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/1021259379/>

[113] RAMOS, Laura, Giselle BERENSTEIN, Enrique A HUGHES, Anita ZALTS a Javier M MONTSERRAT. Polyethylene film incorporation into the horticultural soil of small periurban production units in Argentina. *Science of the Total Environment* [online]. Elsevier B.V, 2015, **523**, 74-81 [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.03.142. ISSN 0048-9697.

[114] KIRSTEIN, Inga V, Sidika KIRMIZI, Antje WICHELS, Alexa GARIN-FERNANDEZ, Rene ERLER, Martin LÖDER a Gunnar GERDTS. Dangerous hitchhikers? Evidence for potentially pathogenic *Vibrio* spp. on microplastic particles. *Marine Environmental Research* [online]. Elsevier, 2016, **120**, 1-8 [cit. 2020-04-10]. DOI: 10.1016/j.marenvres.2016.07.004. ISSN 0141-1136.

[115] BOOTS, Bas, Connor William RUSSELL a Dannielle Senga GREEN. Effects of Microplastics in Soil Ecosystems: Above and Below Ground. *Environmental science & technology* [online]. 2019, **53**(19), 11496 [cit. 2020-02-27]. DOI: 10.1021/acs.est.9b03304. ISSN 0013-936X.

[116] PALSIKOWSKI, Paula, Matheus ROBERTO, Lais SOMMAGGIO, Patrícia SOUZA, Ana MORALES a Maria MARIN-MORALES. Ecotoxicity Evaluation of the Biodegradable Polymers PLA, PBAT and its Blends Using *Allium cepa* as Test Organism. *Journal of Polymers and the Environment* [online]. New York: Springer US, 2018, **26**(3), 938-945 [cit. 2020-02-27]. DOI: 10.1007/s10924-017-0990-9. ISSN 1566-2543.

[117] SOUZA, Patrícia, Nádia CORROQUÉ, Ana MORALES, Maria MARIN-MORALES a Lucia MEI. PLA and Organoclays Nanocomposites: Degradation Process and Evaluation of ecotoxicity Using *Allium cepa* as Test Organism. *Journal of Polymers and the Environment* [online]. Boston: Springer US, 2013, **21**(4), 1052-1063 [cit. 2020-02-27]. DOI: 10.1007/s10924-013-0604-0. ISSN 1566-2543.

[118] ŠANTRŮČKOVÁ, Hana. Základy ekologie půdy. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. České Budějovice, 2014. ISBN 978-80-7394-480-3.

[119] Pôdne zložky. In: Web2.mendelu.cz [online]. 2014. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/files/150/11890.jpg

[120] SMOLÍK, Ladislav. *Pedologie*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1957, 399 s.

[121] Indikátory kvality zemědělských a lesních půd ČR. *Odborný časopis pro životní prostředí* [online]. 2004, **12**(11), 1-84 [cit. 2020-04-30]. ISSN 1213-3393. Dostupné z: [https://www.mzp.cz/web/edice.nsf/CEFFC9BDDD360E2EC1256FAF0040EEF6/\\$file/indikatory_el.pdf](https://www.mzp.cz/web/edice.nsf/CEFFC9BDDD360E2EC1256FAF0040EEF6/$file/indikatory_el.pdf)

[122] CARR, Steve A, Jin LIU a Arnold G TESORO. Transport and fate of microplastic particles in wastewater treatment plants. *Water Research* [online]. Elsevier, 2016, **91**, 174-182 [cit. 2020-03-24]. DOI: 10.1016/j.watres.2016.01.002. ISSN 0043-1354.

[123] MAHON, A M, B O'CONNELL, M G HEALY, I O'CONNOR, R OFFICER, R NASH,

L MORRISON a A M MAHON. Microplastics in Sewage Sludge: Effects of Treatment. *Environmental science & technology* [online]. 2017, **51**(2), 810-818 [cit. 2020-03-24]. DOI: 10.1021/acs.est.6b04048. ISSN 0013936X. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/1852658690/>

[124] Čistírenský kal–obnovitelný zdroj pro výrobu paliva a hnojiva. *SOVAK Časopis oboru vodovodů a kanalizací* [online]. 2016, (1), 16-20 [cit. 2020-03-23]. Dostupné z: http://www.cpga.cz/files/prednasky/1601_Kos-cistirensky_kal.pdf

[125] TURNER, A a La HOLMES. Adsorption of trace metals by microplastic pellets in fresh water. *Environmental Chemistry* [online]. CSIRO PUBLISHING, 2015, **12**(5), 600-610 [cit. 2020-03-24]. DOI: 10.1071/EN14143. ISSN 1448-2517.

[126] SHIM, Won Joon, Sang Hee HONG a Soeun Eo EO. Identification methods in microplastic analysis: a review. *Analytical Methods* [online]. 2017, **9**(9), 1384-1391 [cit. 2020-03-27]. DOI: 10.1039/c6ay02558g. ISSN 1759-9660.

[127] SONG, Young Kyoung, Sang Hee HONG, Mi JANG, Gi Myung HAN, Manviri RANI, Jongmyoung LEE a Won Joon SHIM. A comparison of microscopic and spectroscopic identification methods for analysis of microplastics in environmental samples. *Marine Pollution Bulletin* [online]. Elsevier, 2015, **93**(1-2), 202-209 [cit. 2020-03-27]. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2015.01.015. ISSN 0025-326X.

[128] SHIM, Won Joon, Young Kyoung SONG, Sang Hee HONG a Mi JANG. Identification and quantification of microplastics using Nile Red staining. *Marine Pollution Bulletin* [online]. Elsevier, 2016, **113**(1-2), 469-476 [cit. 2020-03-27]. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2016.10.049. ISSN 0025-326X.

[129] QIU, Qiongxuan, Zhi TAN, Jundong WANG, Jinping PENG, Meimin LI a Zhiwei ZHAN. Extraction, enumeration and identification methods for monitoring microplastics in the environment. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* [online]. Elsevier, 2016, **176**, 102-109 [cit. 2020-03-27]. DOI: 10.1016/j.ecss.2016.04.012. ISSN 0272-7714.

[130] BERGMANN, Melanie, Lars GUTOW a Michael KLAGES. *Marine Anthropogenic Litter*. 2015. Cham: Springer International Publishing, 2015. DOI: 10.1007/978-3-319-16510-3. ISBN 9783319165097.

[131] MURRAY, Fiona a Phillip Rhys COWIE. Plastic contamination in the decapod crustacean *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758). *Marine Pollution Bulletin* [online]. Elsevier, 2011, **62**(6), 1207-1217 [cit. 2020-03-27]. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2011.03.032. ISSN 0025-326X.

[132] JIN, Ym a B WUNDERLICH. SINGLE-RUN HEAT-CAPACITY MEASUREMENT BY DSC - PRINCIPLE, EXPERIMENTAL AND DATA-ANALYSIS. *Thermochimica Acta* [online]. ELSEVIER SCIENCE BV, 1993, **226**, 155-161 [cit. 2020-05-17]. ISSN 0040-6031.

[133] MAJEWSKY, Marius, Hajo BITTER, Elisabeth EICHE a Harald HORN. Determination of microplastic polyethylene (PE) and polypropylene (PP) in environmental samples using thermal analysis (TGA-DSC). *Science of the Total Environment* [online]. Elsevier B.V, 2016, **568**, 507-511 [cit. 2020-03-27]. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.06.017. ISSN 0048-9697.

[134] DÜMICHEN, Erik, Anne-kathrin BARTHEL, Ulrike BRAUN, Claus G BANNICK, Kathrin BRAND, Martin JEKEL a Rainer SENZ. Analysis of polyethylene microplastics in

environmental samples, using a thermal decomposition method. *Water Research* [online]. Elsevier, 2015, **85**, 451-457 [cit. 2020-03-27]. DOI: 10.1016/j.watres.2015.09.002. ISSN 0043-1354.

[135] NUELLE, Marie-theres, Jens H DEKIFF, Dominique REMY a Elke FRIES. A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments. *Environmental Pollution* [online]. Elsevier, 2014, **184**, 161-169 [cit. 2020-03-27]. DOI: 10.1016/j.envpol.2013.07.027. ISSN 0269-7491.

[136] NUELLE, Marie-theres, Jens H DEKIFF, Dominique REMY a Elke FRIES. A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments. *Environmental Pollution* [online]. Elsevier, 2014, **184**, 161-169 [cit. 2020-03-27]. DOI: 10.1016/j.envpol.2013.07.027. ISSN 0269-7491.

[137] FRIES, Elke, Jens H. DEKIFF, Jana WILLMEYER, Marie-theres NUELLE, Martin EBERT a Dominique REMY. Identification of polymer types and additives in marine microplastic particles using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy. *Journal of Environmental Monitoring* [online]. 2013, **15**(10), 1949-1956 [cit. 2020-03-27]. DOI: 10.1039/c3em00214d. ISSN 2050-7887.

[138] SHIM, Won Joon, Sang Hee HONG a Soeun Eo EO. Identification methods in microplastic analysis: a review. *Analytical Methods* [online]. 2017, **9**(9), 1384-1391 [cit. 2020-03-27]. DOI: 10.1039/c6ay02558g. ISSN 1759-9660.

[139] DÜMICHEN, Erik, Paul EISENTRAUT, Claus Gerhard BANNICK, Anne-kathrin BARTHEL, Rainer SENZ a Ulrike BRAUN. Fast identification of microplastics in complex environmental samples by a thermal degradation method. *Chemosphere* [online]. Elsevier, 2017, **174**, 572-584 [cit. 2020-03-27]. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.02.010. ISSN 0045-6535.

[140] ISCHIA, M., C. PERAZZOLLI, R. DAL MASCHIO a R. CAMPOSTRINI. Pyrolysis study of sewage sludge by TG-MS and TG-GC-MS coupled analyses. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, 2007, **87**(2), 567-574 [cit. 2020-03-29]. DOI: 10.1007/s10973-006-7690-3. ISSN 1388-6150.

[141] RISOLUTI, R a S MATERAZZI. Mass spectrometry for evolved gas analysis: An update. *Applied Spectroscopy Reviews* [online]. Taylor & Francis, 2019, **54**(2), 87-116 [cit. 2020-03-29]. DOI: 10.1080/05704928.2018.1452252. ISSN 0570-4928. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/05704928.2018.1452252>.

[142] MATERAZZI, S, A GENTILI a R CURINI. Applications of evolved gas analysis - Part 2: EGA by mass spectrometry. *Talanta* [online]. ELSEVIER SCIENCE BV, 2006, **69**(4), 781-794 [cit. 2020-03-29]. DOI: 10.1016/j.talanta.2005.12.007. ISSN 0039-9140.

[143] Evolved gas analysis of inorganic compounds with a quadrupole mass spectrometer coupled to a thermogravimetric analyzer. *Thermochimica Acta* [online]. 1993, **214**(1), 9-18 [cit. 2020-03-29]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0040603193800315>

[144] DAVID, Jan, Zacharias STEINMETZ, Jiří KUČERÍK, Gabriele E SCHAUMANN a Jan DAVID. Quantitative Analysis of Poly(ethylene terephthalate) Microplastics in Soil via Thermogravimetry-Mass Spectrometry. *Analytical chemistry* [online]. 2018, **90**(15), 8793-8799 [cit. 2020-04-02]. DOI: 10.1021/acs.analchem.8b00355. ISSN 00032700. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/2058508050/>

- [145] DUEMICHEN, E, U BRAUN, R SENZ, G FABIAN a H STURM. Assessment of a new method for the analysis of decomposition gases of polymers by a combining thermogravimetric solid-phase extraction and thermal desorption gas chromatography mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. Elsevier B.V, 2014, **1354**, 117-128 [cit. 2020-04-19]. DOI: 10.1016/j.chroma.2014.05.057. ISSN 0021-9673.
- [146] SCHINDLER, A., G. NEUMANN, A. RAGER, E. FÜGLEIN, J. BLUMM a T. DENNER. A novel direct coupling of simultaneous thermal analysis (STA) and Fourier transform-infrared (FT-IR) spectroscopy. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, 2013, **113**(3), 1091-1102 [cit. 2020-04-19]. DOI: 10.1007/s10973-013-3072-9. ISSN 1388-6150.
- [147] CHIEN, Yi-chi, Chenju LIANG a Shu-hua YANG. Exploratory study on the pyrolysis and PAH emissions of polylactic acid. *Atmospheric Environment* [online]. Elsevier, 2011, **45**(1), 123-127 [cit. 2020-04-09]. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2010.09.035. ISSN 1352-2310.
- [148] [153] ARRIETA, Marina Patricia, Francisco PARRES, Juan LÓPEZ a Alfonso JIMÉNEZ. Development of a novel pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry method for the analysis of poly(lactic acid) thermal degradation products. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* [online]. Elsevier B.V, 2013, **101**, 150-155 [cit. 2020-04-09]. DOI: 10.1016/j.jaap.2013.01.017. ISSN 0165-2370.
- [149] KOPINKE, F.-D, M REMMLER, K MACKENZIE, M MÖDER a O WACHSEN. Thermal decomposition of biodegradable polyesters—II. Poly(lactic acid). *Polymer Degradation and Stability* [online]. Elsevier, 1996, **53**(3), 329-342 [cit. 2020-04-09]. DOI: 10.1016/0141-3910(96)00102-4. ISSN 0141-3910.
- [150] CAM, D a M MARUCCI. Influence of residual monomers and metals on poly (l-lactide) thermal stability. *Polymer* [online]. Elsevier, 1997, **38**(8), 1879-1884 [cit. 2020-04-09]. DOI: 10.1016/S0032-3861(96)00711-2. ISSN 0032-3861.
- [151] AOYAGI, Yoshihiro, Koichi YAMASHITA a Yoshiharu DOI. Thermal degradation of poly[(R)-3-hydroxybutyrate], poly[ε-caprolactone], and poly[(S)-lactide]. *Polymer Degradation and Stability* [online]. Elsevier, 2002, **76**(1), 53-59 [cit. 2020-04-09]. DOI: 10.1016/S0141-3910(01)00265-8. ISSN 0141-3910.
- [152] Thermal characterization of polylactides. *Polymer* [online]. 1988, **29**(12), 2229-2234 [cit. 2020-04-09]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/abs/pii/0032386188901164>
- [153] ARRIETA, Marina Patricia, Francisco PARRES, Juan LÓPEZ a Alfonso JIMÉNEZ. Development of a novel pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry method for the analysis of poly(lactic acid) thermal degradation products. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* [online]. Elsevier B.V, 2013, **101**, 150-155 [cit. 2020-04-09]. DOI: 10.1016/j.jaap.2013.01.017. ISSN 0165-2370.
- [154] ALMÉN, Per a Inger ERICSSON. Studies of the thermal degradation of polysulfones by filament-pulse pyrolysis—gas chromatography. *Polymer Degradation and Stability* [online]. Elsevier, 1995, **50**(2), 223-228 [cit. 2020-04-09]. DOI: 10.1016/0141-3910(95)00169-7. ISSN 0141-3910.
- [155] AOYAGI, Yoshihiro, Koichi YAMASHITA a Yoshiharu DOI. Thermal degradation of poly[(R)-3-hydroxybutyrate], poly[ε-caprolactone], and poly[(S)-lactide]. *Polymer*

Degradation and Stability [online]. Elsevier, 2002, **76**(1), 53-59 [cit. 2020-04-09]. DOI: 10.1016/S0141-3910(01)00265-8. ISSN 0141-3910.

[156] WESTPHAL, C., C. PERROT a Sigbritt KARLSSON. Py-GC/MS as a means to predict degree of degradation by giving microstructural changes modelled on LDPE and PLA. *Polymer Degradation And Stability* [online]. 2001, **73**(2), 281-287 [cit. 2020-04-09]. DOI: 10.1016/S0141-3910(01)00089-1. ISSN 0141-3910.

[157] KAMRUDDIN, M, P AJIKUMAR, S DASH, A TYAGI a Baldev RAJ. Thermogravimetry-evolved gas analysis-mass spectrometry system for materials research. *Bulletin of Materials Science* [online]. New Delhi: Springer India, 2003, **26**(4), 449-460 [cit. 2020-04-13]. DOI: 10.1007/BF02711191. ISSN 0250-4707.

[158] SHIONO, Ai, Akihiko HOSAKA, Chuichi WATANABE, Norio TERAMAE, Nobukatsu NEMOTO a Hajime OHTANI. Thermoanalytical characterization of polymers: A comparative study between thermogravimetry and evolved gas analysis using a temperature-programmable pyrolyzer. *Polymer Testing* [online]. Elsevier, 2015, **42**(C), 54-61 [cit. 2020-04-13]. DOI: 10.1016/j.polymertesting.2014.12.011. ISSN 0142-9418.

[159] HOTOVÁ, Gabriela a Václav SLOVÁK. Quantitative TG-MS analysis of evolved gases during the thermal decomposition of carbon containing solids. *Thermochimica Acta* [online]. Elsevier B.V, 2016, **632**, 23-28 [cit. 2020-04-13]. DOI: 10.1016/j.tca.2016.03.012. ISSN 0040-6031.

[160] SCHULTEN, H. -R. a P. LEINWEBER. Thermal stability and composition of mineral-bound organic matter in density fractions of soil. *European Journal of Soil Science* [online]. Oxford, UK: Blackwell Science, 1999, **50**(2), 237-248 [cit. 2020-04-13]. DOI: 10.1046/j.1365-2389.1999.00241.x. ISSN 1351-0754.

[161] ARRIETA, Marina Patricia, Francisco PARRES, Juan LÓPEZ a Alfonso JIMÉNEZ. Development of a novel pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry method for the analysis of poly(lactic acid) thermal degradation products. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* [online]. Elsevier B.V, 2013, **101**, 150-155 [cit. 2020-04-13]. DOI: 10.1016/j.jaap.2013.01.017. ISSN 0165-2370.

[162] CZÉGÉNY, Zsuzsanna, Emma JAKAB, János BOZI a Marianne BLAZSÓ. Pyrolysis of wood-PVC mixtures. Formation of chloromethane from lignocellulosic materials in the presence of PVC. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* [online]. Elsevier B.V, 2015, **113**(C), 123-132 [cit. 2020-04-13]. DOI: 10.1016/j.jaap.2014.11.016. ISSN 0165-2370.

[163] STATHEROPOULOS, M a S.A KYRIAKOU. Quantitative thermogravimetric-mass spectrometric analysis for monitoring the effects of fire retardants on cellulose pyrolysis. *Analytica Chimica Acta* [online]. Elsevier B.V, 2000, **409**(1-2), 203-214 [cit. 2020-04-30]. DOI: 10.1016/S0003-2670(99)00859-4. ISSN 0003-2670.

[164] ZHANG, Shizhou a Satoshi KIYONO. An absolute calibration method for displacement sensors. *Measurement* [online]. Elsevier, 2001, **29**(1), 11-20 [cit. 2020-04-17]. DOI: 10.1016/S0263-2241(00)00023-3. ISSN 0263-2241.

[165] TAVERNIERS, Isabel, Marc DE LOOSE a Erik VAN BOCKSTAELE. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *Trends in Analytical Chemistry* [online]. Elsevier B.V, 2004, **23**(8), 535-552 [cit. 2020-04-09]. DOI: 10.1016/j.trac.2004.04.001. ISSN 0165-9936.

[166] E01.22 ANALYTICAL CHEMISTRY FOR METALS, Ores. *Standard Guide for*

Validating Analytical Methods [online]. 2011 [cit. 2020-04-09]. DOI: 10.1520/E2857-11.

[167] CARDA-BROCH, Samuel a Paul R HADDAD. Method validation. *Journal of Chromatography A* [online]. Elsevier B.V, 2014, **1353**, 1-1 [cit. 2020-04-09]. DOI: 10.1016/j.chroma.2014.06.004. ISSN 0021-9673.

[168] ŞENGÜL, Ümit. Comparing determination methods of detection and quantification limits for aflatoxin analysis in hazelnut. *Journal of Food and Drug Analysis* [online]. Elsevier B.V, 2016, **24**(1), 56-62 [cit. 2020-04-09]. DOI: 10.1016/j.jfda.2015.04.009. ISSN 1021-9498.

[169] BAILEY, David. Not Normal: the uncertainties of scientific measurements. *ArXiv.org* [online]. Ithaca: Cornell University Library, arXiv.org, 2017, **4**(1) [cit. 2020-05-17]. DOI: 10.1098/rsos.160600. ISSN 20545703. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/2075266868/>

[170] LI, Bo, Jing TANG, Qingxia YANG, et al. NOREVA: normalization and evaluation of MS-based metabolomics data. *Nucleic Acids Research* [online]. Oxford University Press, 2017, **45**(W1), W162-W170 [cit. 2020-05-01]. DOI: 10.1093/nar/gkx449. ISSN 0305-1048.

8 ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK

ATR-FTIR: infračervená spektroskopia s Fourierovou transformáciou s technikou zrkadlovej reflexie

CEC: kapacita výmeny katiónov

ČOV: čistiareň odpadových vôd

ČK: čistiarensky kal

DSC: diferenčná skenovacia kalorimetria

EDS: disperzná röntgenová spektroskopia

EGA: analýza uvoľnených plynov

FTIR: infračervená spektroskopia s Fourierovou transformáciou

GC/MS: tandem plynová chromatografia/hmotnostná spektrometria

IR: infračervená spektrometria

IUCN: medzinárodná únia na ochranu prírody

LCA: life cycle assessment

LDPE: polyetylén s vysokou hustotou

LOD: limity detekcie

LOQ: limity kvantifikácie

MPs: mikroplasty

NR: Nile Red

PA: polyamid

PBAT: polybutylénadipát-ko-tereftalát

PBS: polybutylénsukcinát

PCL: polykaprolaktón

PE: polyetylén

PES: polyester

PET: polyetyléntereftalát

PDLA: poly(d-laktid)

PDLLA: poly(dl-laktid)

PLGA: kyselina polymliečna v kombinácii s kyselinou glykolovou

PHA: polyhydroxyalkanoát

PHB: polyhydroxybutyrát

PHV: polyhydroxyvalerát

PLA: kyselina poly(mliečna)

PLLA: poly(l-laktid)

PMPs: primárne mikroplasty

PP: polypropylén

PS: polystyrén

PU: polyuretán

PVC: polyvinylchlorid

Pyr-GC/MS: pyrolýza – plynná chromatografia – hmotnostná spektrometria

QMA: kvadрупólový analyzátor

RS: ramanova spektrometria

SDE: extrakcia v tuhej fáze

SMPs: sekundárne mikroplasty

T_g: teplota skleneného prechodu

T_m: teplota topenia

TED-GC-MS: tepelná desorpcia – plynná chromatografia – hmotnostná spektrometria

TGA-SPE-TDS-GC-MS:

TDS-GC-MS: tepelná desorpcia – plynná chromatografia – hmotnostná spektrometria

TG-FTIR: tandem termogravimetria a infračervenej spektroskopie s Fourierovou transformáciou

TGA: termogravimetrická analýza

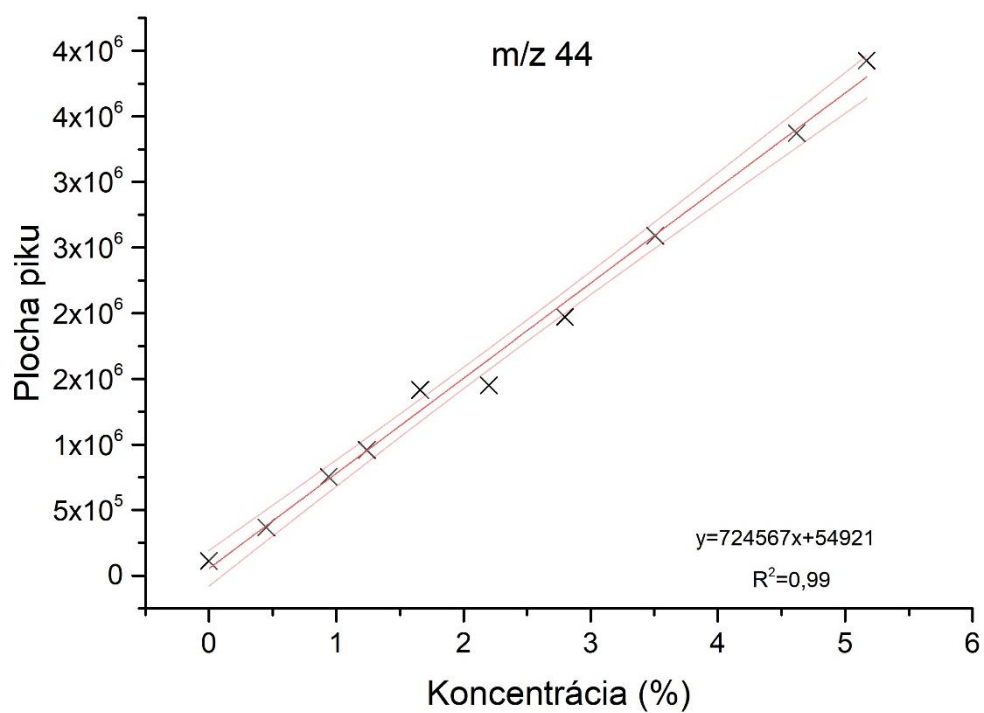
WUR: Wageningen University & Research

9 PRÍLOHY

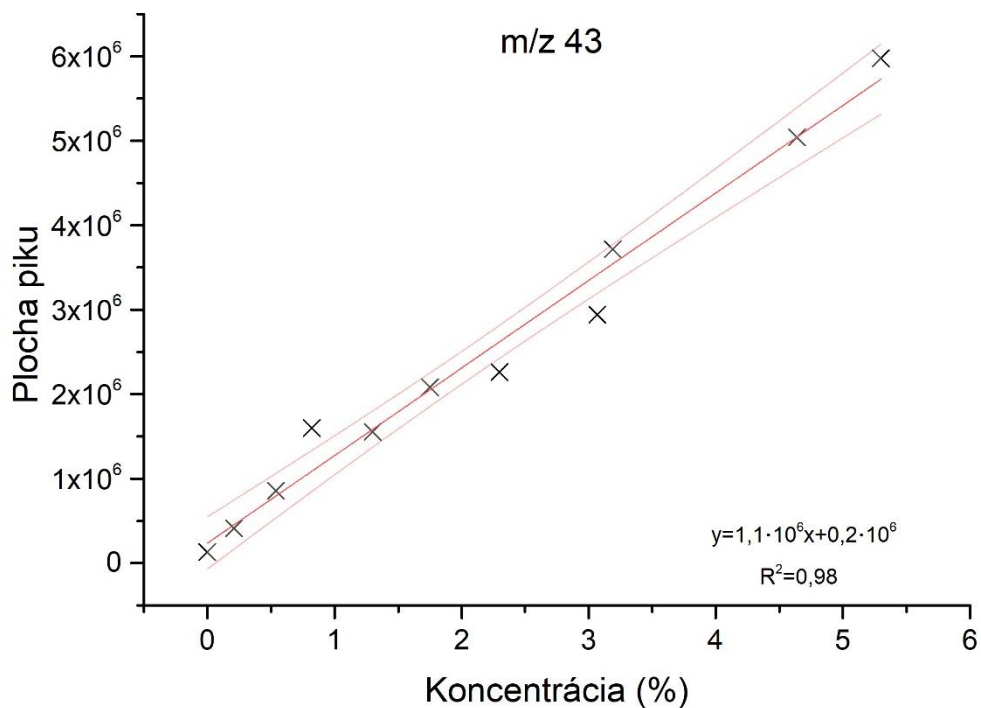
Tabuľka 8: Prehľad jednotlivých vzorkou ich navážky a koncentrácie.

Pôda	Približná koncentrácia [%]	Celková hmotnosť [mg]	Hmotnosť PLA [mg]	Koncentrácia [%]
P84	0,2	42,08	0,09	0,21
	0,5	40,53	0,22	0,54
	0,9	41,64	0,34	0,82
	1,3	41,48	0,54	1,30
	1,7	40,54	0,71	1,75
	2,2	39,95	0,92	2,30
	2,8	39,69	1,22	3,07
	3,5	42,30	1,35	3,19
	4,4	41,99	1,95	4,64
5	41,73	2,21	5,30	
P185	0,2	41,18	0,02	0,05
	0,5	41,95	0,27	0,64
	0,9	41,19	0,41	1,00
	1,3	41,17	0,53	1,29
	1,7	40,76	0,68	1,67
	2,2	41,63	0,88	2,11
	2,8	38,96	1,11	2,85
	3,5	41,8	1,44	3,44
	4,4	41,43	1,80	4,34
5	39,26	2,00	5,09	
LUFA	0,2	40,61	0,04	0,1
	0,5	41,87	0,19	0,45
	0,9	42,78	0,40	0,94
	1,3	41,06	0,51	1,24
	1,7	42,06	0,70	1,66
	2,2	42,21	0,93	2,20
	2,8	41,79	1,17	2,80
	3,5	42,16	1,48	3,51
	4,4	39,79	1,84	4,62
5	42,37	2,19	5,17	

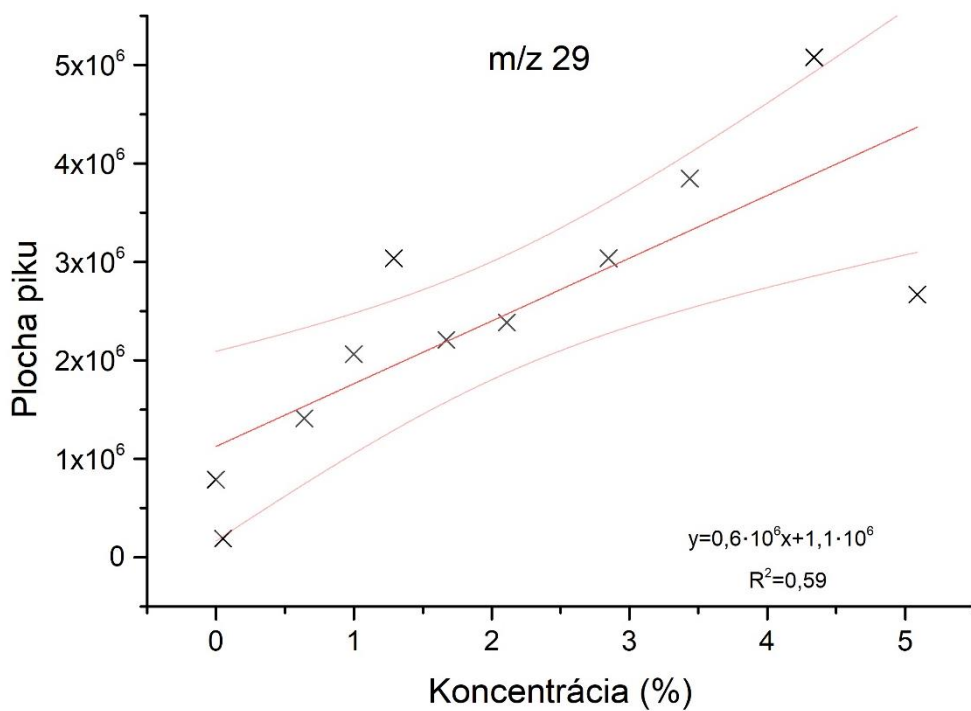
KAL	0,2	39,8	0,01	0,03
	0,5	42,49	0,18	0,42
	0,9	40,62	0,36	0,89
	1,3	40,10	0,53	1,32
	1,7	38,99	0,75	1,92
	2,2	42,09	0,88	2,09
	2,8	42,45	1,30	3,06
	3,5	39,86	1,57	3,94
	4,4	41,41	1,94	4,68
	5	-	-	-



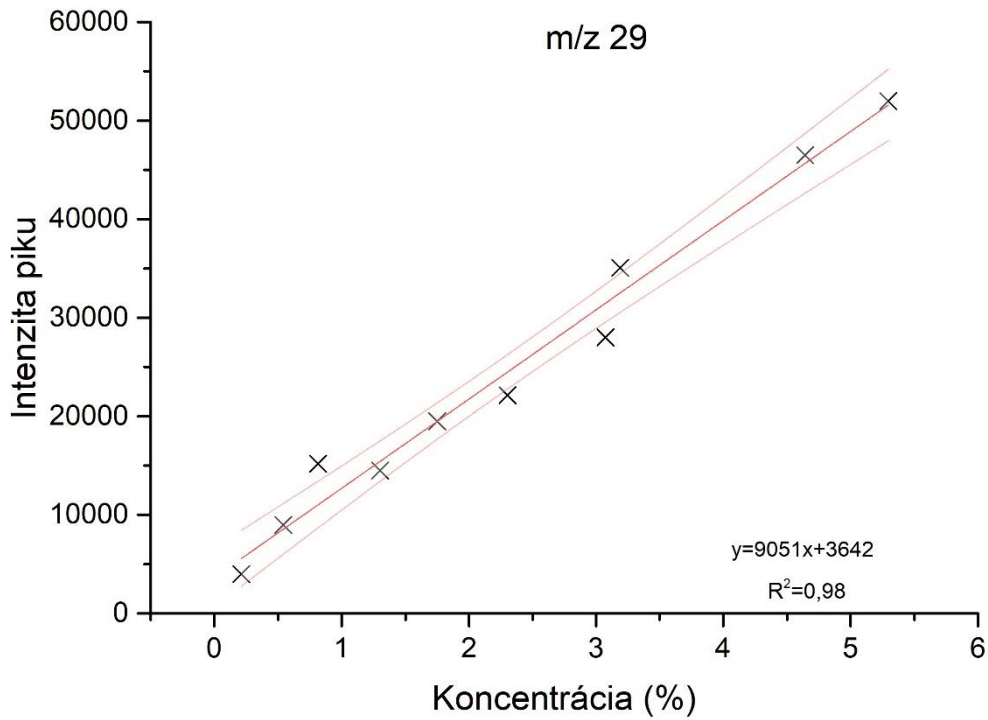
Obrázok 35: Príklad grafu kalibračnej krivky (PLA v LUFA, m/z 44) vytvorený použitím plochy pikov.



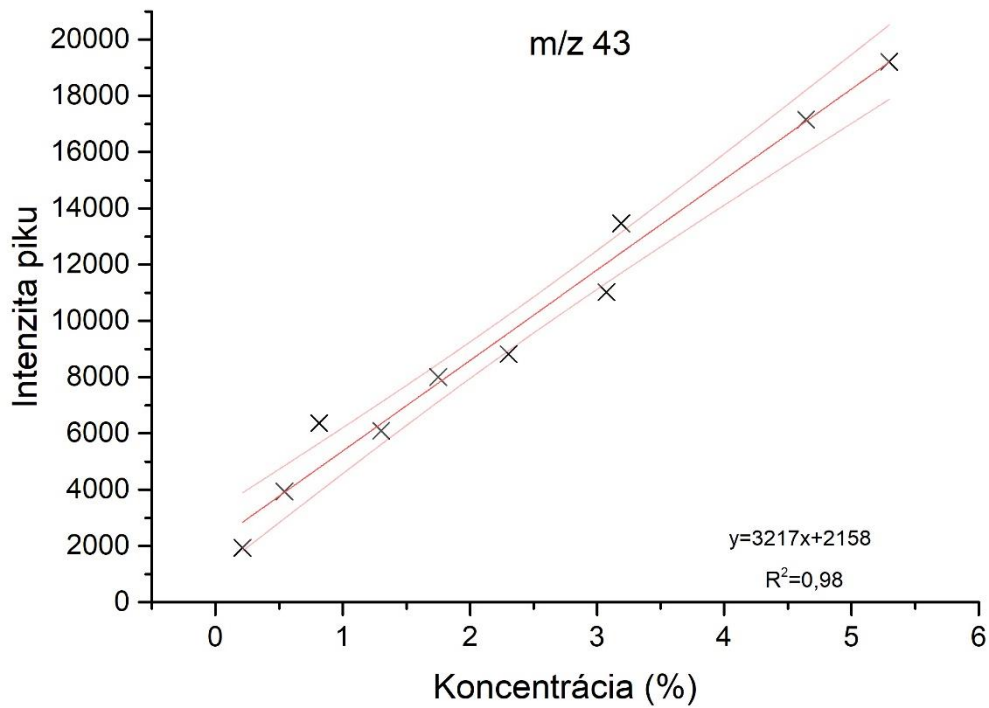
Obrázok 36: Príklad grafu kalibračnej krivky (PLA v P84, m/z 43) vytvorený použitím plochy pikov.



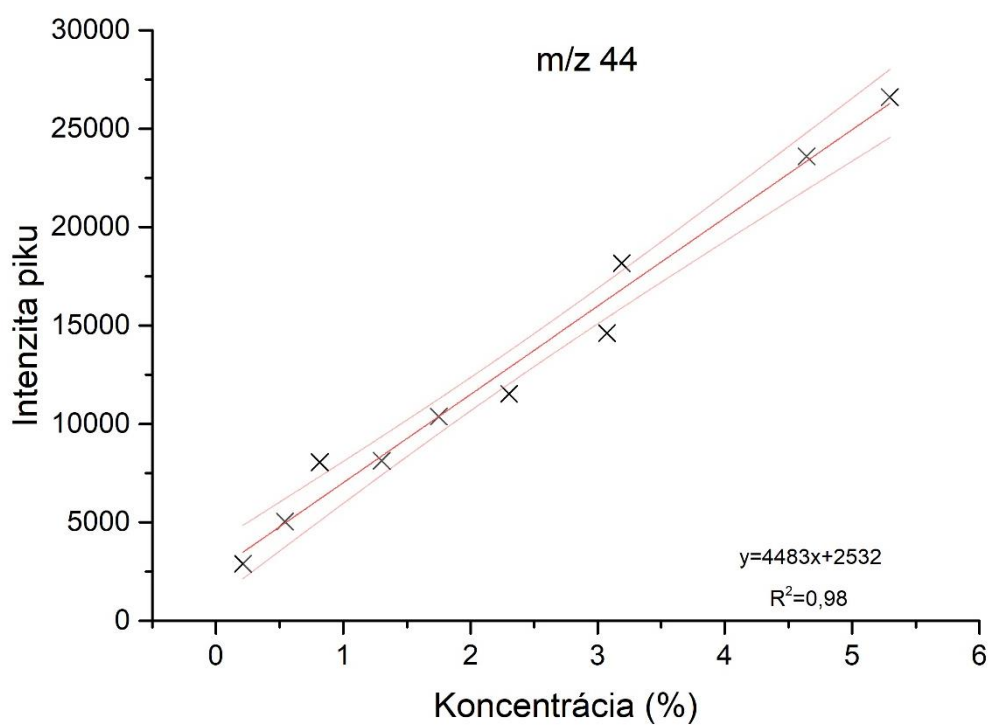
Obrázok 37: Príklad grafu kalibračnej krivky (PLA v P185, m/z 29) vytvorený použitím plochy pikov.



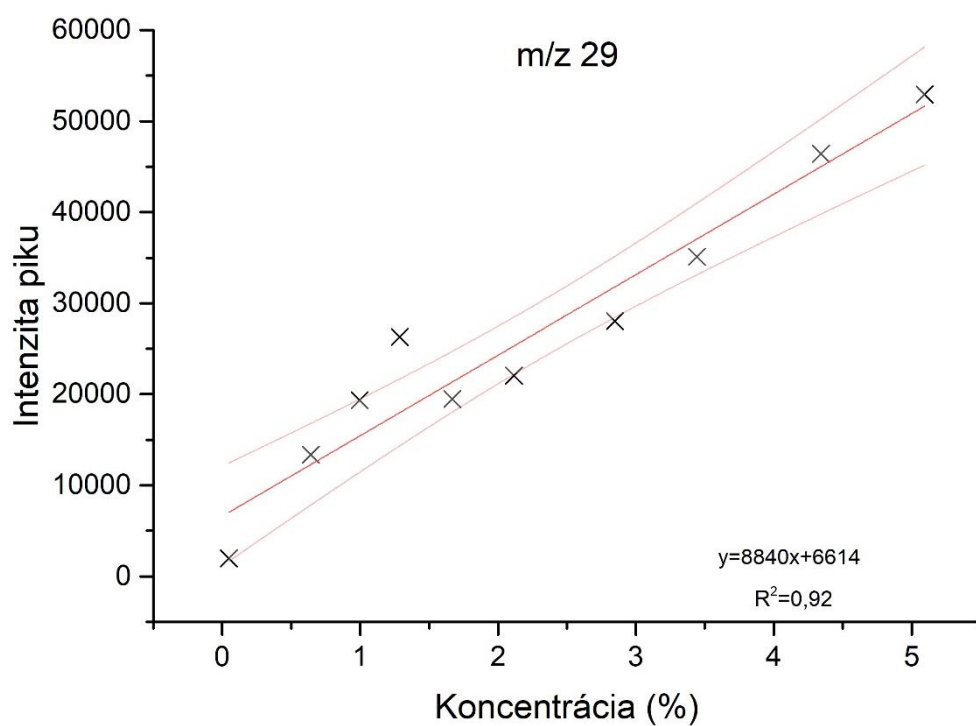
Obrázok 38: Graf kalibračnej krivky (PLA v P84, m/z 29) vytvorený použitím intenzít piků.



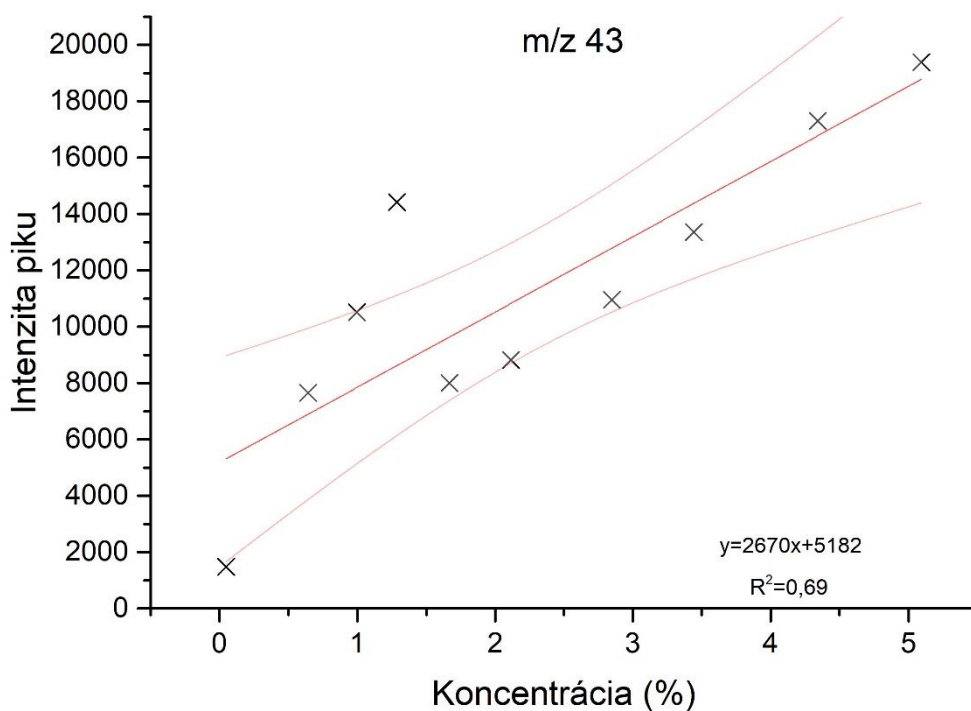
Obrázok 39: Graf kalibračnej krivky (PLA v P84, m/z 43) vytvorený použitím intenzít piků.



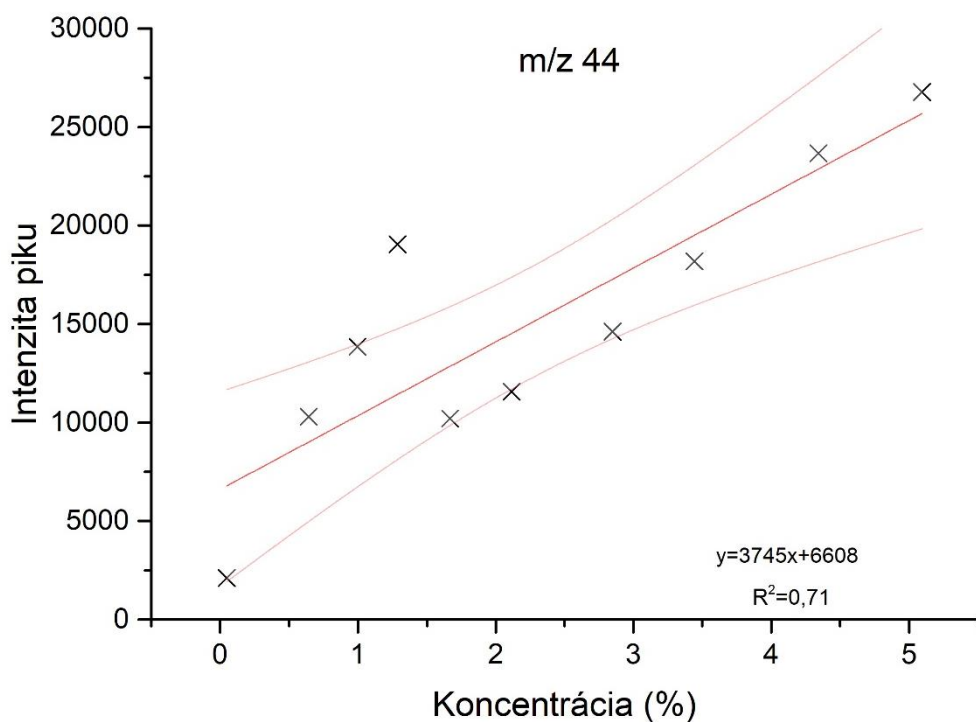
Obrázok 40: Graf kalibračnej krivky (PLA v P84, m/z 44) vytvorený použitím intenzít pikov.



Obrázok 41: Graf kalibračnej krivky (PLA v P185, m/z 29) vytvorený použitím intenzít pikov.



Obrázok 42: Graf kalibračnej krivky (PLA v P185, m/z 43) vytvorený použitím intenzít pikov.



Obrázok 43: Graf kalibračnej krivky (PLA v P185, m/z 44) vytvorený použitím intenzít pikov.