

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Ústav pro životní prostředí

Studijní program: Ekologie a ochrana prostředí

Studijní obor: Ochrana životního prostředí



Bc. Kateřina Pražanová

Biodegradace lehčených polyuretanů v půdě a následná analýza produktů rozkladu
*Biodegradation of lightweight polyurethanes in soil and subsequent analysis of their
degradation products*

Diplomová práce

Vedoucí práce: RNDr. Petra Innemanová, Ph.D.

Praha, 2018

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne

.....

Podpis

Poděkování

V první řadě děkuji vedoucí diplomové práce RNDr. Petře Innemanové, Ph.D. za její čas, který mi věnovala během tvorby mé práce, podněty, inspiraci a skvělou spolupráci. Děkuji Ing. Hynku Benešovi, Ph.D., Ing. Janě Kredatusové, Ph.D. a Ing. et Mgr. Aleksandře Paruzel za přípravu biodegradovatelných polyuretanů a pomoc s analýzami na Ústavu makromolekulární chemie AV ČR. Dr. Benešovi navíc patří velký dík za příležitost účastnit se mezinárodní konference 8th Workshop on Green Chemistry and Nanotechnologies in Polymer Chemistry. Děkuji prof. RNDr. Tomáši Cajthamlovi, Ph.D. za jeho pomoc s pokusem týkajícím se adsorpce polycyklických aromatických uhlovodíků na polyuretany. Dále děkuji Mgr. Janě Zloté, RNDr. Janě Holecové, Mgr. Tereze Čermákové, Mgr. Jaroslavu Semerádovi a dalším pracovníkům laboratoře environmentální biotechnologie Mikrobiologického ústavu AV ČR za pomoc s výše zmíněným pokusem. Na závěr patří velký dík mé rodině a manželovi Vítu Pražanovi za jejich dlouhodobou podporu při studiu.

Obsah

Abstrakt.....	6
Abstract.....	7
Seznam zkratek.....	8
1 Úvod.....	10
2 Teoretická část.....	12
2.1 Biodegradace polyuretanů.....	12
2.2 Metody stanovení biodegradovatelnosti.....	18
2.3 Rizika fragmentace lehčených polyuretanů pro biosféru.....	22
2.4 Adsorpce organických polutantů na povrchu plastů.....	27
3 Cíle a hypotézy.....	33
4 Metodika.....	34
4.1 Použité chemikálie a přístrojové vybavení.....	34
4.1.1 Standardy.....	34
4.1.2 Chemikálie.....	34
4.1.3 Přístroje a materiál.....	35
4.1.4 Programy.....	36
4.2 Biodegradace lehčených polyuretanů v půdě a abiotická hydrolýza.....	36
4.2.1 Charakteristika testovaných materiálů.....	37
4.2.2 Analýza půdních vlastností.....	38
4.2.3 Stanovení biodegradovatelnosti.....	38
4.2.4 Abiotická hydrolýza.....	40
4.3 Separace produktů rozkladu dvoustupňovou metodou.....	40
4.3.1 Fluidizace.....	40
4.3.2 Flotace.....	41
4.4 Analýza produktů rozkladu pomocí FT-IR.....	41
4.5 Adsorpce polycyklických aromatických uhlovodíků na povrchu plastů.....	41
4.5.1 Extrakce a čištění.....	42
4.5.2 Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí.....	44
5 Výsledky.....	45
5.1 Biodegradace lehčených polyuretanů v půdě a abiotická hydrolýza.....	45

5.2 Analýza produktů rozkladu pomocí FT-IR.....	48
5.3 Adsorpce polycyklických aromatických uhlovodíků na povrchu plastů.....	51
6 Diskuze.....	54
7 Závěry.....	58
8 Zdroje.....	59
9 Přílohy.....	68

Abstrakt

Předcházení vzniku odpadů je podle evropské směrnice Evropského Parlamentu a Rady 2008/98/ES o odpadech a podle zákona o odpadech č. 185/2001 Sb., ve znění pozdějších předpisů, hlavní prioritou v nakládání s odpady. Využití biodegradovatelných plastů se jeví jako vhodný přístup v naplňování této strategie.

Předložená diplomová práce se zabývá biodegradovatelnými lehčenými polyuretany (PUR), které mohou představovat vhodné materiály pro využití na pachové ohradníky v zemědělské krajině, kde je v půdě předpokládán jejich rozklad po skončení životnosti. Biodegradovatelnost nově syntetizovaných lehčených PUR (BIO 8-10), vyjádřená jako mineralizace materiálu, byla laboratorně testována v zemědělské půdě podle standardizované metody ASTM D5988-03. Během devítiměsíčního pokusu byl nejlépe rozložitelný materiál (BIO-10) obsahující škrob (28 hm. %) rozložen z $42,0 \pm 4,2$ %. Pozitivní kontrola tvořená celulózu byla kompletně rozložena, čímž test naplňoval kritérium validity, které požaduje mineralizaci > 70 %.

Po biodegradačním testu byly produkty rozkladu (rezidua PUR) z půdy separovány dvoustupňovou metodou využívající fluidizace a flotace podle upraveného postupu Nuelle et al. (2014). Zvládnutí tohoto postupu umožňovalo následnou analýzu reziduí pomocí infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací (FT-IR). Analýza FT-IR potvrdila předpokládanou hydrolýzu esterových a uretanových vazeb, která je klíčovým mechanismem dezintegrace testovaných materiálů.

Rozpad plastů na malé fragmenty, tzv. mikroplasty (MPs), představuje podle nejnovějších studií potenciální riziko nejen pro vodní organismy, ale také žížaly, nepostradatelné půdní ekosystémové inženýry. Riziko MPs stoupá při adsorpci organických polutantů na povrchu MPs. V rámci diplomové práce byl proveden laboratorní pokus adsorpce polycyklických aromatických uhlovodíků (PAU) na povrchu konvenčního (PUR-C) a nového PUR (BIO-10) při kontaktu s kontaminovanou půdou. Nejvyšší koncentrace ($8206,0 \pm 2719,2$ ppm) byla naměřena u BIO-10 po tříměsíční expozici. Nicméně, kvůli nízké výtěžnosti použité extrakce lze předpokládat přibližně čtyřnásobné koncentrace PAU.

Klíčová slova: biodegradace, lehčené polyuretany, produkty rozkladu, mikroplasty, adsorpce polycyklických aromatických uhlovodíků

Abstract

According to the Waste Framework Directive 2008/98/ES and the Czech law on waste 185/2001 Sb., waste prevention is the main priority in waste management. Using biodegradable plastics seems to represent a suitable approach in fulfilling the strategy.

The subject of this diploma thesis is biodegradable lightweight polyurethanes (PURs), which might represent suitable materials for repellent fences in agricultural landscapes. Biodegradation processes are assumed to begin in the agricultural soil after their lifetime. The biodegradability of new lightweight PURs (BIO 8-10), presented as material mineralization, was tested in agricultural soil under laboratory conditions according to the ASTM International standard method D5988-03. After the nine-month experiment the material with the highest biodegradability (BIO 10) containing starch (28 wt. %) was mineralized to 42.0 ± 4.2 %. Cellulose (the positive control) was completely mineralized; thus, the validity criterion (positive control mineralization > 70 %) was accomplished.

After the biodegradability test, degradation products (residual PURs) were separated from the soil by a two-step method using fluidisation and flotation, according to a modified procedure described in Nuelle et al. (2014). The procedure enabled a subsequent analysis of PUR residues with Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). The FT-IR analysis confirmed the assumed hydrolysis of ester and urethane bonds, which is crucial for the disintegration of the tested materials.

According to new research, plastic disintegration into small fragments (microplastics (MPs)) represents potential risks not only for water organisms but also for earthworms, indispensable soil ecosystem engineers. MPs potential risks increase during adsorption of organic pollutants on MPs surface. Within this diploma thesis, a laboratory experiment focused on adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from contaminated soil on PUR surface was conducted with a conventional (PUR-C) and the new PUR (BIO-10). The highest concentration (8206.0 ± 2719.2 ppm) was measured at the BIO-10 after three-month exposure. However, due to a low extraction yield, the PAH concentrations are assumed to be approximately four times higher.

Key words: biodegradation, lightweight polyurethanes, degradation products, microplastics, adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons

Seznam zkratk

ASTM International	Mezinárodní asociace pro testování materiálů (z angl. International Association for Testing Materials)
BFRs	Bromované zpomalovače hoření (z angl. Brominated flame retardants)
BOD	Biochemická spotřeba kyslíku (z angl. Biochemical oxygen demand)
DCM	Dichlormethan
DDD	Dichlordifenylchloroethan
DDE	Dichlordifenylchloroethen
DDT	Dichlordifenyltrichloroethan
EGA	Analýza uvolněných plynů (z angl. Evolved gas analysis)
EU	Evropská unie
FT-IR	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (z angl. Fourier transform infrared spectroscopy)
GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (z angl. Gas chromatography-mass spectrometry)
GPC	Gelová permeační chromatografie (z angl. Gel permeation chromatography)
HBCD	Hexabromcyklododekan
HDPE	Vysokohustotní polyethylen (z angl. High density polyethylene)
H/L	Poměr těžších a lehčích PAU (z angl. Higher-molecular-weight/Lower-molecular-weight)
IČ	Infračervené záření
K_{ow}	Rozdělovací koeficient oktanol/voda (z angl. Octanol/water)
MC/C	Methylchrysen+methylbenz[a]antracen/Chrysen+benz[a]antracen
MP/P	Methylfenantren/Fenantren
MPs	Mikroplasty (z angl. Microplastics)
MPy/Py	Methylpyren+methylfluoranten/Pyren+fluoranten
NMR	Nukleární magnetická rezonance
NOAA	Národní úřad pro oceán a atmosféru (z angl. National Oceanic and Atmospheric Administration)
NP	Nonylfenoly (z angl. Nonylphenols)
NPs	Nanoplasty (z angl. Nanoplastics)

OP	Oktylfenoly (z angl. Octylphenols)
PAHs	Polycyklické aromatické uhlovodíky (z angl. Polycyclic aromatic hydrocarbons)
PAU	Polycyklické aromatické uhlovodíky
PBDEs	Polybromované difenyletery (z angl. Polybrominated diphenylethers)
PCB	Polychlorované bifenyly (z angl. Polychlorinated biphenyls)
PCL	Polykaprolakton
PE	Polyethylen
PEG 400	Polyethylenglykol 400 ($M = 400 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$)
POPs	Persistentní organické polutanty (z angl. Persistent organic pollutants)
PP	Polypropylen
PS	Polystyren
PS-COOH	Polystyren s karboxylovými skupinami
PS-NH ₂	Polystyren s amino skupinami
PUR	Polyuretan
PVC	Polyvinylchlorid
SD	Směrodatná odchylka (z angl. Standard deviation)
SEM	Skenovací elektronový mikroskop
SFE	Superkritická fluidní extrakce
SIM	Selektivní monitorování iontů (z angl. Selective ion monitoring)
SPE	Extrakce na pevné fáze (z angl. Solid phase extraction)
TBBA	Tetrabromobisfenol A
TGA	Termogravimetrická analýza
THF	Tetrahydrofuran
ThOD	Teoretická spotřeba kyslíku (z angl. Theoretical oxygen demand)
U.S. EPA	Agentura pro ochranu životního prostředí (z angl. United States Environmental Protection Agency)
WHC	Vodní kapacita (z angl. Water holding capacity)
XRD	Rentgenová difrakce (z angl. X-ray diffraction)

1 Úvod

Celosvětová produkce plastů se neustále zvyšuje, v roce 2016 bylo vyprodukováno 335 mil. tun plastů. V EU produkce mírně kolísá, v roce 2016 dosahovala produkce plastů 60 mil. tun. Polyuretany (PUR) se na celkové spotřebě plastů v EU v roce 2016 podílely 7,5 % (PlasticsEurope, 2017). S nárůstem produkce stoupá také potřeba řešení otázky využití a odstranění PUR odpadů. Kromě odstranění skládkováním a spalováním bez využití energie a energetického využití je možné PUR chemicky recyklovat nebo v případě pěn rozemlít a inkorporovat do nově syntetizovaného materiálu. Dalším z možných přístupů ke snižování množství odpadu je syntéza biodegradovatelných materiálů (Cregut et al., 2013). Biodegradovatelné lehčené PUR se jeví jako vhodné materiály pro využití na pachové ohradníky v zemědělské krajině, kde je v půdě předpokládán jejich rozklad po skončení životnosti. Tento přístup umožňuje předcházení vzniku odpadů, které stojí podle evropské směrnice Evropského Parlamentu a Rady 2008/98/ES o odpadech a podle zákona o odpadech č. 185/2001 Sb., ve znění pozdějších předpisů, nejvýše v hierarchii nakládání s odpady.

Fragmentace plastů a vznik malých částic zvaných mikroplasty (MPs) a nanoplasty (NPs) je spojována především s nebezpečím pro mořské ekosystémy. Mezinárodní rada pro průzkum moří spolu s Evropskou komisí vypracovala pro Rámcovou směrnici o strategii pro mořské prostředí 2008/56/ES dokument týkající se mořského odpadu, který ohrožuje během konzumace mořské obratlovce a bezobratlé. Kromě blokování a vnitřního poranění trávicího traktu ostrými předměty spatřují autoři hlavní nebezpečí v blokaci produkce enzymů klíčových pro zažívání, snížení příjmu potravy, ředění nutrientů, snížení hmotnostních přírůstků, snížení hladiny steroidních hormonů, zpoždění ovulace a narušení reprodukce a absorpce toxinů (Galgani et al., 2010).

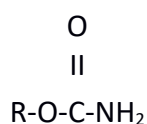
Riziko MPs se netýká jen mořských ekosystémů, ale také půdy, kde mohou drobné částice plastů rovněž vstupovat do potravních sítí (Rillig, 2012). Bylo popsáno riziko konzumace MPs žížalami *Lumbricus terrestris* a *Eisenia andrei*, které mají zásadní vliv na funkci půdy (Huerta Lwanga et al., 2016; Rodriguez-Seijo et al., 2017).

MPs nejsou nebezpečím pro organismy jen samy o sobě, ale jejich riziko stoupá v případě adsorbovaných organických polutantů na jejich povrchu (Avio et al., 2015; Rochman et al., 2014). Koncentrace organických polutantů v oceánech bývají vzhledem k velkému ředění nízké. Nicméně, rozdělovací koeficient mezi plasty a mořskou vodou je příčinou adsorpce a akumulace těchto polutantů na povrchu plastových částic (Rios et al., 2010). Podle dostupných literárních zdrojů nebyla dosud zkoumána adsorpce organických polutantů na MPs v půdě. Jedná se tedy o oblast, kde se může výzkum dále rozvíjet.

2 Teoretická část

2.1 Biodegradace polyuretanů

Polyuretan (PUR) je syntetický polymer, který se může vyskytovat v podobě elastomerů nebo reaktoplastů (termosetů). PUR byl poprvé syntetizován Dr. Otto Bayerem v roce 1937. Výroba PUR-pěn v průmyslovém měřítku spadá do 50. let 20. století. Od té doby produkce díky technickému pokroku, využití v nových aplikacích a legislativnímu zákazu používání chlorovaného kaučuku, podezřelého z uvolňování nebezpečných organických těkavých látek, výrazně rostla až do 90. let 20. století (Cregut et al., 2013). Díky široké škále vlastností nachází uplatnění v medicíně, automobilovém průmyslu a dalších průmyslových odvětvích. Typickými produkty jsou například nábytek, lepidla, konstrukční materiály, vlákna, polstrování, nátěry, elastomery nebo syntetická kůže pro medicínské účely (Howard, 2011). Pro syntézu PUR se využívá kondenzace mezi polyisokyanáty ($R-N=C=O$) a polyoly ($R-OH$) a jejich základem je uretanová jednotka :



Rozdílných mechanických, termických a chemických vlastností lze u PUR docílit použitím různých polyisokyanátů a polyolů (Zia et al., 2007). Kromě opakujících se uretanových jednotek obsahují další funkční skupiny, například močovinu, aromatická jádra, polyesterové a etherové vazby (Howard, 2002). Podle použitého polyolu můžeme rozlišovat polyesterové a polyetherové PUR (Howard, 2011). PUR se skládají z měkkých segmentů vyznačujících se amorfním charakterem nebo nízkou krystalinitou a tvrdých segmentů typických svým krystalickým uspořádáním. Měkké segmenty jsou obvykle tvořeny polyolem přispívajícím k absorpci vody, elasticitě, prodlužování a poddajnosti, tvrdé segmenty jsou tvořeny polyisokyanátem zajišťujícím tvrdost, pevnost a sílu v tahu (Urgun Demirtas et al., 2007). Jejich poměr ovlivňuje kromě mechanických a termických vlastností také permeabilitu a biodegradabilitu materiálu (Maafi et al., 2010). Stejně jako konvenční PUR mají také jejich biodegradabilní varianty rozmanité vlastnosti, kterých je možné využít v řadě odvětvích. Velký význam mají například pro reparativní medicínu (Guelcher, 2008) a tkáňové inženýrství (Guan et al., 2005). Další možností je jejich využití v zemědělství pro kontrolované uvolňování hnojiva (Ge et al., 2002).

Během biodegradace dochází buď procesem depolymerizace k rozpadu řetězce až na jednotlivé monomery nebo k procesu mineralizace, kdy je materiál rozložen až na anorganické produkty rozkladu - vodu (H_2O), oxid uhličitý (CO_2), případně methan (CH_4). Často je enzymy katalyzovaná redukce délky polymerního řetězce primárním procesem biodegradace, nicméně abiotické chemické a fyzikální procesy hrají také důležitou roli. Chemické a fyzikální procesy mohou působit paralelně s enzymatickými reakcemi nebo se objevují v prvním kroku biodegradace. Zahrnují chemickou hydrolýzu, termální degradaci a oxidaci a fotodegradaci způsobenou zářením (Artham a Doble, 2008). Obecně je pro biodegradaci klíčová řada chemických a fyzikálních faktorů: morfologie, flexibilita, krystalinita, molekulární hmotnost, funkční skupiny, aditiva, směsi, kopolymery, příčné vazby, substituenty, hydrofobicita (Artham a Doble, 2008). Vyšší obsah měkkých segmentů zvyšuje biodegradabilitu (Petrovic et al., 2010). Pravidelné složení polymeru umožňuje skládání řetězce do krystalických částí, které limitují dostupnost pro degradující mikroorganismy a enzymy. Extracelulární enzymy jsou příliš velké molekuly, aby mohly penetrovat materiál, proto účinkují na jeho povrchu, který narušují. Kontakt mikroorganismů s povrchem je usnadněn hydrofobicitou povrchu polymerů (Artham a Doble, 2008). Dalšími klíčovými faktory jsou příčné vazby a přítomné chemické skupiny (Howard, 2002). Phua et al. (1987) pozorovali u polyesterového PUR pro medicínské účely s příčnými vazbami rozdíl v biodegradaci v závislosti na použitém proteolytickém enzymu. Papain s molekulovou hmotností 20,7 kDa snadno pronikl strukturou materiálu a docházelo ke štěpení vazeb. Naopak ureáza s molekulovou hmotností 473 kDa byla omezena pouze na kontakt s povrchem polymeru a štěpení vazeb bylo méně efektivní. Biodegradace je dále ovlivněna abiotickými faktory jako teplota, vlhkost, pH, UV radiace a salinita (Artham et al., 2008).

Výzkum biodegradace PUR započal na konci 60. let 20. století. Zprvu byla biodegradace zkoumána za účelem zajištění rezistence materiálu vůči mikrobiálnímu ataku. Teprve později začala být biodegradace zkoumána jako pozitivní a žádoucí jev. Výzkum se zaměřil detailněji právě na přítomné mikroorganismy, jejich enzymy a podmínky, které stimulují aktivitu těchto mikroorganismů (Cregut et al., 2013). V půdě je aktivita mikroorganismů limitována nízkou teplotou a vlhkostí (Franzluebbers et al., 2001). Z abiotických faktorů je pro biodegradaci PUR klíčová přítomnost kyslíku. Z pokusu v anaerobních podmínkách vyplývá, že bez přítomnosti kyslíku dochází jen k malým změnám v mechanické pevnosti, úbytku hmotnosti, chemické struktuře a růstu mikroorganismů (Urgun-Demirtas et al., 2007). Pozorovaným mechanismem biodegradace PUR na bázi polyesteru je hydrolýza esterových vazeb na kyselinu a alkohol

pomocí esteráz (Howard, 2002). Proces hydrolýzy byl pozorován také u modelových PUR obsahujících pouze uretanové vazby (Wales a Sagar, 1988). U alifatických polyesterů je proces biodegradace velmi dobře prozkoumán. Nejprve dochází k hydrolýze esterových vazeb pomocí extracelulárních enzymů produkovaných mikroorganismy a rozpadu na ve vodě rozpustné oligomery nebo monomery. Tyto části polymeru jsou následně inkorporovány do těla mikroorganismů a rozloženy intracelulárními enzymy na CO₂ a H₂O (Ando et al., 1998). Huang et al. (1981) pozorovali u polyesterového PUR syntetizovaného z polykaprolaktondiolu nárůst biodegradability úměrně s délkou polyesterového řetězce. Darby a Kaplan (1968) pozorovali střední až vysokou rezistenci polyetherových PUR k napadení materiálů zástupci hub, zatímco všechny testované polyesterové PUR ataku podléhaly. Podle Innace et al. (1999) nebyla biodegradace polyetherových PUR pozorována nebo nebyla signifikantní.

Schopnost biodegradovat PUR byla pozorována u mnoha zástupců bakterií z kmene Proteobacteria, Firmicutes a Actinobacteria, převážně u PUR na polyesterové bázi. Bakteriální degradace činností rodu *Corynebacterium* byla pozorována u polyesterového PUR v minerálním médiu s výživou tvořenou kvasnicovým extraktem. Infračervenou spektroskopií s Fourierovou transformací (FT-IR) byla pozorována degradace štěpením esterových vazeb (Kay et al., 1993). U zástupců bakterií *Acinetobacter calcoaceticus*, *Arthrobacter globiformis*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Pseudomonas putida* (El-Sayed et al., 1996) bylo pozorováno využití PUR jako kompletního zdroje uhlíku a energie. U *Comamonas acidovorans* bylo pozorováno využití PUR jako zdroje uhlíku a dusíku (Nakajima-Kambe et al., 1997). Howard (2002) pozoroval esterázovou a/nebo proteázovou aktivitu u *Pseudomonas fluorescens*, *P. chlororaphis* a *Comamonas acidovorans*. Podle Akutsu et al. (1998) obsahovala esteráza degradující PUR hydrofobní doménu pro navázání k povrchu PUR a doménu katalytickou. Degradace PUR enzymem probíhala ve dvou stupních: nejprve došlo k hydrofobní adsorpci na povrch PUR a posléze k hydrolýze přítomných esterových vazeb. Podrobnější přehled zástupců je uveden v Tab. 1.

Biodegradací aktivita byla vedle bakterií také popsána u mnoha zástupců hub, převážně z kmene Ascomycota. Také zde převažuje biodegradace PUR na polyesterové nebo polyester-etherové bázi. Relativní rezistence polyetherových PUR mikrobiálnímu ataku je přisuzována depolymerizaci exo-typu, kdy dochází k postupnému štěpení jednotek v polymerním řetězci. Naopak u polyesterových PUR dochází k depolymerizaci endo-typu, která způsobuje náhodné štěpení polymerního řetězce (Nakajima-Kambe et al., 1999). Degradace polyesterového PUR byla potvrzena u *Aspergillus* sp. S45 izolovaného z půdy. Podle sekvenace 18S rRNA se jednalo

z 99 % o zástupce *Aspergillus fumigatus*. Při inokulaci testovaného materiálu docházelo k oxidaci přítomného uhlíku a uvolnění CO₂ (Osman et al., 2018). Podrobnější přehled zástupců je uveden v Tab. 2.

Tab. 1: Zástupci bakterií se schopností biodegradace PUR (upraveno dle Cregut et al. (2013))

Zástupce	Výskyt	Zdroje
Polyesterový polyuretan		
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	trávicí trakt člověka	El-Sayed et al. (1996)
<i>Acinetobacter gernerii</i> P7	půda	Howard et al. (2012)
<i>Arthrobacter globiformis</i>	půda	El-Sayed et al. (1996)
<i>Bacillus</i> sp.		Blake et al. (1998)
<i>Bacillus subtilis</i>	půda	Rowe a Howard (2002)
<i>Corynebacterium</i> sp.	mikrobiota zvířat, člověka	Kay et al. (1993)
<i>Delftia acidovorans</i> TB-35 (<i>Comamonas acidovorans</i>)	půda, voda	Nakajima-Kambe et al. (1995)
<i>Enterobacter agglomerans</i>	povrch rostlin, semena, plody, zvířecí a lidské výkaly	Kay et al. (1991)
<i>Pseudomonas</i> sp.		El-Sayed et al. (1996)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	odpadní vody, rostliny, půda	Kay et al. (1991)
<i>Pseudomonas cepacia</i>	voda, půda	El-Sayed et al. (1996)
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	půda	Stern a Howard (2000) a Howard et al. (2001)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	půda, voda	Vega et al. (1999)
<i>Serratia rubidaea</i>	patogen	Kay et al. (1991)
Polyetherový polyuretan		
<i>Rhodococcus equi</i> TB-60	půda, patogen	Akutsu-Shigeno et al. (2006)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	patogen	Jansen et al. (1991)

Tab. 2: Zástupci hub se schopností biodegradace PUR (upraveno dle Cregut et al. (2013))

Zástupce	Výskyt	Zdroj
Polyester-etherový polyuretan		
<i>Aspergillus flavus</i>	saprotrofní, patogenní	Darby a Kaplan (1968)
<i>Aspergillus niger</i>	půda, kontaminace potravin	Darby a Kaplan (1968)
<i>Aspergillus terreus</i>	saprotrofní, půda	Boubendir (1993)
<i>Aspergillus versicolor</i>	půda, rostlinný opad, plísňe ve vnitřním prostředí	Darby a Kaplan (1968)
<i>Aureobasidium pullulans</i>	půda, voda, vzduch	Darby a Kaplan (1968)
<i>Chaetomium globosum</i>	půda, rostliny, sláma, hnůj	Darby a Kaplan (1968)
<i>Penicillium funiculosum</i>	půda, rezidua obilovin	Darby a Kaplan (1968)
<i>Trichoderma</i> sp.	půda	Darby a Kaplan (1968)
Polyesterový polyuretan		
<i>Aspergillus fumigatus</i>	půda	Osman et al. (2018)
<i>Bionectria</i> sp. E2910B	endofyt	Russel et al. (2011)
<i>Chaetomium globosum</i>	rostliny, půda, sláma, hnůj	Boubendir (1993)
<i>Cladosporium</i> sp.	na rostlinách, některé druhy: patogeny rostlin, paraziti hub	Crabbe et al. (1994)
<i>Curvularia senegalensis</i>	rostlinný patogen	Crabbe et al. (1994)
<i>Fusarium solani</i>	půda, rostliny	Crabbe et al. (1994)
<i>Lasiodiplodia</i> sp. E2611A	endofyt	Russel et al. (2011)
<i>Mucormycotina</i> sp.		Cosgrove et al. (2010)
<i>Pestalotiopsis microspora</i> E3317B	endofyt	Russel et al. (2011)
<i>Pestalotiopsis microspora</i> E2712A	endofyt	Russel et al. (2011)
<i>Pleosporales</i> sp. E2812A	endofyt	Russel et al. (2011)
<i>Trichosporon multisporum</i>		Cosgrove et al. (2010)
Polyetherový polyuretan		
<i>Exophiala jeanselmei</i> REN-11A	půda, rostliny, voda	Owen et al. (1996)

Biodegradabilní PUR je možné syntetizovat inkorporací flexibilních segmentů podléhajících hydrolyze, jako je polykaprolakton (PCL), polylaktid, polyglykolid, a poly(alkyl adipát). Často je potřeba vyvažovat mezi biodegradabilitou a potřebnými vlastnostmi polymeru vzhledem k plánovanému využití. Například PCL je alifatický polyester podléhající biodegradaci, ale jeho využití například v obalech je limitováno nízkým bodem tání a nízkým Youngovým modulem (modulem pružnosti v tahu). Pro zlepšení funkčních vlastností je možné zavést do polyesterů tereftalové jednotky, které na jedné straně zlepšují mechanické a termické vlastnosti, na straně druhé snižují biodegradabilitu (Maafi et al., 2010). Pro polyesterové PUR je možné také využít biodegradabilní polyesterové segmenty, jako je kyselina mléčná (Härkönen et al., 1995; Owen et al., 1995), poly(3-hydroxybutyrát) (Hori et al., 1992) a polyethylen adipát (Teramoto et al., 2010). Přírodní polymery obsahující více hydroxylových skupin je možné využít pro přípravu polyolů na syntézu nových PUR. Ge et al. (2000) využili pro přípravu částečně biodegradovatelných materiálů kůru ze stromu *Acacia mearnsii* a kukuřičný škrob, které rozpouštěli ve směsi polypropylenglycolu, glycerolu a kyseliny sírové. Po 6 měsících v půdě došlo u materiálu obsahujícího 30 % kůry k úbytku hmotnosti přibližně o 15 %, u materiálu obsahujícího 15 % kůry a 15 % kukuřičného škrobu došlo k úbytku přibližně o 20 %. Přítomný škrob byl rychleji rozkládán půdními mikroorganismy. Yao et al. (1996) upozorňují na vliv přítomnosti škrobu na biodegradabilitu PUR, zejména s ohledem na zemědělské aplikace. Biodegradabilita nově syntetizovaného materiálu však nebyla testována. Škrob jako aditivum plastů na ropné bázi je konzumován mikroorganismy, čímž urychluje dezintegraci a fragmentaci polymerního řetězce. Tento proces popsali Siracusa et al. (2008) pro polymery využívané jako obalové materiály, nicméně stejný proces můžeme předpokládat i při biodegradaci PUR.

V posledních letech stoupá snaha využívat pro syntézu nových materiálů polyoly z recyklovaného PUR, zejména pružných pěn, a polyoly z obnovitelných zdrojů. Mezi využitelné obnovitelné zdroje polyolů patří například rybí, ricinový (Beneš et al., 2012a) a řepkový olej (Horák a Beneš, 2015). U PUR, stejně jako u dalších reaktoplastů, není možná recyklace přetavením polymeru, jako například u polyethylenu (PE) nebo polypropylenu (PP). Pro recyklaci PUR se využívá fyzikálních a chemických procesů. Během fyzikální recyklace rigidních a flexibilních pěn je materiál rozemlet na malé fragmenty, které se přidávají do nově syntetizovaného PUR. Namletý materiál je rovněž možné využít pro záchyt ropného znečištění na hladině moří (Behrendt a Naber, 2009). Cílem chemické recyklace je získání recyklovaných polyolů využitelných pro syntézu nových PUR (Beneš et al., 2012b). Jako první byla pro chemickou recyklaci PUR využita

v 60. letech 20. století hydrolyza. Mezi další chemické reakce recyklace PUR patří alkoholýza, acidolýza, aminolýza, alkalická hydrolyza, glykolýza a kombinace reakcí (Behrendt a Naber, 2009). Dnes je hojně využíváno procesu glykolýzy, kdy je materiál zahříván na vysoké teploty (200-250 °C) v přítomnosti glykolů a dochází k jeho dekompozici transesterifikačními reakcemi (Beneš et al., 2007; Beneš et al., 2012b).

2.2 Metody stanovení biodegradovatelnosti

Pro srovnání výsledků různých studií jsou potřebné mezinárodní standardy, které stanovují experimentální podmínky. V souvislosti s degradací plastů je třeba zmínit tyto mezinárodní standardy ASTM International: i) **D7444-11** – Standard Practice for Heat and Humidity Aging of Oxidatively Degradable Plastics, ii) **D5338 (ISO 14855)**– Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Materials Under Controlled Composting Conditions, iii) **D5511 (ISO 15985)** – Standard Test Method for Determining Anaerobic Degradation of Plastic Materials Under High-Solids Anaerobic-Digestion Conditions, iv) **D5988-03 (ISO 17556)** - Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation in Soil of Plastic Materials or Residual Plastic Materials After Composting.

Poslední zmíněná metoda D5988-03 (ISO 17556) se ukázala podle řešerše i praktického pokusu v rámci méj bakalářské práce (Tošovská, 2016) jako vhodný postup, s ohledem na simulaci reálných podmínek, pro testování biodegradovatelnosti lehčených PUR využívaných jako nosiče feromonů v pachových ohradnicích v zemědělské krajině. Tato metoda umožňuje determinovat stupeň aerobní biodegradace syntetických plastových materiálů nebo plastových residuálních materiálů při kontaktu s půdou nebo směsí půdy a kompostu za laboratorních podmínek. Produkce CO₂ vznikajícího při rozkladu organické hmoty mikroorganismy je funkcí času, po který je vzorek vystaven kontaktu s půdou nebo kompostem. Alternativou je měření spotřeby kyslíku potřebného pro biochemickou přeměnu vzorku (Biochemical oxygen demand - BOD). Je měřeno množství kyslíku potřebného pro udržení konstantního obsahu plynu v respirační nádobě nebo změna v obsahu a tlaku (případně kombinace obojího). Míra biodegradace je vyjádřena v procentech porovnáním BOD s teoretickou spotřebou kyslíku (Theoretical oxygen demand - ThOD). Při tomto postupu musí být brán v potaz vliv nitrifikace. Tato metoda je určena pro všechny typy plastů, které neinhibují mikroorganismy v půdě.

V makromolekulární chemii se obvykle pro ověření biodegradovatelnosti materiálu využívá stanovení úbytku hmotnosti a změn mechanických vlastností (pevnost v tahu, Youngův modul a prodloužení při přetržení). Dále jsou využívány skenovací elektronový mikroskop (SEM), termogravimetrická analýza (TGA), analýza uvolněných plynů (EGA), spektroskopie s nukleární magnetickou rezonancí (NMR) a infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FT-IR) (Urgun-Demirtas et al., 2007; Gómez et al., 2014) . Pro hodnocení struktury je dále možné využít rentgenovou difrakci (XRD), kterou se stanoví zastoupení amorfni a krystalické fáze (Sarkar et al., 2006). Zmíněné metody mohou např. navazovat na vystavení zkoumaných materiálů působení přirozeného společenstva mikroorganismů v půdě po určitý časový úsek nebo působení specifických mikroorganismů v minerálním médiu (Dutta et al., 2010). Zřídka dochází k testování mineralizace, která ověří míru rozložení materiálu až na CO₂ a H₂O, případně CH₄. Přehled používaných testů biodegradability PUR v půdě a podobném prostředí je uveden v Tab. 3. Dále byla do Tab. 3 zařazena práce Rattanapan et al. (2016), která se netýká testů v půdním prostředí, ale jako jedna z mála testuje mineralizaci materiálu.

Tab. 3: Metody využívané pro testování biodegradability PUR v půdě a podobném prostředí

Typ PUR-pěny	Biodegradační test	Analytické ověření biodegradability	Zdroje
Obsahující zkapalněnou kůru <i>Acacia mearnsii</i> a kukuřičný škrob	Biodegradace v půdě, 6 měsíců, podmínky nespecifikovány	Úbytek hmotnosti	Ge et al. (2000)
Obsahující zkapalněnou kůru <i>Acacia mearnsii</i> a kukuřičný škrob	Lesní půda v laboratorních podmínkách, kostičky PUR (2x2x2 cm ³), zvlhčení půdy, okolní vlhkost 37-92 %, teplota 20-35 °C, 6 měsíců	Úbytek hmotnosti, SEM, FT-IR, testováno 1x měsíčně	Ge et al. (2002)
Syntéza z polyolu ze zkapalněného odpadního papíru	Tlející listí, 30 °C, vlhkost 80 %, 6 měsíců	Úbytek hmotnosti	Lee et al. (2002)
Na bázi polyesteru	Půda (John Innes compost č. 2), 15-100 % WHC, 50x90x3 mm ³ , 20 ± 5 °C, 44 dní	SEM, pevnost v tahu, identifikace mikroorganismů	Barratt et al. (2003)
Na bázi polyetheru a aromatického polyesteru	Třepací baňka (kalové inokulum), kontinuální reaktor (inokulum z anaerobní digesce/ bakteriální suspenze ze skládkové půdy), půdní experiment v lab.podmínkách (půda ze skládky, 25 °C, 10 týdnů)	Úbytek hmotnosti, síla tahu, FT-IR, růst mikroorganismů	Urgun-Demirtas et al. (2007)
Syntéza z polyolu získaného zkapalněním pšeničné slámy	Půda (blíže nespecifikováno), 12 měsíců	Úbytek hmotnosti, SEM	Wang et al. (2007)
PUR modifikovaný epoxidovou a melaminformaldehydovou pryskyřicí	Půda ze 3 lokalit (Indie), vnější podmínky, pravidelné vlhčení, 6 měsíců; kultivace <i>Pseudomonas aeruginosa</i> v médiu	Úbytek hmotnosti, FT-IR, TGA, SEM, mechanické vlastnosti (test v půdě); absorbance (test v médiu)	Dutta et al. (2010)
Syntéza z polyolu získaného zkapalněním dřeva, na bázi polyetheru	Půda, 12 měsíců, 5x5x1 cm ³ , 25-35 °C, obsah vody 30 %, pH 6,7	FT-IR, úbytek hmotnosti	Zhang et al. (2013)
Syntéza z polyolu na glycerové a ropné bázi	Biodegradace v půdě (ASTM D5988-03) 320 dní, kompostování (ASTM D5338-98) 50 dní, anaerobní digesce (ASTM D5511-02) 105 dní	SEM, TGA, EGA-MS, FT-IR, produkce CO ₂ a CH ₄	Góméz et al. (2014)
PUR na přírodní bázi z kaučuku a PCL diolu	Biodegradace - Sturm test (OECD 301 B), mikroorganismy v médiu, 22 ± 2 °C, 60 dní	Produkce CO ₂	Rattanapan et al. (2016)

Pevnost v tahu je hojně používána jako citlivý indikátor degradace plastů, neboť při štěpení intramolekulárních vazeb dochází ke změně mechanických vlastností materiálu (Dale a Squirrell, 1990). Metoda však nedokáže stanovit, zda došlo k mineralizaci materiálu.

TGA je technika, ve které je hmotnost polymeru měřena jako funkce teploty nebo času v teplotním programu v kontrolované atmosféře. Rozsah teplot se obvykle pohybuje v rozmezí okolní teploty až 1000 °C. Atmosféra může být inertní (dusík, argon, helium), oxidační (vzduch nebo kyslík) nebo redukční (8-10 % vodíku v dusíku). TGA umožňuje získat informaci o složení a termální stabilitě polymeru. Podle úbytku hmotnosti v určitém teplotním rozmezí lze rozeznávat složení testovaného materiálu. V rozmezí okolní teploty až 300 °C je úbytek způsoben těkavými látkami jako je absorbovaná vlhkost, zbytky rozpouštědel, nízkomolekulární aditiva nebo oligomery. Mezi 100 a 250 °C dochází ke ztrátám v podobě reakčních produktů jako je voda a formaldehyd. Mezi 200 a 800 °C se projevuje štěpení polymerního řetězce a vznik degradačních produktů. Kinetika těchto procesů může predikovat termální stabilitu a stárnutí materiálu vlivem termálních a termooxidativních procesů (Prime et al., 2009).

FT-IR je nedestruktivní spektrální technika využívající interakce hmoty s elektromagnetickým zářením v infračervené oblasti (IČ). Technika poskytuje kvalitativní a kvantitativní informace o struktuře anorganických a organických vzorků díky tzv. „otiskům prstů“ („fingerprints“) funkčních skupin ve střední IČ oblasti (4000-400 cm^{-1}). Vzorky mohou být analyzovány v plynném, kapalném a pevném skupenství. Při průchodu záření materiálem je část záření o určité energii absorbována. Energie v určitém píku IČ spektra odpovídá vibrační energii přítomných funkčních skupin, při níž jsou chemické vazby ohýbány (tzv. deformační vibrace) nebo se mění jejich délka (tzv. valenční vibrace). Valenční vibrace bývá symetrická (v rovině) nebo asymetrická (mimo rovinu). FT-IR analýza je založena na interferometrii, čímž se liší od klasické disperzní IČ spektroskopie. Získaný interferogram je převeden z časové domény do frekvenční pomoci Fourierovy transformace, matematického algoritmu (Rees, 2010).

2.3 Rizika fragmentace lehčených polyuretanů pro biosféru

Riziku mikroskopických částic plastů označovaných jako mikroplasty (MPs) se věnují především výzkumy marinních ekosystémů. Podle amerického Národního úřadu pro oceán a atmosféru (National Oceanic and Atmospheric Administration, NOAA) se jedná o částice < 5 mm. Částice se liší materiálem a tvarem, ale nejčastěji se vyskytují ve formě vláken (Claessens et al., 2011; Thompson et al., 2004). Nejvíce produkovanými plasty v Evropě jsou PE, PP a PVC (PlasticsEurope, 2017). Tyto materiály jsou proto nejčastěji zmiňovanými v publikacích týkajících se MPs. MPs se v prostředí vyskytují jako primární nebo sekundární částice, vznikající rozpadem plastů o větších rozměrech. Zdrojem primárních MPs jsou například některé kosmetické přípravky (Cole et al., 2011).

Hlavními abiotickými faktory ovlivňujícími biodostupnost MPs jsou i) velikost, ii) hustota, iii) abundance a iv) barva (Wright et al., 2013). Díky své velikosti splývají MPs s jemnější frakcí sedimentu a některými planktonními organismy a stávají se tak potenciálně biodostupnými pro řadu organismů. MPs mohou být zkonsumovány filtrátory, detritivory a planktivory (Browne et al., 2008; Graham a Thompson, 2009; Murray a Cowie, 2011; Thompson et al., 2004). Kromě přímé konzumace mohou MPs vstupovat do potravního řetězce též adsorbované na organismech. U vodních řas rodu *Chlorella* a *Scenedesmus* byla zaznamenána adsorpce 20nm nanoplastů (NPs) s pozitivním nábojem na buňky řas vlivem elektrostatických sil. Jako důsledek adsorpce na povrch buněk byla zaznamenána snížená fotosyntetická aktivita a nárůst reaktivních forem kyslíku způsobujících oxidativní stres (Bhattacharya et al., 2010). Nízkohustotní plasty jako je PE a PP mají nižší hustotu než voda a po vstupu do vodního ekosystému setrvávají na hladině. Postupně dochází k jejich obrůstání biofilmem, který je příčinou ztráty hydrofobicity a postupného klesání pod vodní hladinu (Lobelle a Cunliffe, 2011). Odstranění biofilmu vyššími organismy může vést k opětovnému návratu MPs na hladinu (Andrady, 2011). Vysokohustotní plasty jako je PVC naopak klesají ke dnu a stávají se tak dostupné pro bentická společenstva. Barva MPs ovlivňuje zejména predátory mezi rybami, kteří se živí zooplanktonem a selektivně si vybírají částice podobné barvy (Wright et al., 2013). Mezi biologické faktory ovlivňující biodostupnost MPs v mořích patří inkorporace částic do agregátů tvořených organickým materiálem. V této formě mohou MPs vstupovat do potravního řetězce. Vyloučené MPs se dále stávají potenciální potravou pro detritivory. Další významnou roli hraje bioturbace způsobená například činností zástupce mnohoštětinatců *Arenicola marina*, při které se MPs dostávají do hlubších vrstev sedimentu. Důkazy o možné konzumaci MPs

vodními živočichy pocházejí z řady laboratorních a terénních výzkumů nebo jejich kombinace (Wright et al., 2013). Při laboratorní studii zástupce supralitorálních organismů *Talitrus saltator* byla pozorována konzumace plastových kuliček s průměrem 10-45 μm smíchaných s potravou (10 hm. %). Analýza volně žijících jedinců pomocí FT-IR pak potvrdila příjem MPs v přírodních podmínkách (Ugolini et al., 2013). Lusher et al. (2013) pozorovali přítomnost MPs u 36,5 % z 504 testovaných ryb v Lamanšském průlivu, celkem z 10 druhů. Koncentrace činila $1,9 \pm 0,1$ částic na zasaženého jedince. Nejčastějším materiálem byl polyamid a viskóza, které se používají v rybářském průmyslu. Boerger et al. (2010) pozorovali v severní části Tichého oceánu v oblasti tzv. Velké tichomořské odpadkové skvrny přítomnost MPs přibližně u 35 % chycených ryb. V průměru se nacházelo v zasaženém jedinci $2,1 \pm 5,78$ částic, nejčastěji ve velikosti 1-2,79 mm. Byla však pozorována přítomnost i několika centimetrových fragmentů. U nejvíce zastoupeného druhu *Myctophum aurolanternatum* (Myctophidae), který tvořil 69 % odchycených ryb, bylo pozorováno dokonce $6 \pm 8,99$ částic na jednoho jedince. Přítomnost plastů byla pozorována také u živočichů na vyšší trofické úrovni, například u tuleňů a lvounů (Eriksson a Burton, 2003; McMahon et al., 1999).

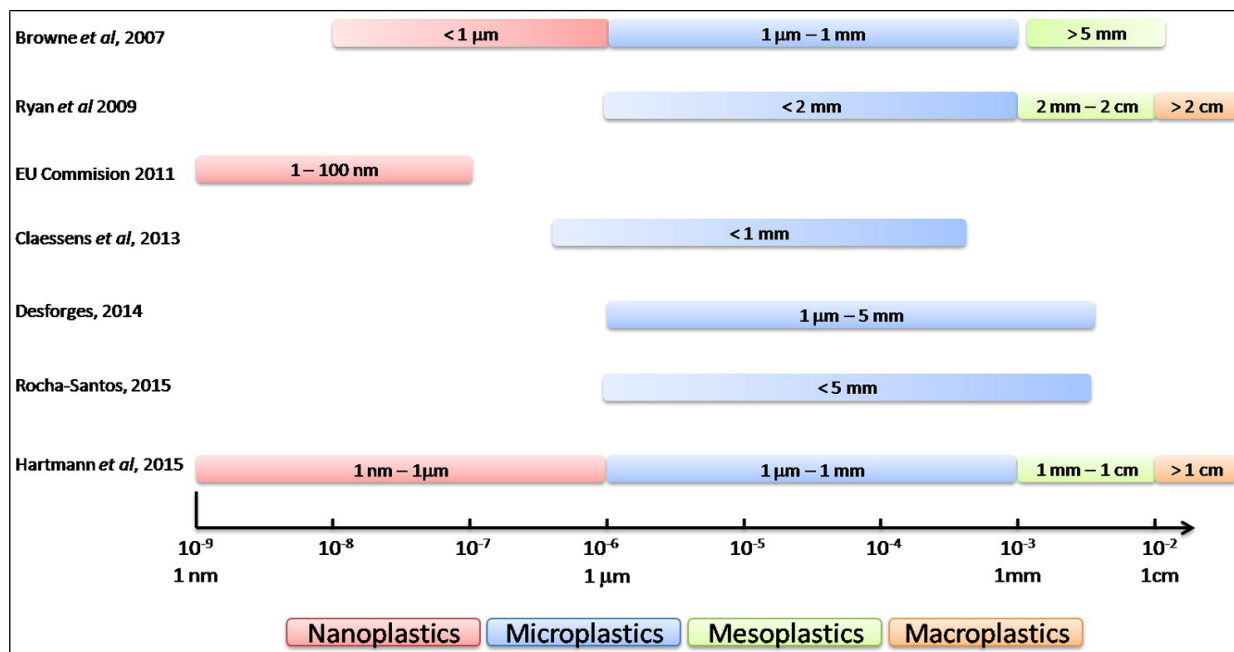
Andrady (2011) poukazuje na chybějící enzymatické dráhy pro rozklad plastů u filtrátorů a nepravděpodobné strávení či absorpci, čímž mohou být považovány za inertní materiál. Část plastů může být z těla vyloučena. Pozorováním mořského mnohoštětinatce *Arenicola marina* bylo zjištěno, že část MPs byla během vylučování z těla odstraněna (Thompson et al., 2004). Ke stejným výsledkům dospěli také Graham a Thompson (2009) při sledování sumýšů v laboratorních podmínkách. Nicméně, průchod buněčnou membránou byl zaznamenán například v laboratorních podmínkách u slávek jedlých (*Mytilus edulis*), kde byla pomocí fluorescence a konfokální mikroskopie popsána přítomnost $3\mu\text{m}$ a $9,6\mu\text{m}$ polystyrenových (PS) částic v hemolymfě a hemocytech tři dny po tříhodinové expozici. Pozorované MPs persistovaly v oběhovém systému celkem 48 dní. Nebyly však pozorovány signifikantní toxikologické efekty (Browne et al., 2008). Naopak po expozici MPs tvořenými vysokohustotním polyethylenem (HDPE) ve velikosti $< 80 \mu\text{m}$ byly u stejného druhu (*Mytilus edulis*) pozorovány histologické změny v tkáních a zánětlivé reakce (von Moos et al., 2012). Expozicí MPs u zástupce mořských mnohoštětinatců *Arenicola marina* došlo ke snížení energetických zásob (Wright, 2013).

Konzumací filtrátory vstupují MPs snadno do potravních sítí. Toto riziko se netýká jen vodních ekosystémů, ale i pedosféry, kde žije řada filtrátorů, například nálevníci (Ciliophora) a vířníci (Rotifera). Částice $< 1 \text{ mm}$ mohou být půdními organismy zkonsumovány (Rillig, 2012). U větších terestrických organismů mohou MPs vstupovat do trávicího traktu spolu

s organickým materiálem, kterým se organismy živí. V poslední době se výzkum zabýval vlivem MPs na žížaly, které zásadně ovlivňují funkce půdy. Bylo zjištěno, že MPs z povrchu půdy mohou procházet trávicím traktem žížal, akumulovat se v jejich výměšcích a stávat se tak součástí chodeb. V případě anektických žížal *Lumbricus terrestris*, které budují až 1 m hluboké chodby, dochází k výrazné bioturbaci, transportu MPs do hlubších půdních horizontů a k potenciálnímu riziku kontaminace podzemní vody. Jedinci byli exponováni PE-MPs (< 150 μ m). Experimentálně bylo zjištěno, že dochází k selektivní ingesci MPs. Zatímco opad obsahoval 50 % MPs < 50 μ m, ve výměšcích tvořila tato velikostní frakce podíl 90 %. Kromě ovlivnění půdního ekosystému dochází k přímému ovlivnění exponovaných jedinců. Po vyloučení MPs ve výměšcích zůstala část MPs v trávicím traktu žížal (0,45 \pm 0,25 hm. %). Po 14denní expozici nebyla pozorována mortalita jedinců, při 60denní expozici docházelo k 8% a 25% mortalitě při koncentracích MPs v opadu 28 a 60 hm. %. Rychlost růstu byla signifikantně snížena při koncentracích 28, 45 a 60 % MPs v opadu oproti kontrole (0 %) a koncentraci 7 %. Vzhledem k transportu opadu žížalami do hlubších vrstev půdy odpovídaly výše zmíněné koncentrace MPs 0,2; 0,4; 0,5 a 1,2 % v celém půdním mesokosmu (Huerta Lwanga et al., 2016). U epigeických žížal *Eisenia andrei* exponovaných PE-MPs (250-1000 μ m) promíchaným s půdou v nižších koncentracích (0,00625; 0,0125; 0,025; 0,05 a 0,1 hm. %) nebyly pozorovány signifikantní rozdíly v přežívání a váze dospělců po 28denní expozici. Po 56denní expozici nebyly pozorovány signifikantní rozdíly v počtu juvenilů. Nicméně, byly pozorovány poškození trávicího traktu a imunologická odpověď na přítomnost MPs (Rodriguez-Seijo et al., 2017). Další klíčovou roli pro transport MPs z povrchu půdy hrají chvostokoci. Maaß et al. (2017) pozorovali u zástupců *Folsomia candida* a *Proisotoma minuta* translokaci močovinoformaldehydových částic (< 100 μ m a 100-200 μ m).

Podle literárních zdrojů neexistuje dosud studie zabývající se měřením koncentrací MPs v půdách. Chybí tak informace o relevantních environmentálních koncentracích, ze kterých vycházejí studie testující expozici půdních organismů. Za environmentálně relevantní považují Huerta Lwanga et al. (2016) koncentrace MPs 0,2; 0,4; 0,5 a 1,2 hm. %. Tyto koncentrace odpovídaly celému půdnímu mesokosmu. Autoři další expoziční studie (Rodriguez-Seijo et al., 2017) vycházeli ze studie Carson et al. (2011), podle které dosahují koncentrace MPs (< 10 mm) v silně zasažených plážových oblastech 3 hm. %. Nejvyšší expoziční koncentrace (0,1 hm. %) byla považována pro MPs menší frakce (< 1 mm) za environmentálně relevantní.

Nanoplasty (NPs), definované jako fragmenty plastů < 100 nm (Koelmans et al., 2015), jsou předmětem výzkumu posledních několika let. Klasifikace NPs podle velikosti se však může v jednotlivých publikacích lišit, stejně jako nepanuje úplná shoda na velikostním rozmezí MPs (Obr.1).



Obr. 1: Velikostní rozmezí plastů podle autorů (převzato z da Costa et al. (2016))

Existuje již řada studií potvrzujících přestup NPs z prostředí do těla organismů a jejich účinky. Latexové NPs (39,4-42 nm) dokázaly překonat hematoencefalickou bariéru u dospělců sladkovodních ryb *Oryzias latipes* (Kashiwada, 2006). Podle výzkumu Chen et al. (2011) docházelo k ovlivnění činnosti zástupců mořských producentů *Amphora sp.*, *Ankistrodesmus angustus* a *Phaeodactylum tricornutum* přítomností PS-NPs (23 nm). Fytoplankton uvolňuje během fotosyntézy rozpuštěný uhlík ve formě exopolymerních látek. V přítomnosti NPs docházelo k urychlení přeměny koloidních polymerů na mikrogely, tedy přeměnám forem uhlíku. Besseling et al. (2014) publikovali jako první efekty PS-NPs (~70 nm) na populaci řasy *Scenedesmus obliquus* a korýše *Daphnia magna*. U populace řas byla pozorována snížená míra růstu a koncentrace chlorofylu. Efekty NPs u perlooček byly charakterizovány menší velikostí těla a změnami v reprodukci (menší počet a velikost juvenilů, přítomnost malformací). U fluorescenčních PS-NPs (100 nm) byla pozorována nižší míra vyloučení z těla jedinců *Daphnia magna* oproti MPs (2 μm). Po 21denní expozici nebyl pozorován vliv na reprodukci ani u jedné velikostní skupiny plastů.

Nicméně, u NPs, na rozdíl od MPs, bylo pozorováno snížení rychlosti krmení o 21 %. NPs jsou tedy potenciálně rizikovější než větší částice (Rist et al., 2017). Pomalejší vylučování NPs (50 nm) oproti MPs (500 nm) bylo pozorováno také u embryí sladkovodních ryb *Oryzias latipes* vystavených působení fluorescenčních latexových částic (Manabe et al., 2011). Dos Santos et al. (2011) publikovali vstup NPs do buněk v různých typech buněčných kultur. U slávek jedlých (*Mytilus edulis*) a ústřic (*Crassostrea virginica*) byl zaznamenán delší retenční čas v trávicím ústrojí u PS-NPs (100 nm) oproti 10 μm MPs, indikující vstup NPs do trávicí žlázy a možný transport do vyšších trofických úrovní. Agregované NPs vstupovaly snadněji do trávicího ústrojí než dispergované částice (Ward a Kach, 2009). Hemocyty zástupce *Mytilus galloprovincialis* byly vystaveny různým koncentracím 50nm částic z PS-NH₂ (1, 5, 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Pomocí průtokové cytometrie byla u nejvyšší koncentrace zaznamenána indukce apoptózy. V závislosti na dávce byl pozorován pokles fagocytózy a nárůst lysozymové aktivity. Přítomnost NPs také stimulovala nárůst extracelulárních forem kyslíku a oxidu dusnatého (Canesi et al., 2015). Della Torre et al. (2014) porovnávali vliv PS-NH₂ a PS-COOH na embrya ježovky dlouhoostné (*Paracentrotus lividus*). U PS-COOH nebyla pozorována cytotoxicita až do koncentrace 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, zatímco působením PS-NH₂ docházelo k řadě vývojových vad (EC50 3,85 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 24 h, EC50 261 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 48 h). Vliv na metabolismus a chování ryb (*Carassius carassius*) byl prokázán u PS-NPs (24 a 27 nm) přenášených potravním řetězcem od producentů (*Scenedesmus* sp.), přes primární konzumenty (*Daphnia magna*) až do ryb (Cedervall et al., 2012; Mattsson et al., 2014). U larev žábřonožky *Artemia franciscana* nedocházelo po 48hodinové expozici PS-NPs k úhynu jedinců, nicméně byly pozorovány subletální efekty. PS-COOH částice se hromadily v lumenu trávicího ústrojí a blokovaly příjem potravy. PS-NH₂ se hromadily uvnitř larev, ale také docházelo k adsorpci na anteny a přívěsky, což zřejmě ztěžovalo larvám pohyb (Bergami et al., 2016).

2.4 Adsorpce organických polutantů na povrchu plastů

MPs nepředstavují pro organismy pouze riziko spojené s mechanickým působením, ale díky svému nepolárnímu charakteru a velkému specifickému povrchu mohou přenášet do organismů adsorbované organické polutanty. Mato et al. (2001) demonstrovali polním adsorpčním experimentem signifikantní, v čase stabilní nárůst koncentrací polychlorovaných bifenyly (PCB) a dichlordifenyldichlorethenu (DDE) na čistých PP-peletkách. Po 6denním experimentu byly koncentrace PCB a DDE o 2 řády nižší než u PP-peletek sesbíraných v testovaném prostředí. Z výsledků vyplývá, že během 6 dní nebylo dosaženo rovnovážného stavu. Vždy tedy záleží na délce expozice. Podle Gioia et al. (2008) dosahovala rozpuštěná fáze v Atlantském oceánu koncentrací $\Sigma_{27}\text{PCB}$ 0,24- 5,7 $\text{pg}\cdot\text{L}^{-1}$. Lohmann et al. (2012) dospěli k podobným výsledkům (Tab. 4). V Tichém oceánu naměřili Zhang a Lohmann (2010) v rozpuštěné fázi $\Sigma_{15}\text{PCB}$ 3-22 $\text{pg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Tab. 4). V lokalitě Keihin Canal v Tokyjském zálivu byly na sesbíraných PP-peletkách z pobřeží naměřeny koncentrace $\Sigma_{23}\text{PCB}$ až 117 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$. V mořské vodě ze stejné lokality byly naměřeny koncentrace $\Sigma_{23}\text{PCB}$ v rozpuštěné a partikulované řádově nižší (Tab. 4) (Mato et al., 2001). Docházelo tedy k zakoncentrování sledovaných kongenerů PCB na PP-peletkách.

Koncentrace persistentních organických polutantů (POPs) na MPs mají vysokou variabilitu nejen mezi lokalitami (Tab. 5), ale i v rámci částic ze stejné lokality. Celková koncentrace PCB na peletkách (PE+PP) odebraných z pobřeží na lokalitě Kasai Seaside Park (Japonsko) dosahovala hodnot < 28-2300 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$, ale 50 % celkového množství PCB bylo obsaženo v jediné peletce (Endo et al., 2005). Ve volném oceánu převládají spíše tri- a tetrachlorované kongenery PCB. Selektivní distribuce kongenerů je způsobená těkavostí zástupců s menším množstvím atomů chlóru a atmosférickým transportem na volné moře (Hirai et al., 2011). Rios et al. (2010) detekovali při analýze plastů ze severní oblasti Tichého oceánu, v místě tzv. Velké odpadkové skvrny, s nejvyšším zastoupením dichlorované, dále pak tri-, tetra- a pentachlorované kongenery PCB. Díky hydrofobnějším vlastnostem byly u PE fragmentů plastů a peletek pozorovány vyšší koncentrace PCB než u fragmentů a peletek z PP (Tab. 5) (Endo et al., 2005; Hirai et al., 2011; Mato et al., 2001). Tvarová heterogenita a míra zvětrávání způsobují velkou variabilitu v koncentracích PCB (Hirai et al., 2011).

Dichlordifenyltrichlorethan (DDT) a jeho rozkladné produkty, DDE a dichlordifenylidichlorethan (DDD), indikují historické a současné úniky do životního prostředí v závislosti na jejich poměru. DDT je typické pro oblasti, kde je využíváno jako prevence malárie, naopak rozkladné produkty dokládají delší dobu setrvání v životním prostředí a rozklad DDT (Hirai et al., 2011).

Alkylfenoly, nonylfenoly (NP) a oktylfenoly (OP) detekované na MPs pocházejí z aditiv a/nebo mořské vody. Vznikají degradací z alkylfenol polyetoxylátů, které se využívají jako průmyslové prací prostředky, a dostávají se do moře ústím řek a odtoky z čistíren odpadních vod. Vzhledem k častému využívání aditiv na bázi NP a jejich nízkým koncentracím ($0,002-0,15 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$) v mořské vodě, kterou uvádí Kannan et al. (1998), není sorpce z vody považována za hlavní zdroj NP na MPs na otevřeném moři a v odlehlých oblastech pobřeží. OP jsou využívány jako aditiva spíše výjimečně. U vzorků s nižšími koncentracemi NP a zároveň nízkým poměrem NP/OP, který je u plastů s NP aditivou vysoký, se předpokládá adsorpce surfaktantů z vodního prostředí (Hirai et al., 2011).

Bromované zpomalovače hoření (BFRs) jsou další skupinou polutantů využívaných jako aditiva plastů. Patří sem polybromované difenyletery (PBDEs), hexabromocyklohexan (HBCD) a tetrabromobisfenol A (TBBA). Tyto syntetické látky jsou přidávány do nábytku, textilií, stavebních materiálů a izolací, vybavení motorových vozidel, elektrických a elektronických zařízení. Ve vstupních surovinách pro recyklaci, tvořených elektrickým a elektronickým zařízením, byly naměřeny koncentrace od desítek do tisíců $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ BFRs (Morf et al., 2005). U PBDEs rozeznáváme podle počtu brómů (1-10) a jejich konstituce 209 kongenerů, z nichž přibližně 30 se běžně vyskytuje ve vzorcích ze životního prostředí. Jedná se o látky perzistentní a hydrofobní, rozdělovací koeficient oktanol/voda (K_{ow}) leží v rozmezí $10^{5,03}$ (di-BDE) až $10^{9,97}$ (deka-BDE) (Mizukawa et al., 2009). Podle Hirai et al. (2011) tvořil dekabromovaný kongener BDE209 ve většině vzorků 97 % celkové koncentrace, s výjimkou jednoho vzorku z otevřeného oceánu (67 %). Kongener BDE209 podle analýzy mořské vody, sedimentu a organismů z nižší trofické úrovně v Tokyjském zálivu výrazně dominoval v partikulované mořské vodě a v sedimentu byl detekován zcela výlučně (Mizukawa et al., 2009).

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU) se zpravidla vyskytují ve větších koncentracích v oblastech ovlivněných antropogenní činností (Tab. 5) (Saha et al., 2009; Hirai et al., 2011). Rozlišují se dvě skupiny PAU, pyrogenní a petrogenní. Petrogenní původ je obvykle charakterizován sloučeninami s nižší molekulovou hmotností, jako naftalen, fenantren a jejich alkylované formy. Pro pyrogenní původ sloučenin je naopak typická vyšší molekulová hmotnost. Při analýze je pak využíván H/L poměr („higher-molecular-weight“ pro benzo[a]antracen-coronen/„lower-molecular-weight“ pro fenantren-pyren) jako indikátor typu zdroje PAU (Hirai et al., 2011). Při analýze plastových fragmentů z otevřeného oceánu a pláží byly detekovány PAU především s nižší molekulovou hmotností indikující petrogenní zdroje PAU. H/L poměr nabýval hodnot $0,32 \pm 0,49$ (Hirai et al., 2011). Podle Saha (2008) nabýval poměr H/L u ropy hodnoty $0,19 \pm 0,07$, u produktů spalování dřeva a uhlí byly hodnoty vyšší, $2,17 \pm 1,34$ a $6,99 \pm 9,92$. K rozdělení na zmíněné typy zdrojů se také využívá poměrů mezi alkylovanými a rodičovskými PAU. Saha et al. (2009) využívali poměrů methylfenantren/fenantren (MP/P), methylpyren+methylfluoranten/pyren+fluoranten (MPy/Py) a methylchrysen+methylbenz[a]antracen/chrysen+benz[a]antracen (MC/C). Z analýzy ropy, automobilových výfukových zplodin a produktů spalování uhlí a dřeva byly zjištěny prahové hodnoty: 0,4 (MP/P), 0,5 (MPy/Py), 1,0 (MC/C). Všechny produkty spalování měly poměry alkylovaných/rodičovským PAU pod těmito prahovými hodnotami. U fragmentů plastů z volného oceánu je možné předpokládat jejich snadný kontakt s ropnými skvrnami na hladině vody, a proto zde převládá petrogenní původ PAU (Hirai et al., 2011).

PAU patří mezi hojně sledované polutanty také v půdním prostředí. Podle analýz vzorků orné půdy (0-20 cm) v Polsku, odebraných v roce 2005, byly naměřeny koncentrace Σ_{16} PAU mezi 80 a $7264 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (medián $395 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). Převažoval zde pyrogenní původ PAU, s minimálním příspěvkem spalování tekutých paliv a emisí z dopravy. Výsledky nezahrnovaly přesné koncentrace PAU s nízkou molekulární hmotností, neboť pravděpodobně docházelo k jejich ztrátám během skladování půdy před analýzou (Maliszewska-Kordybach et al., 2008). Podobné výsledky uvádějí také Desaulles et al. (2008), kde byly ve švýcarských půdách (0-20 cm) v rámci Swiss Soil Monitoring Network naměřeny koncentrace Σ_{16} PAU mezi 32 a $8465 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (medián $163 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). U orných půd dosahoval medián hodnoty $219 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Adsorpce PAU, stejně jako ostatních organických polutantů, nebyla u MPs přítomných v půdě dosud sledována.

Tab. 4: Koncentrace organických polutantů v prostředí v rozpuštěné (rozp.) a partikulované (part.) formě

Polutant	Prostředí	Koncentrace (pg·L ⁻¹)	Zdroje	Čísla analyzovaných kongenerů
Σ ₂₉ PCB	Atlantský oc., transekt Německo-Jižní Afrika	0,24-5,7 (rozp.)	Gioia et al. (2008)	18, 22, 28, 31, 44, 49, 52, 53, 70, 74,87,90/101, 95, 99, 105, 110, 118,123, 138, 141, 149, 151, 153/132, 180, 183,187.
Σ _{ICES} PCB		0,071-1,7 (rozp.)		28, 52, 90/101, 118, 138, 153, 180
Σ ₃ PCB	Atlantský oc., transekt Namibia-Barbados-Rhode Island	< 1 pg (rozp.)	Lohmann et al. (2012)	52, 101, 118
Σ _{ICES} PCB	Tichý oc., S. Polokoule	0,2-15 (rozp.)	Zhang a Lohmann (2010)	28, 52, 90/101, 118, 138, 153, 180
Σ _{ICES} PCB	Tichý oc., J. polokoule	0,3-7,8 (rozp.)		3, 8, 18, 28, 44, 52, 66, 101, 118, 138, 153, 180, 189, 206, 209
Σ ₁₅ PCB	Tichý oc., S. polokoule	3-22 (rozp.)		
Σ ₁₅ PCB	Tichý oc., J. polokoule	0,6-16 (rozp.)		
Σ ₂₃ PCB	Tichý oc., Tokyjský záliv	499 (rozp.)	Mato et al. (2001)	8/5, 28, 52, 44, 66/95, 90/101, 110/77,118, 132/153, 105, 138/160, 187, 128, 180, 170/190, 206
Σ ₂₃ PCB		792 (part.)		
Σ PBDE	Tichý oc., Tokyjský záliv	25,5-207 (rozp.)	Mizukawa et al. (2009)	3, 7, 15, 17, 28, 71, 47, 49, 77, 66, 100, 119, 99, 85, 126, 154, 153, 138, 183
NP	Tichý oc., Japonské moře	0,002-0,15 ng·L ⁻¹	Kannan et al. (1998)	

Tab. 5: Koncentrace organických polutantů na povrchu MPs odebraných v pelagiálu, na obydleném (obyd.) nebo neobydleném (neobyd.) pobřeží

Polutant	Druh plastu	Lokalita	Koncentrace (ng·g ⁻¹)	Zdroje	Čísla analyzovaných kongenerů
Σ PCB	PE	pelagiál	3-78	Hirai et al. (2011)	8, 18, 28, 52, 49, 44, 74, 66, 101, 99, 87, 110, 118, 105, 151, 149, 146, 153, 138, 158, 128, 167, 156, 157, 178, 187, 183, 177, 172, 180, 170, 189, 199, 196, 206, 195, 194, 206, 209
	PP	pelagiál	1-4		
	PE	pobřeží - neobyd.	1-61		
	PP	pobřeží - neobyd.	1-102		
	PE	pobřeží - obydl.	2-436		
	PP	pobřeží - obydl.	2-119		
	PP-peletky	pobřeží - obydl.	4-117	Mato et al. (2001)	8/5, 28, 52, 44, 66/95, 90/101, 110/77, 118, 132/153, 105, 138/160, 187, 128, 180, 170/190, 206
Σ PAU	PE	pelagiál	12-868	Hirai et al. (2011)	antracen, fenantren, fluoranten, pyren, benzo[a]antracen, chrysen, benzo[b]fluoranten, benzo[e]pyren, benzo[a]pyren, , perylen, indeno [1,2,3-cd] pyren, benzo[ghi]perylen, coronen
	PP	pelagiál	16-112		
	PE	pobřeží - neobyd.	1-389		
	PP	pobřeží - neobyd.	33-2024		
	PE	pobřeží - obydl.	0-9297		
	PP	pobřeží - obydl.	39-378		
Σ PBDs	PE	pelagiál	0,3-59,1	Hirai et al. (2011)	3, 7, 15, 17, 28, 49, 71, 47, 66, 77, 100, 119, 99, 85, 126, 154, 153, 138, 183, 209
	PP	pelagiál	6,2-9909		
	PE	pobřeží - neobyd.	0,5-6,5		
	PP	pobřeží - neobyd.	0,3-412		
	PE	pobřeží - obydl.	0,02-41,4		
	PP	pobřeží - obydl.	1,4-230		
DDE	PP-peletky	pobřeží - obydl.	0,16-3,1	Mato et al. (2001)	

Sorpce na plasty v nano rozměrech bývá oproti MPs silnější. U PS-NPs byla sorpce 17 sledovaných kongenerů PCB o 1-2 řády silnější oproti PE-MPs. Autoři ji přisuzují vyšší aromaticitě a většímu specifickému povrchu PS-NPs (Velzeboer et al., 2014).

Zejména ve studiích týkajících se mořských ekosystémů je riziko MPs s adsorbovanými polutanty ve vztahu k vodním organismům silně akcentováno. Ryan et al. (1988) objevili u buňáka velkého (*Puffinus gravis*) pozitivní korelaci mezi množstvím zkonsumovaných plastů a koncentrací PCB v tuku ptáků a jejich vejcích. U slávek středomořských (*Mytilus galloprovincialis*) byl pozorován vliv MPs (PE a PS) s adsorbovaným pyrenem, zástupcem PAU. V hemolymfě, žábrách a trávicím ústrojí byla pozorována akumulace pyrenu. Buněčná reakce byla sledována různými přístupy, např. pozorováním imunologických změn, aktivity fagocytózy, acetylcholinesterázy, oxidativního stresu apod. (Avio et al., 2015). Rochman et al. (2014) studovali přítomnost bisfenolu A, alkylfenolů, alkylfenol etoxylátů, PCB a PBDEs v tkáních ryb čeledi lampovníkovitých (Myctophidae), které jsou komerčně využívány jako krmivo pro makrely a tuňáky. Lampovníkovití během noci vertikálně migrují za potravou do epipelagiálu, kde se kromě zooplanktonu, kterým se živí, akumulují rovněž plastové částice. V oblastech s vyšší koncentrací plastu byla pozorována signifikantně vyšší koncentrace PBDEs v tkáních ryb. U ostatních polutantů nebyl tento vztah přítomen. Bakir et al. (2014a) sledovali sorpci a desorpci POPs, konkrétně fenantrenu a 4,4'-DDT na MPs (PVC a PE) v salinitovém gradientu odpovídajícím podmínkám sladkých, brakických a mořských vod. Salinita neměla signifikantní vliv na čas potřebný k ustanovení rovnovážné koncentrace POPs na povrchu MPs a desorpci. S narůstající salinitou však byla pozorována lehce snížená sorpční kapacita pro 4,4'-DDT. Autoři se domnívají, že transport POPs mikroplasty bude více ovlivněn koncentrací kontaminantů ve vodách než měnící se salinitou. Dále Bakir et al. (2014b) sledovali desorpci POPs, konkrétně DDT, fenantrenu, kyseliny perfluoroktanové a di-2-ethylhexyl ftalátu, z MPs v simulovaných fyziologických podmínkách. Desorpce byla specifická pro testované látky a materiály. Rychlost procesu byla vyšší při použití PE oproti PVC. Fyziologické podmínky byly simulovány přítomností střevního surfaktantu, teplotou a pH. Teplotní gradient simuloval studenokrevné a teplokrevné živočichy. U teplokrevných živočichů lze předpokládat vyšší desorpci, kterou také zvyšuje nižší pH a přítomnost střevního surfaktantu v porovnání se slanou vodou.

3 Cíle a hypotézy

Cíle mojí diplomové práce jsou následující:

- 1) Stanovení potenciálu biodegradace PUR standardizovanou metodou ASTM D5988-03 (ISO 17556). Metoda umožňuje, na rozdíl od často využívaných postupů zaměřených na hmotnostní úbytek, stanovení míry mineralizace materiálu až na CO₂ a H₂O;
- 2) Separace produktů rozkladu PUR (reziduí) z půdy dvoustupňovou metodou využívající fluidizace a flotace. Jedná se o upravený postup vycházející z metody separace MPs z oceánských sedimentů (Nuelle et al., 2014) a umožňuje následnou analýzu reziduí po skončení biodegradačního pokusu a další aplikace;
- 3) Analýza PUR pomocí FT-IR před a po biodegradaci v porovnání s abiotickou hydrolyzou;
- 4) Stanovení adsorpce PAU na MPs tvořené 0,8-2mm fragmenty PUR při kontaktu s kontaminovanou půdou. Znalost přestupu PAU na povrch MPs je klíčová s ohledem na častou přítomnost PAU v půdách a možnost jejich transportu potravním řetězcem při konzumaci MPs s adsorbovanými PAU půdními živočichy.

Formulované hypotézy:

- 1) Přítomnost škrobu v PUR urychluje proces biodegradace.
- 2) Pro biodegradaci nových materiálů je klíčová přítomnost esterových a uretanových vazeb.
- 3) Při kontaktu s kontaminovanou půdou dochází procesem adsorpce k zakoncentrování přítomných PAU na povrchu PUR-MPs.

4 Metodika

4.1 Použité chemikálie a přístrojové vybavení

4.1.1 Standardy

Antracen	Sigma-Aldrich, USA
Benzo(a)antracen	Sigma-Aldrich, USA
Benzo(a)pyren	Sigma-Aldrich, USA
Fluoranten	Fluka Chemie GmbH, Švýcarsko
PAU 16, kalibrační	Dr. Ehrenstorfer GmbH, Německo

4.1.2 Chemikálie

Aceton	VWR, USA
Dichlormethan pro HPLC	VWR, USA
Dihydrogenfosforečnan amonný	Lach-Ner, ČR
Dusík (99,99%)	Linde, Německo
Fenolftalein p.a.	Acros Organics, USA
Helium	Linde, Německo
n-Hexan pro HPLC	VWR, USA
Hydroxid draselný p.a.	Penta, ČR
Chlorid barnatý dihydrát p.a.	Lach-Ner, ČR
Chlorid sodný (kuchyňská sůl)	
Isopropanol	VWR, USA
Jodid sodný	Penta, ČR
Kyselina chlorovodíková p.a.	Lach-Ner, ČR
Methyloranž	Lach-Ner, ČR
Sorbent Bio-beads S-X12	BioRad, USA
Tetraboritan sodný (dekahydrát) p.a.	Chemapol, ČR
Tetrahydrofuran	VWR, USA

4.1.3 Přístroje a materiál

Alobal

Analytické váhy Extend

ASE 200

Automatická byreta

Celulóza Technocel 2500

Centrifuga EBA 20

CHNOS analyzátor EA1108

Filtr Acrodisc 25 mm Syringe Filter

(0,2 µm Nylon Membrane)

Filtr Whatman® glass microfiber, GF/A, 60 mm

FT-IR spektrometr Spectrum 100

GC-MS (GC: Trace 1310, MS: ISQ QD)

GPC kolona Omnifit® Glass Column 10x500 mm

Hamiltonova stříkačka (1 mL)

HPLC Waters Alliance 2695

Kolona DB-5 30 m

Kovová síta (< 2 mm)

Kulový mlýn MM 400

Laboratorní nádobí

Lyofilizátor

Kolonky LiChrolut Si (25-40 µm)

Magnetická míchačka Color Squid

Membránová pumpa LABOPORT®

Muflová pec LM 112.10

Pasteurovy pipety

Pipety

pH metr LAB 850

Polyethylenové lahvičky s víčkem

Sartorius, Německo

Dionex, USA

Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co.

KG, Německo

CFF GmbH & Co. KG, Německo

Hettich, Německo

Carlo Erba, Itálie

MilliporeSigma, USA

GE Healthcare Life Sciences

PerkinElmer, USA

Thermo Fisher Scientific, USA

Chromservis, ČR

Hamilton Laboratory Solutions, USA

Waters, USA

Agilent Technologies, USA

Retsch ČR, VERDER s.r.o.

Labio, ČR

MilliporeSigma, USA

IKA, Německo

KNF Neuberger, Inc., USA

VEB Elektro, Německo

Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co.

KG, Německo

Eppendorf, Německo

Schott Instruments, Německo

Kutex, Německo

Polyuretanová pěna komerční	
Polyuretanová pěna komerční (biodegradovatelná)	
Biodegradovatelné polyuretanové pěny	Ústav makromol. chemie AV ČR
Pumpa DeltaChrom SDS 030	Watrex, ČR
Sklenice Fido (2 L) s těsněním	Bormioli Rocco, Itálie
Sklenice zavařovací (1 L)	
Sušárna	Memmert GmbH + Co. KG, Německo
Termobox	
Ultrazvuková lázeň	Kraintek, ČR
Vakuové filtrační zařízení	Sartorius, Německo
Vortex mixer ZX Classic VELP	Scientifica, Itálie
Vzduchovací zařízení ACO-006	Reson Electronics, Taiwan
Weather-Ometer Ci 3000+	Atlas Material Testing Technology, USA

4.1.4 Programy

Microsoft Office Excel 2007

RStudio 1.1.383

OriginLab®: Origin 8.5

4.2 Biodegradace lehčených polyuretanů v půdě a abiotická hydrolýza

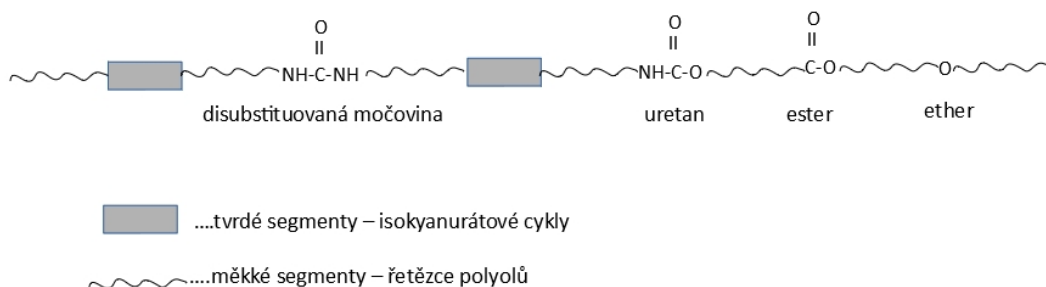
Pro posouzení biodegradovatelnosti testovaných materiálů bylo využito standardizované metody ASTM D5988-03 (ISO 17556) zaměřené na testování biodegradovatelnosti plastových materiálů v půdě nebo reziduí plastů po procesu kompostování. Principem metody je mineralizace materiálu působením půdních mikroorganismů v aerobních podmínkách až na oxid uhličitý (CO₂). Ten je zachytáván v kádinkách s hydroxidem draselným (KOH). Nezareagovaný KOH je titrován kyselinou chlorovodíkovou (HCl). Mineralizace je vyjádřena jako kumulativní množství uvolněného CO₂ (%) v závislosti na čase, během kterého je materiál vystaven působení půdních mikroorganismů. Výsledky biodegradačního testu byly porovnány s abiotickou hydrolýzou materiálů.

4.2.1 Charakteristika testovaných materiálů

Biodegradací test byl proveden s novými lehčenými PUR (BIO 8-10), které byly syntetizovány na Ústavu makromolekulární chemie AV ČR pod vedením Ing. Hynka Beneše, Ph.D. Pro syntézu těchto pěnových materiálů bylo využito alifatického isokyanátu a polyesterových a polyester-etherových polyolů. Etherové skupiny byly v případě materiálů na polyester-etherové bázi obsaženy v polyethylenglykolu 400 (PEG 400). Měkké segmenty pěn byly tvořeny řetězci polyolů, tvrdé segmenty byly odvozeny od isokyanátů obsahující isokyanurátové cykly. Jako plnivo byl použit škrob (BIO-8 a BIO-10). Pro porovnání bylo využito dvou typů komerčních PUR-pěn: i) konvenčního lehčeného PUR na bázi petrochemických surovin (PUR-C) a ii) a lehčeného PUR (PUR-K), u kterého výrobce deklaruje biodegradovatelnost. Pro pokus byly použity rozemleté materiály ve velikostní frakci 2-3,15 mm. Vlastnosti použitých materiálů a jejich schematická struktura jsou uvedeny v Tab. 6 a na Obr. 2. Podrobnější struktura je vyobrazena v přílohách (Příloha 1 a 2). Celulóza (CEL) Technocel 2500 (CFF GmbH & Co. KG) s délkou vláken 2500 μm sloužila jako pozitivní kontrola.

Tab. 6: Charakteristika testovaných materiálů

Materiál	Hustota ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)	Charakteristika
BIO-8	85	PUR-pěna na polyesterové bázi obsahující škrob (28 hm. %)
BIO-9	50	PUR-pěna na polyester-etherové bázi
BIO-10	77	PUR-pěna na polyester-etherové bázi obsahující škrob (28 hm. %)
PUR-C		Konvenční PUR-pěna
PUR-K		Komerčně dostupná biodegradovatelná PUR-pěna
CEL		Celulóza, Technocel 2500 (CFF GmbH & Co. KG)



Obr. 2: Schematická struktura nových materiálů řady BIO

4.2.2 Analýza půdních vlastností

V červnu 2016 byla v okrese Praha-Západ odebrána polní půda, která byla dále analyzována v půdní laboratoři Ústavu pro životní prostředí Univerzity Karlovy. Pro následné analýzy byla použita půdní frakce < 2 mm získaná přeseťím přes kovová síta. Vodní kapacita (WHC) byla stanovena dle metodiky Harding a Ross (1964) následujícím způsobem: K 25 g čerstvé půdy, umístěné do nálevky s filtračním papírem a zátkou, bylo přidáno 50 mL vody. Přes noc byla část vody půdou pohlcena, přebytek byl ráno vypuštěn a následně ponechán samovolnému vykapávání po dobu 3 h. Ze zvlhčené půdy byla v sušárně při 105 °C stanovena sušina. Sušina nezvlhčené půdy byla stanovena za stejné teploty. Půdní pH bylo stanoveno podle normy ISO 10390 následovně: K 5 mL na vzduchu usušené půdy bylo do PE uzavíratelných lahvíček přidáno 25 mL deionizované vody. Po 60 min třepání a 60 min usazování suspenze bylo skleněnou elektrodou změřeno pH. Ztráta žíháním byla změřena po žíhání vysušené půdy v muflové peci při teplotě 550 °C po dobu 5 h. Pomocí CHNOS analyzátoru Carlo Erba EA1108 byl změřen obsah celkového organického uhlíku a dusíku.

4.2.3 Stanovení biodegradovatelnosti

Biodegradační pokus probíhal od 29. června 2016 do 24. března 2017. Během těchto devíti měsíců byla porovnávána biodegradabilita tří nově syntetizovaných materiálů (BIO 8-10) s konvenční PUR-pěnou (PUR-C) a komerčně dostupnou biodegradovatelnou PUR-pěnou (PUR-K). Dále byly do testu zahrnuty pozitivní kontrola tvořená celulózu (CEL) a negativní kontrola tvořená půdou bez přídavku dalšího materiálu, která sloužila k zjištění bazální respirace půdy. Všechny materiály a kontroly byly testovány ve třech opakováních.

Do uzavíratelných 2L sklenic Fido bylo odváženo 300 g přesáté půdy a přibližně přesně 300 mg daného vzorku (negativní kontrola obsahovala pouze půdu). Dle metodiky D5988-03 byla upravena půdní vlhkost a množství dusíku pomocí roztoku dihydrogenfosforečnanu amonného ($4,72 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$). Materiál byl s půdou důkladně promíchán. Na povrch půdy byla umístěna 100mL kádinka s 50 mL vody pro udržení vlhkého prostředí uvnitř sklenice a 50mL kádinka s 20 mL KOH (0,5 M). Sklenice byly uzavřeny a vloženy do termoboxu bez přístupu světla s vnitřní teplotou $21 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

Uvolněný CO₂ byl zachytáván do KOH. Nezreagovaný KOH byl titrován HCl (0,25 M) na indikátor fenolftalein dle rovnice (1). Faktor HCl byl před každým měřením stanoven titrací roztoku dekahydrátu tetraboritanu sodného (Na₂B₄O₇·10 H₂O) na indikátor methylovanž dle rovnice (2).



Množství vyprodukovaného CO₂ za každý stanovovaný časový úsek bylo spočítáno následovně:

$$m \text{CO}_2 \text{ (g)} = k \cdot V \cdot c \cdot f \cdot M$$

k.....stechiometrický přepočít (k = 0,5); rovnice (4)

V.....objem spotřebované HCl (L); *V* (negativní kontrola) – *V* (půda+vzorek)

c.....koncentrace HCl (0,25 mol·L⁻¹)

f.....faktor kyseliny

M.....molární hmotnost CO₂ (44 g·mol⁻¹)

$$f \text{ HCl} = c \text{ (skutečná)} / c \text{ (teoretická)} = k \cdot m / M \cdot V \cdot c \text{ (teoretická)}$$

k.....korekce na množství Na₂B₄O₇·10 H₂O (k = 2); rovnice (2)

m.....navážka Na₂B₄O₇·10 H₂O (0,2 g)

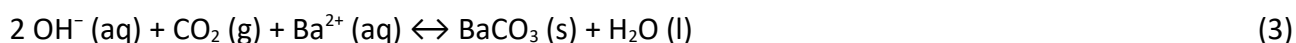
M.....molární hmotnost Na₂B₄O₇·10 H₂O (381,38 g·mol⁻¹)

V.....spotřeba HCl (L)

c.....koncentrace HCl (0,25 mol·L⁻¹)

$$\text{CO}_2 \text{ (\%)} = 100 \cdot (\text{CO}_2 \text{ vyprodukovaný (g)} / \text{CO}_2 \text{ teoretické množství (g)})$$

Nad rámec metody bylo ještě před vlastní titrací k nezreagovanému KOH přidáváno 10 ml chloridu barnatého (BaCl₂) o koncentraci 125 g·L⁻¹. Barnaté ionty stabilizovaly rozpuštěný CO₂ ve formě sraženiny uhličitanu barnatého (BaCO₃), čímž bylo zamezeno vratnému rovnovážnému přechodu do hydrogenuhličitanové formy podle rovnice (3) (Crittter et al., 2011). Tento krok byl podle pokusu v rámci méj bakalářské práce (Tošovská, 2016) nutný pro získání nepodhodnocených výsledků. Výslednou reakci záchytu CO₂ popisuje rovnice (4). První čtyři titrace probíhaly v rozmezí dvou až čtyř dnů, následujících šest týdnů byly vzorky titrovány jednou týdně, poté byly intervaly prodlouženy na dva týdny. Během každé titrace zůstávaly sklenice otevřené, aby došlo k důkladnému prokysličení vnitřního prostředí.



4.2.4 Abiotická hydrolýza

U nově syntetizovaných materiálů řady BIO byla citlivost k hydrolýze testována pomocí abiotické hydrolýzy. Hydrolýza probíhala v termoboxu ve zkumavkách s deionizovanou vodou po dobu šesti týdnů při teplotě 90 °C. Testy byly provedeny na Ústavu makromolekulární chemie AV ČR. Vyhodnocení testů proběhlo na základě změn hmotnosti vzorků a pomocí FT-IR analýz.

4.3 Separace produktů rozkladu dvoustupňovou metodou

Separace produktů rozkladu PUR (reziduí) z půdy po biodegradačním testu byla provedena za účelem následné analýzy pomocí FT-IR. Metodický postup dle Nuelle et al. (2014) byl na základě předběžného testování upraven a zjednodušen. Pomocí fluidizace byla na hladinu roztoku chloridu sodného (NaCl) vyplavena rezidua PUR spolu s přítomnými organickými částicemi a lehkými půdními částicemi. V následujícím flotačním kroku ve vysokohustotním roztoku jodidu sodného (NaI) byla rezidua PUR zbavena nežádoucích nečistot.

4.3.1 Fluidizace

Po ukončení biodegradačního testu byla vždy půda spolu s produkty rozkladu PUR přesypána do 2L kádinky. Půda ulpívající na stěnách byla opakovaně vypláchnuta nasyceným roztokem chloridu sodného (NaCl) a přelita do kádinky. Roztok NaCl byl v kádince doplněn do cca 1 L. Pomocí vzduchovacího zařízení ACO-006 (Reso Electronics) byla půda po dobu 1 min za současného promíchávání tyčinkou probublávána proudem vzduchu (rychlostí cca 0,1 L·s⁻¹), aby došlo k vynesení plastů k hladině. Roztok NaCl byl doplněn na cca 1,5 L a obsah kádinky byl 1 min promícháván tyčinkou. Materiál ulpívající na tyčince byl opláchnut stříčkou s NaCl zpět do kádinky. Po 10minutové sedimentaci půdních částic byly kousky plastů spolu s organickým materiálem z hladiny opatrně sesbírány pomocí sítka a spláchnuty stříčkou s NaCl do porcelánové misky. Proces probublávání, míchání, sedimentace a sběru plastů byl ještě jednou zopakován. Obsah porcelánové misky byl za pomoci stříčky převeden do vakuového filtračního zařízení Sartorius. Filtrační papír s plasty a organickým materiálem byl pomocí pinzety vložen do Petriho misky a uschován pro další krok separace.

4.3.2 Flotace

Do 250mL Erlenmayerovy baňky byl přes nálevku za pomoci nerezové špachtličky přesypán obsah filtru, který byl následně opláchnut stříčkou. Byl připraven roztok (60 hm. %) ze 420 g NaI a příslušného množství vody. Erlenmayerova baňka byla naplněna do 1/2 připraveným roztokem, obsah byl 20 s protřepáván, doplněn do 2/3 baňky, opět 20 s protřepáván, dolit pod okraj a následně probíhala 10 min sedimentace. Po sedimentaci byla část supernatantu s plasty přelita na filtr. Zbytek supernatantu byl přelit do 100mL odměrné baňky kvůli důkladnému opláchnutí hrdla Erlenmayerovy baňky. Po 5minutové sedimentaci byl supernatant přidán k obsahu na filtru a vakuově přefiltrován. Roztok NaI byl recyklován pro další použití. Po jeho odstranění z filtračního zařízení byl obsah filtru promyt 250 mL destilované vody pro odstranění zbytků soli.

4.4 Analýza produktů rozkladu pomocí FT-IR

Principem této nedestruktivní metody je absorpce IČ záření při průchodu vzorkem, čímž dochází ke změnám rotačně vibračních energetických stavů molekuly. Výsledné spektrum je závislostí transmitance nebo absorbance na vlnové délce záření. Podle změny spektra materiálu po biodegradaci a hydrolyze lze pozorovat měnící se zastoupení přítomných funkčních skupin, pro které je charakteristická absorpce záření určité vlnové délky. Analýza byla provedena na Ústavu makromolekulární chemie AV ČR pracovníky z týmu Ing. Hynka Beneše, Ph.D., vyhodnocování spekter jsem následně realizovala v programu OriginLab podle dostupné literatury.

Průběh biodegradace a abiotické hydrolyzy byl sledován pomocí FT-IR analýzy. Spektra vzorků před a po degradaci byla měřena v reflexním ATR módu na spektrometru Spectrum 100 (PerkinElmer, USA). Měření byla prováděna v rozsahu vlnočtů $650-4000\text{ cm}^{-1}$ s rozlišením 4 cm^{-1} .

4.5 Adsorpce polycyklických aromatických uhlovodíků na povrchu plastů

Do uzavíratelných sklenic (1 L) bylo naváženo 500 g kontaminované půdy obsahující podle předem provedené analýzy v Mikrobiologickém ústavu AV ČR 2091,3 ppm Σ PAU. V rámci analýzy byla změřena pomocí superkritické fluidní extrakce (SFE) také biodostupnost PAU, která činila 63 %. U půdy byla upravena vlhkost na 70 % WHC a následně byla promíchána s přibližně 200-300 mg PUR-pěn namletých na 0,8-2mm fragmenty. Pro pokus byly použity konvenční PUR-pěny (PUR-C) a biodegradovatelné PUR-pěny (BIO-10) před degradací (PUR-C N, BIO-10 N) a po urychleném stárnutí za pomoci Florida testu (PUR-C D, BIO-10 D). Test probíhal 240 h

ve Weather-Ometeru Atlas Ci 3000+ v následujících podmínkách: i) intenzita záření: $0,5 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$ (360 nm), ii) relativní vlhkost: 5 %, iii) teplota černého tělesa: 60 °C, iv) teplota komory: 30 °C. Proces odpovídal cca 6 měsícům přirozeného stárnutí. Vzorky byly analyzovány ve třech paralelách, s výjimkou PUR-C D, který byl měřen jen po 3 měsících ve dvou paralelách z důvodu velkých ztrát během Florida testu. Sklenice byly ponechány uzavřené 3 a 6 měsíců v laboratorních podmínkách.

Po 3 a 6 měsících byly fragmenty PUR z půdy vyseparovány výše popsáním procesem fluidizace a flotace jen s malou změnou v případě PUR-C N, který výrazně ulpíval na stěnách Erlenmayerovy baňky. Po dekantaci supernatantu ze 100mL odměrné baňky bylo zapotřebí proces dolítí NaI a 5min sedimentace ještě jednou zopakovat. Kvůli silnému znečištění musely být plasty dále přečišťovány. Plasty byly za pomoci nerezové špachtličky a alobalového trychtýře přesypány do 4mL vialek a ve 2 mL mili-Q vody byly 15 min sonifikovány. Po sonifikaci z nich byly za pomoci špachtličky a pinzety vybírány zbytky organického materiálu. Proces sonifikace a ručního čištění byl proveden třikrát. Přečištěné plasty byly vždy přemístěny do čistých vialek. Následně byly dvakrát až čtyřikrát (do vymizení zákalu) propláchnuty mili-Q vodou. Po přečištění byly plasty lyofilizovány v předem zvážených vialkách. Vážením na analytických vahách byla následně zjištěna navážka suchých plastů.

4.5.1 Extrakce a čištění

Po lyofilizaci byly do vialek napipetovány 2 mL rozpouštědla hexan : aceton (1 : 1) a byla provedena extrakce PAU v ultrazvuku (sonifikace) při 50 °C po dobu 1 h. Po vychladnutí bylo rozpouštědlo odpařeno do sucha ve vyhřívaném stojánku pod proudem dusíku (N_2). Analyty byly dále přečištěny přes 3mL SPE kolonky se silikagelem LiChrolut Si (25-40 μm) obsahující 200 mg sorbentu, který zachytává nežádoucí polární látky. Ke kolonkám byly připevněny teflonové jehly pro lepší vykapávání rozpouštědla a sorbent byl kondicionován 1,5 mL hexanu. Po kondicionaci byly pod kolonky umístěny 8mL čisté vialky a na sorbent byly přeneseny Pasteurovými pipetami analyty rozpuštěné v 1 mL hexanu. Vialky s plasty byly dvakrát vypláchnuty 0,5 mL hexanu za pomoci vortexu. Poté byly kolonky propláchnuty třikrát 1,5 mL hexanu, aby došlo k důkladnému vymytí nepolárních analytů. Hexan byl odpařen pod proudem N_2 do sucha. Vzorky byly vždy po provedení jednotlivých kroků uchovávány při teplotě 5 °C.

Další krok čištění byl proveden pomocí gelové permeační chromatografie (GPC), která rozděluje látky podle jejich molární hmotnosti. Nová GPC kolona byla připravena nabobtnáním sorbentu Bio-beads S-X12 Support v degasovaném tetrahydrofuranu (THF). THF byl následně

z kolony vypláchnut dichlormethanem (DCM), ve kterém byla kolona uchováována, aby se zabránilo vniknutí vzduchu a vyschnutí gelu. Před spuštěním GPC byla pomocí DCM promyta pumpa DeltaChrom SDS 030, aby se odstranil isopropanol, ve kterém je pumpa uchováována. Poté byl propláchnut pomocí DCM šesticestný ventil a kolona. Před nanesením na kolonu byly vzorky, odpařené do sucha, rozpuštěny v cca 0,8 mL DCM a doplněny v Hamiltonově stříkačce na 1 mL. Poté byly přefiltrovány přes filtry Acrodisc 25 mm Syringe Filter (0,2 μ m Nylon Membrane). Do stříkačky byl nabrán vzorek a po vytlačení přebytečného vzduchu byl odměřen přesný objem (0,75 mL), který byl aplikován do šesticestného ventilu. Po zapnutí stopek byla otočena páčka šesticestného ventilu a vzorek byl aplikován na kolonu. V elučním okně, které bylo po nalití nové kolony stanoveno analýzou jednotlivých frakcí pomocí kapalinové chromatografie (Waters Alliance 2695) na 24:00-33:59 min, byla sbírána frakce, ve které se eluovaly stanovované PAU. Nový vzorek byl nanášen po doputování předchozího s časovou prodlevou 5-10 min. Po posledním vzorku byla kolona ještě 15-30 minut promývána a byl propláchnut šesticestný ventil. Poté byl zastaven průtok rozpouštědla. Po odpojení GPC kolony byl DCM v pumpě vyměněn za isopropanol. Ze zkumavek GPC byly vzorky kvantitativně přeneseny do čistých 4mL vialek, odpařeny do sucha proudem N₂ a rozpuštěny v 1mL hexanu.

Proces extrakce, čištění přes SPE kolony a GPC byl proveden také se slepými vzorky tvořenými PUR-C N a BIO-10 N, vždy ve třech paralelách. K plastům s navázkou přibližně přesně 50 mg byly napipetovány připravené roztoky acetonu obsahující standardy antracen, fluoranten, benzo(a)antracen a benzo(a)pyren, tak aby koncentrace každého standardu v plastech odpovídala 200 a 2000 ppm. Pipetování bylo provedeno tak, aby se aceton se standardy vsákl do plastů na dně vialky. Mezi jednotlivými standardy bylo rozpouštědlo odpařeno pod proudem N₂. Postup se od výše zmíněného lišil přesypáním plastů s adsorbovanými standardy pomocí skleněné nálevky a nerezové lžičky do čistých vialek, ve kterých byla teprve provedena extrakce. Poté byly k vzorkům přidány 2 mL rozpouštědla hexan : aceton (1 : 1) a byla provedena extrakce s následnými čistícími kroky. Do původních vialek byl napipetován 1 mL hexanu a po oplachu stěn za pomoci vortexu a stočení zbytků plastů centrifugou (5 min, 6000 rpm) byly na GC-MS změřeny koncentrace standardů, které se neadsorbovaly na plastech a stekly na stěny vialek. Eluční okno GPC kolony bylo pro slepé vzorky stanoveno na 18:00-26:59 min.

Plasty po extrakci, kdy byly testovány koncentrace 200 a 2000 ppm, byly dále podrobeny zrychlené extrakci rozpouštědlem (ASE - Accelerated Solvent Extraction) pro ověření zbytkových koncentrací standardů. Zbytek hexanu přítomný v plastech po čištění přes kolony byl odpařen

proudem N₂ do sucha. Plasty byly pomocí lžičky a alobalu přeneseny do 1mL patron na ASE (Dionex ASE 200), ve kterých proběhla extrakce pomocí aceton : hexan (1 : 3). 1 mL rozpouštědla byl v patroně zahříván na teplotu 150 °C za působení tlaku 1500 psi po dobu 7 min. Po statické fázi, kdy byla po dobu 5 min udržována konstantní teplota a tlak, bylo rozpouštědlo vymyto do původních vialek. Cyklus byl zakončen čistící fází, kdy byly zbytky rozpouštědla vypuzeny čistícím plynem (N₂). Od statické fáze byl cyklus ještě dvakrát zopakován.

4.5.2 Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí

Po přečištění pomocí GPC byly reálné a slepé vzorky analyzovány plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí (GC-MS) pomocí systému Thermo Fisher Scientific (GC: Trace 1310, MS: ISQ QD). Nástřík vzorku v hexanu o objemu 1 µl probíhal v režimu splitless při teplotě 280 °C. Separace jednotlivých analytů probíhala na koloně DB-5, 30 m (Agilent Technologies) v teplotním gradientu. Jako nosný plyn bylo použito helium o průtoku 1mL/min. Nejprve byla teplota udržována na hodnotě 70 °C po dobu 1 min, poté stoupala na 210 °C rychlostí 30 °C /min, bez udržování konstantní teploty dále stoupala na 280 °C rychlostí 4 °C /min, nakonec dosáhla rychlostí 30 °C /min maximální teploty 325 °C, která byla udržována po dobu 11 min. Snímány byly selektivně ionty (SIM) s rozsahem hmot 50-500 amu, pro jejich vznik bylo využito elektronové ionizace. U reálných vzorků byla měřena sumární koncentrace 16 PAU (U.S. EPA).

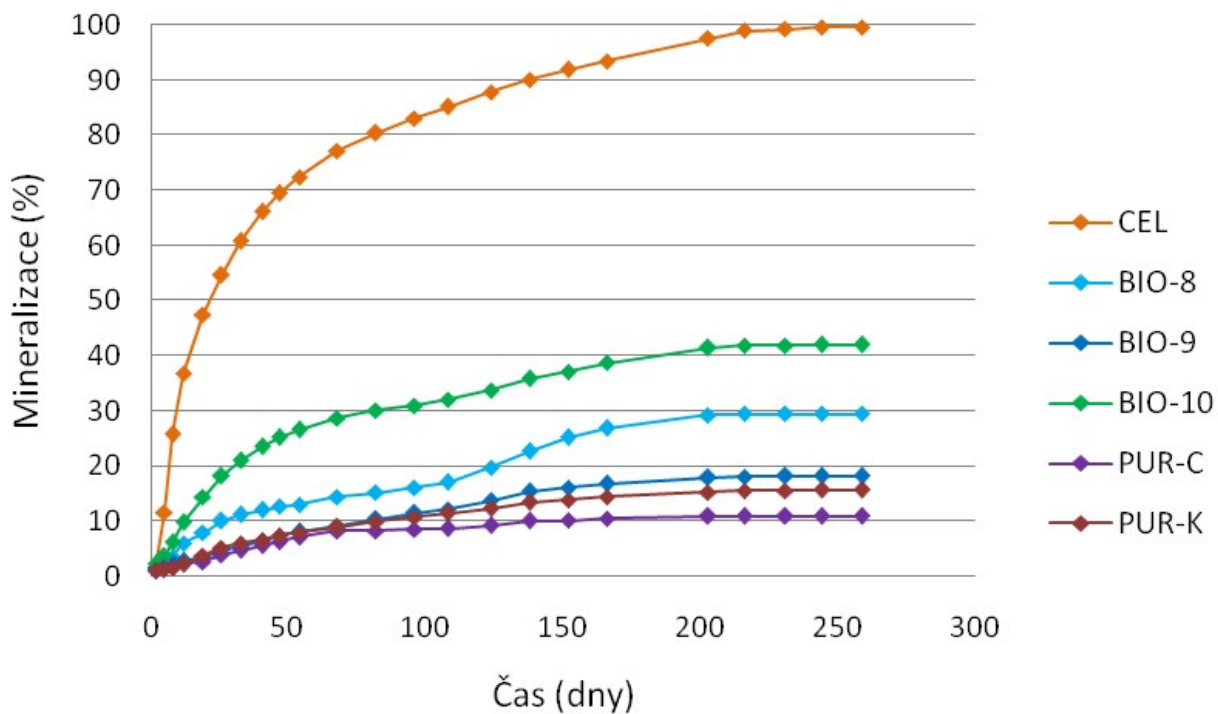
5 Výsledky

5.1 Biodegradace lehčených polyuretanů v půdě a abiotická hydrolýza

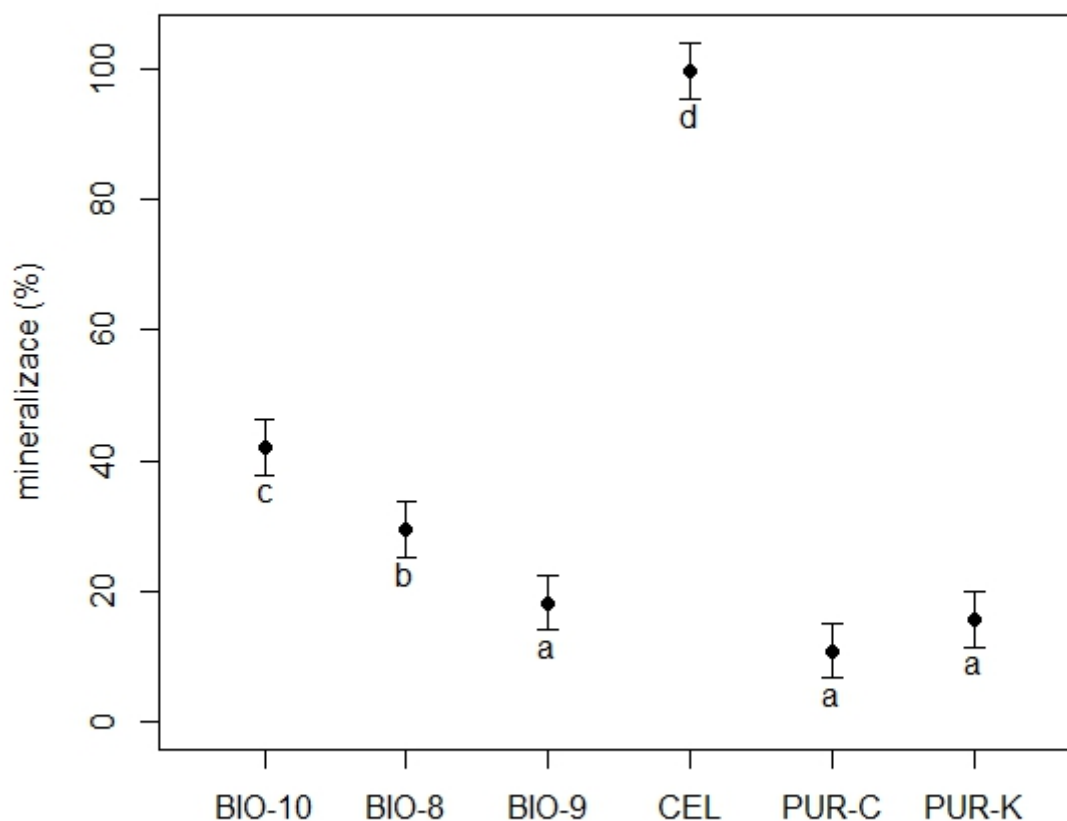
Půdní charakteristiky jsou spolu se směrodatnou odchylkou (SD) uvedeny v Tab. 7. Porovnání biodegradability testovaných materiálů v závislosti na čase je prezentováno na Obr. 3. Po devíti měsících byla pozitivní kontrola tvořená celulórou kompletně rozložena. Z nových lehčených PUR byl nejlépe biodegradovatelný materiál BIO-10 obsahující 28 hm. % škrobu, který se zmineralizoval ze $42,0 \pm 4,2$ %. Konvenční lehčený PUR (PUR-C) biodegradoval jen z $10,8 \pm 2,2$ %. Druhá komerční PUR-pěna (PUR-K), deklarovaná jako biodegradovatelný materiál, byla rozložena pouze z $15,7 \pm 2,0$ %. Časový průběh mineralizace a porovnání celkové mineralizace dle ANOVA a Tukeyho post-hoc testu jsou zobrazeny na Obr. 3 a Obr. 4. Hmotnostní úbytek materiálů po abiotické hydrolýze je uveden v Tab. 8.

Tab. 7: Půdní charakteristiky

Parametr	Hodnota (%) \pm SD
pH	$6,8 \pm 0,1$
Obsah sušiny	$86,6 \pm 0,2$
Vodní kapacita	$40,1 \pm 0,2$
Ztráta žiháním	$11,1 \pm 0,3$
Obsah uhlíku C	$3,9 \pm 0,1$
Obsah dusíku N	$0,3 \pm 0,1$
C:N	$13,9 \pm 1,6$



Obr. 3: Časový průběh mineralizace nových lehčených PUR (BIO-8; BIO-9; BIO-10), komerčních lehčených PUR (PUR-C a PUR-K) a pozitivní kontroly tvořené celulózou (CEL)



Obr. 4: Porovnání celkové mineralizace nových lehčených PUR (BIO-8; BIO-9; BIO-10), komerčních lehčených PUR (PUR-C a PUR-K) a pozitivní kontroly tvořené celulórou (CEL) po ukončení testu (150 dní). Zobrazené hodnoty představují průměry ze tří opakování a jejich konfidenční intervaly na 95% hladině spolehlivosti. Různá písmena reprezentují statisticky významné rozdíly dle ANOVA ($F = 291,8$, $p < 0,05$) a Tukeyho post-hoc testu.

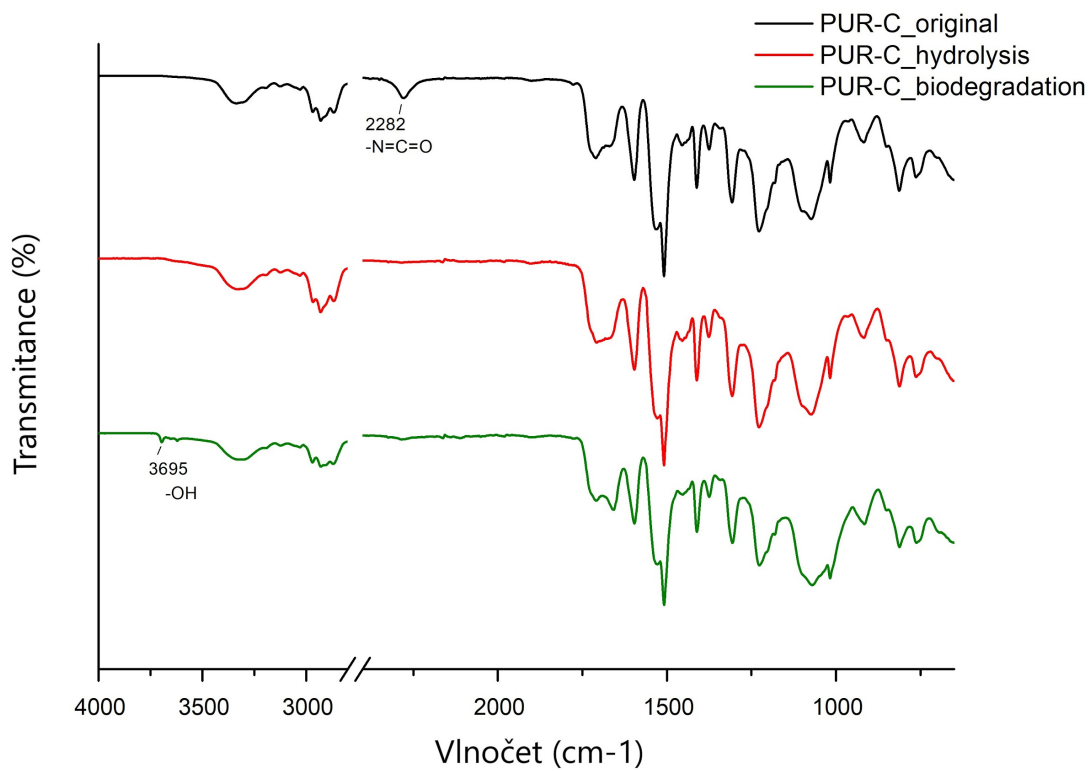
Tab. 8: Hmotnostní úbytek materiálů řady BIO po abiotické hydrolýze

Materiál	Hmotnostní úbytek (%) \pm SD
BIO-8	52,9 \pm 0,09
BIO-9	16,1 \pm NA
BIO-10	41,5 \pm 0,04

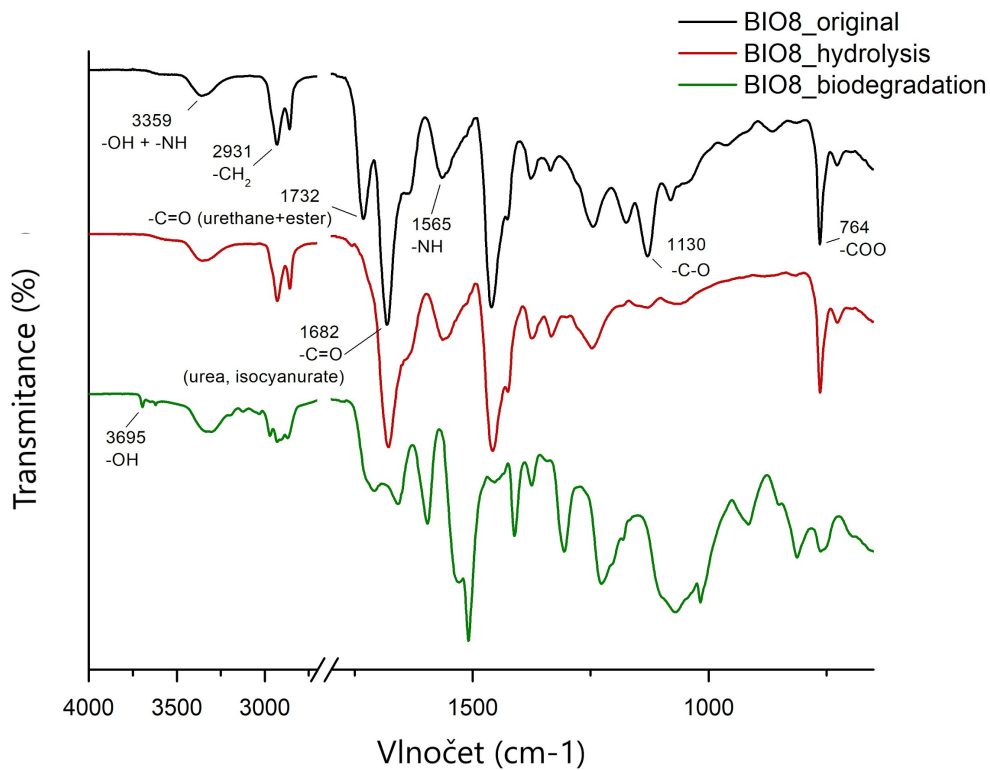
5.2 Analýza produktů rozkladu pomocí FT-IR

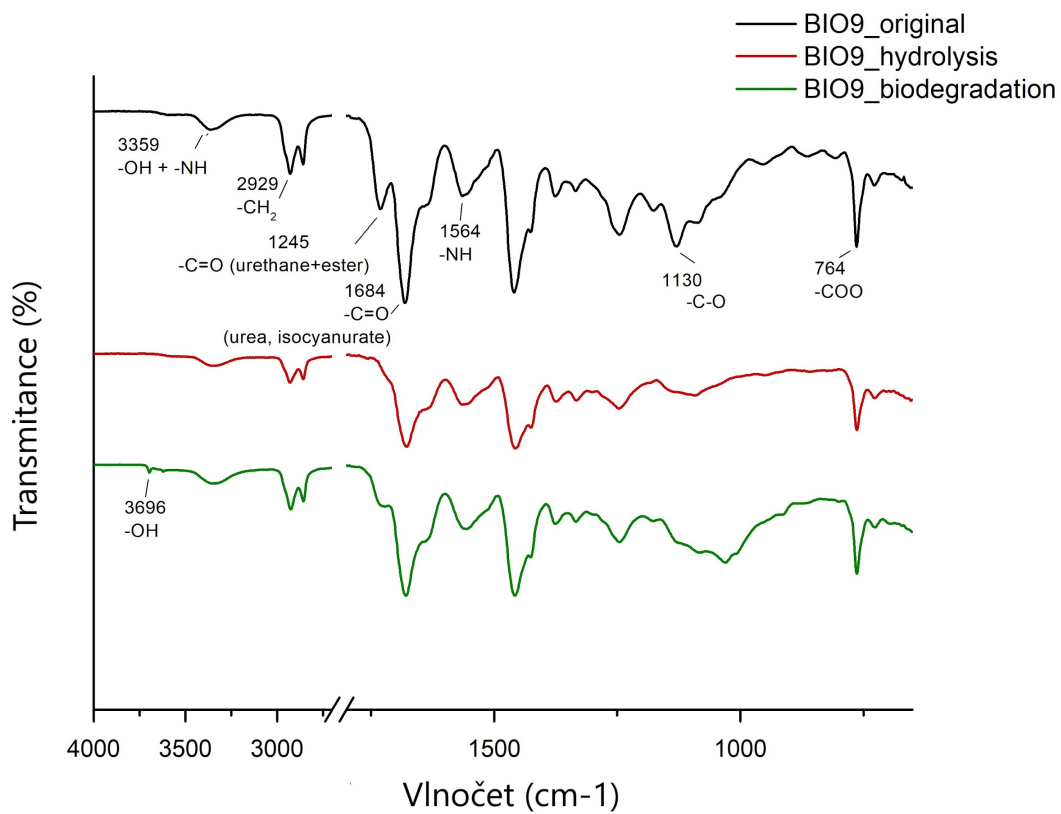
Během hydrolyzy a biodegradace konvenčního PUR (PUR-C) nedošlo k žádné výrazné změně spekter, kromě zmizení píku v 2282 cm^{-1} ($-\text{N}=\text{C}=\text{O}$) (Obr. 5), což značí doreagování isokyanátových skupin během testu. U nových materiálů (Obr. 6-8), nebyl tento pík patrný ani před testy biodegradace a hydrolyzy, což indikovalo kompletní polymerační reakci isokyanátu s hydroxylovými skupinami polyolů (Zhang et al., 2007).

Další popis se týká nových materiálů BIO 8-10 (Obr. 6-8). Absorbce IČ záření v rozmezí 3359 a 3362 cm^{-1} byla způsobena valenční vibrací $-\text{NH}$ skupin v uretanu a močovně (Rattanapan et al., 2016) a $-\text{OH}$ skupin v polyolech a škrobu (BIO-8 a BIO-10). Ze spekter po biodegradaci materiálů je patrný nárůst $-\text{OH}$ skupin ($3620\text{--}3696\text{ cm}^{-1}$). Multipík kolem 2930 cm^{-1} charakterizoval přítomnost $-\text{CH}_2$ vazeb. Absorbce IČ záření v rozmezí $1730\text{--}1732\text{ cm}^{-1}$ byla způsobena valenční vibrací vazby $-\text{C}=\text{O}$ v esterových a uretanových jednotkách (Rattanapan et al., 2016). Podle předchozí analýzy byla absorpce IČ záření v rozmezí $1681\text{--}1684\text{ cm}^{-1}$ způsobena vazbami $-\text{C}=\text{O}$ v močovně a isokyanurátu. Absorpce záření v 1560 a 764 cm^{-1} reprezentuje deformační vibraci $-\text{NH}$ (Somani et al., 2003) a mimorovinnou deformační vibraci $-\text{COO}$ funkčních skupin (Kischel et al., 1998). Rozmezí $1050\text{--}1150\text{ cm}^{-1}$ je typické pro $-\text{C}-\text{O}$ vazby (McMurry, 2007). Patrně se jedná o vibrace esterových vazeb polyolů. Mezi 800 a 1300 cm^{-1} se nachází široký pás typický pro $-\text{C}-\text{C}-$ vazby uhlovodíkového skeletu (McMurry, 2007).

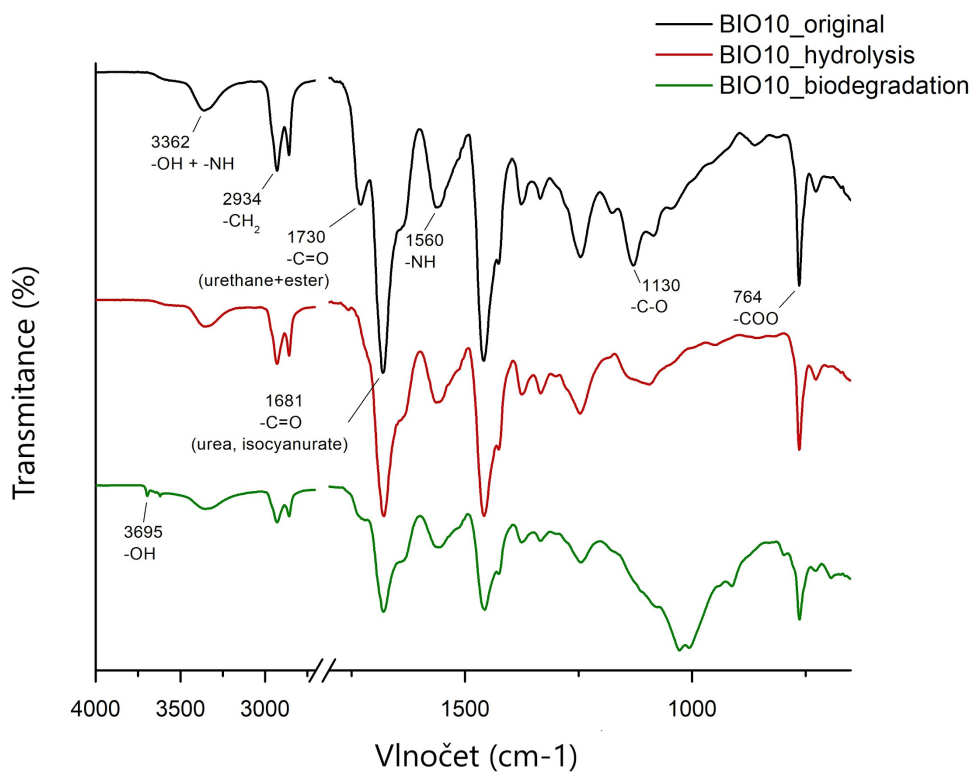


Obr. 5+6: Infračervená spektra konvenčního (PUR-C) a biodegradovatelného PUR (BIO-8); originální materiál (černá), po hydrolyze (červená) a biodegradaci (zelená)





Obr. 7+8: Infračervená spektra nových PUR (BIO-9 a BIO-10); originální materiál (černá), po hydrolyze (červená) a biodegradaci (zelená)



5.3 Adsorpce polycyklických aromatických uhlovodíků na povrchu plastů

V Tab. 9 jsou prezentovány naměřené sumární koncentrace PAU adsorbovaných na povrchu fragmentů PUR-C a BIO-10 po tří- a šestiměsíčním kontaktu s kontaminovanou půdou obsahující 2091,3 ppm Σ PAU. V Tab. 10 jsou prezentovány výtěžnosti extrakce pomocí sonifikace a extrakce pomocí sonifikace s následnou extrakcí ASE u slepých vzorků připravených v koncentracích 200 a 2000 ppm. Tab. 11 popisuje ztráty jednotlivých standardů při přípravě slepých vzorků záchytem na stěnách vialky. Obr. 9 porovnává pomocí Tukeyho post-hoc testu naměřené sumární koncentrace PAU po sonifikační extrakci z materiálů BIO-10 N a PUR-C N, které nebyly vystaveny urychlené degradaci Florida testem.

Tab. 9: Sumární koncentrace PAU adsorbovaných na povrchu plastů po expozici v kontaminované půdě (extrakce sonifikací)

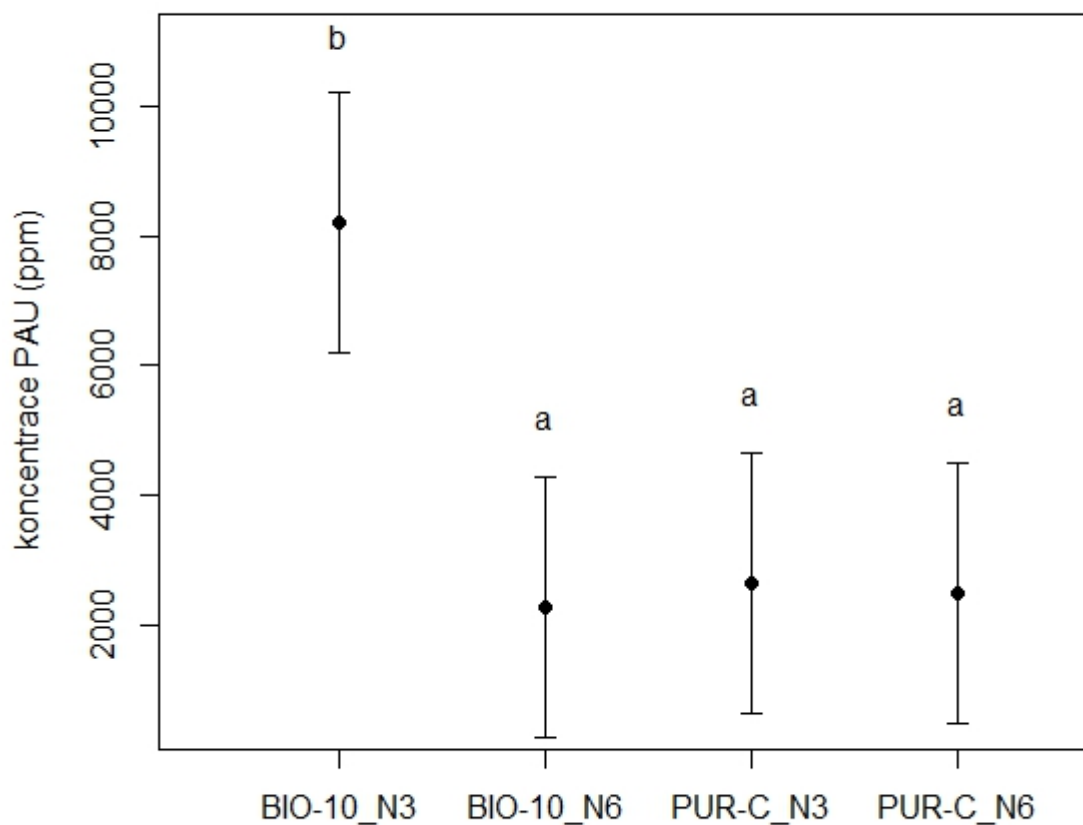
Délka expozice (měsíce)	Materiál	ΣPAU (ppm) \pm SD
3	BIO-10	8206,0 \pm 2719,2
	PUR-C	2640,8 \pm 339,8
6	BIO-10	2259,1 \pm 348,4
	PUR-C	2476,0 \pm 1212,1

Tab. 10: Výtěžnosti extrakce standardů sonifikací (UZ) a sonifikací s následnou extrakcí ASE (UZ+ASE); 200 a 2000 představují koncentrace (ppm) standardů v připravených slepých vzorcích

Materiál	Metoda	Výtěžnost extrakce (%) ± SD			
		Antracen	Fluoranten	Benzo(a)antracen	Benzo(a)pyren
BIO-10 200	UZ	26,7 ± 2,9	26,3 ± 2,7	26,6 ± 2,0	18,9 ± 1,3
	UZ+ASE	65,9 ± 4,9	63,0 ± 4,0	63,4 ± 3,6	46,8 ± 5,1
BIO-10 2000	UZ	26,4 ± 0,7	25,2 ± 0,5	25,1 ± 0,2	17,4 ± 0,4
	UZ+ASE	38,1 ± 1,8	37,3 ± 1,2	37,7 ± 1,1	34,4 ± 2,7
PUR-C 200	UZ	28,1 ± 1,2	30,6 ± 1,0	28,5 ± 1,3	20,7 ± 2,0
	UZ+ASE	73,5 ± 3,8	75,9 ± 3,0	71,6 ± 0,4	61,0 ± 0,3
PUR-C 2000	UZ	28,7 ± 1,9	29,6 ± 2,3	28,5 ± 1,8	20,8 ± 2,1
	UZ+ASE	42,0 ± 6,1	43,1 ± 5,9	43,6 ± 7,9	40,5 ± 12,6

Tab. 11: Ztráty standardů při přípravě slepých vzorků záchytem na stěnách vialky; chybějící hodnoty jsou způsobeny koncentracemi pod limitem kvantifikace (< LOQ)

Materiál	Ztráty analytů (%) ± SD			
	Antracen	Fluoranten	Benzo(a)antracen	Benzo(a)pyren
BIO-10 200	0,8 ± 0,2	1,3 ± 0,6	< LOQ	< LOQ
BIO-10 2000	0,9 ± 0,4	1,0 ± 0,7	2,8 ± 1,9	2,3 ± 1,9
PUR-C 200	2,6 ± 1,3	1,6 ± 0,6	< LOQ	< LOQ
PUR-C 2000	1,4 ± 0,3	1,6 ± 0,7	1,1 ± 0,6	0,7 ± 0,4



Obr. 9: Porovnání naměřených sumárních koncentrací PAU po sonifikační extrakci z materiálů BIO-10 a PUR-C po 3- (BIO-10_N3, PUR-C_N3) a 6měsíční (BIO-10_N6, PUR-C_N6) expozici v kontaminované půdě. Zobrazené hodnoty představují průměry ze tří opakování a jejich konfidenční intervaly na 95% hladině spolehlivosti. Různá písmena reprezentují statisticky významné rozdíly dle ANOVA ($F = 10,922$, $p < 0,05$) a Tukeyho post-hoc testu.

6 Diskuze

V půdě je aktivita mikroorganismů limitována sníženou teplotou a vlhkostí (Franzluebbers et al., 2001). U testovaných materiálů, které mají být využity na pachové ohradníky v zemědělské krajině, lze tedy oproti laboratornímu pokusu předpokládat pomalejší biodegradaci, zejména v zimních měsících. Biodegradace PUR na polyesterové a polyester-etherové bázi byla potvrzena u řady půdních zástupců bakterií a hub (Cregut et al., 2013). U těchto druhů lze tedy předpokládat výrazný podíl na degradaci lehčených PUR použitých na pachové ohradníky i v reálných podmínkách.

Provedený test podle normy ASTM D5988-03 poskytl validní výsledky, neboť splňoval kritérium rozložení pozitivní kontroly za 6 měsíců > 70 %. Oba materiály obsahující škrob (BIO-8, BIO-10) se rozkládaly signifikantně lépe než materiál bez škrobu (BIO-9). Materiál BIO-9 se statisticky významně nelišil od komerčních materiálů (PUR-C a PUR-K). PUR na polyesterové bázi bývají obecně lépe biodegradovatelné než PUR na polyetherové bázi (Darby a Kaplan, 1968; Innace et al., 1999). Podle vlastních výsledků se signifikantně nejlépe rozkládal materiál BIO-10 se škrobem (28 hm. %) na polyester-etherové bázi v porovnání s BIO-8 (škrob 28 hm. %) na polyesterové bázi a BIO-9 na polyester-etherové bázi. Mezi bakteriemi jednoznačně převládají zástupci degradující PUR na esterové bázi, zatímco polyester-etherové PUR jsou spíše degradovány zástupci hub (Cregut et al., 2013). Důležitou úlohu v mineralizaci BIO-10 a BIO-8, bez ohledu na typ materiálu, sehrála zřejmě přítomnost škrobu, který podléhá rychleji mikrobiálnímu ataku (Ge et al., 2000).

Pro porovnání biodegradability rozdílných materiálů je klíčové testování ve standardizovaných podmínkách. Dutta et al. (2010) testovali biodegradabilitu PUR-filmů ve třech typech půdy ve venkovních podmínkách. Tento přístup je zřejmě vhodný pro specifické účely, pokud zjišťujeme rychlost biodegradace v konkrétních podmínkách, nicméně neumožňuje snadné porovnání výsledků s jinými studiemi. Ve studii Ge et al. (2000), kde byla testována biodegradabilita PUR obsahujícího 15 % kukuřičného škrobu a 15 % zkapalněné kůry z *Acacia mearnsii* došlo po 6měsíční expozici v půdě k poklesu hmotnosti sledovaného materiálu přibližně o 20 %. Přítomnost škrobu zajistila rychlejší průběh biodegradace, neboť u shodného materiálu obsahujícího místo škrobu 30 % zkapalněné kůry z *Acacia mearnsii* došlo za stejnou dobu k poklesu hmotnosti o přibližně 15 %. V souladu s mými výsledky nepozorovali autoři téměř žádné změny u komerčně dostupné PUR-pěny. Optimálnímu porovnání výsledků však brání neuvedení

experimentálních podmínek a půdních vlastností. V navazující práci (Ge et al., 2002), kde byly testovány stejné materiály, je pouze uvedeno, že se jednalo o test v lesní půdě v širokém rozmezí teplot (20-35 °C) a vzdušné vlhkosti (37-92 %). Testování mineralizace dosud nepatří do běžné praxe. Výjimkami jsou práce Gómez et al. (2014) a Rattanapan et al. (2016). Gómez et al. (2014) sledovali mineralizaci PUR-pěn podle stejné metodiky (ASTM D5988-03), která byla využita v předkládané diplomové práci. Nicméně, test nesplňoval kritérium validity, celulóza byla po 320 dnech rozložena pouze z $65,4 \pm 6,0$ %. V práci Rattanapan et al. (2016) byla sledována mineralizace PUR-pěn podle metodiky OECD 301 B v minerálním médiu inokulovaném mikroorganismy z odpadní vody továrny na výrobu kaučuku.

U nově syntetizovaných materiálů BIO 8-10, na rozdíl od konvenčního PUR-C, nebyl zaznamenán pík charakteristický pro volnou -NCO skupinu, což značí kompletní zreagování -NCO s -OH skupinami během syntézy (Zhang et al., 2007). Během abiotické hydrolyzy a biodegradace nových materiálů BIO 8-10 došlo k úbytku intenzity multipíku kolem 2930 cm^{-1} , což zřejmě značí napadání uhlovodíkových řetězců mikroorganismy přítomnými v půdě. Tento pokles zaznamenali také Dutta et al. (2010) během šestiměsíční biodegradace modifikovaného PUR. Procesem hydrolyzy a biodegradace došlo k poklesu zastoupení -C=O vazeb v esterových a uretanových jednotkách ($1730\text{-}1732\text{ cm}^{-1}$). Abiotickou hydrolyzou došlo ke kompletnímu rozrušení vazby -C=O, během biodegradace bylo jejich zastoupení výrazně sníženo. Během hydrolyzy a biodegradace pokleslo také zastoupení skupiny -COO (764 cm^{-1}). Úbytek esterových vazeb během biodegradace byl již dříve popsán (Howard, 2002). Také Dutta et al. (2010) popsali pomocí FT-IR analýzy modifikovaného PUR úbytek intenzity v píku cca 1735 cm^{-1} a cca 1050 cm^{-1} , což indikuje probíhající biodegradaci v místě esterových vazeb. V souladu s dostupnou literaturou (Howard, 2002; Rattanapan et al, 2016; Dutta et al., 2010; Wales a Sagar, 1988) docházelo tedy u testovaných materiálů k hydrolyze esterových a uretanových vazeb. U všech materiálů během biodegradace mírně vzrostla přítomnost -OH skupin, zřejmě v důsledku probíhajících hydrolytických reakcí.

Separční dvoustupňová metoda využívající fluidizace a flotace se ukázala po ukončení biodegradčního testu jako vhodný postup pro separaci produktů rozkladu. Díky ověření a malé modifikaci postupu popsaného Nuelle et al. (2014), mohly být produkty rozkladu snadno analyzovány pomocí FT-IR. Postup byl dále využit v adsorpčním experimentu týkajícím se adsorpce PAU na PUR o velikosti 0,8-2 mm, čímž spadají dle NOAA do kategorie MPs. Výhodou tohoto postupu je separace čistých MPs s cílovým analytem. V případě, že bychom místo separčního kroku chtěli pro manipulaci s MPs využít litterbagy, běžně využívané pro studium

dekompozice (Heděnc et al., 2014) a koloběhu živin v půdě (Olofsson a Oksanen, 2002), mohlo by snadno docházet k adsorpci PAU na materiál litterbagu a snížení adsorpce na sledované MPs.

Během pokusu s PUR vystavenými 3- a 6měsíčnímu kontaktu s kontaminovanou půdou obsahující 2091,3 ppm Σ PAU byly využity materiály ve velikostním rozmezí 0,8-2 mm. Podle NOAA a několika dalších autorů citovaných v da Costa et al. (2016) tak spadaly do skupiny MPs, u kterých je adsorpce organických polutantů v posledních letech zkoumána (Hirai et al., 2011). Půda obsahovala řádově vyšší koncentrace PAU než orné půdy ve střední Evropě, kde mediány koncentrací Σ_{16} PAU dosahovaly hodnot 219 a 395 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Desaules et al., 2008; Maliszewska-Kordybach et al., 2008). Materiály BIO-10 D a PUR-C D se působením Florida testu degradovaly natolik, že se kvůli práškovité podobě výrazně ztížila jejich separace pomocí fluidizace a flotace a následné přečišťování před analýzou GC-MS. Nízké hmotnosti materiálů PUR-C D a BIO-10 D neumožnily stanovení přesné navážky, proto byly dále analyzovány pouze předem nedegradované materiály BIO-10 N a PUR-C N. U nedegradovaných materiálů se snížily jejich původní navážky na cca 30 %, zatímco u degradovaných klesly pod 5 %. U těchto materiálů by tedy zřejmě pomohlo pro zdárnou analýzu řádově navýšit původní navážky. Z výsledků analýzy vyplývá, že u testovaných PUR o velikosti 0,8-2 mm dochází k nezanedbatelné adsorpci PAU na povrchu PUR-MPs způsobené nepolárním charakterem materiálů a velkým specifickým povrchem. K největšímu zakoncentrování PAU došlo u BIO-10_N3, kde byla naměřena koncentrace $8206,0 \pm 2719,2$ ppm, která se podle Tukeyho post-hoc testu statisticky významně lišila od ostatních hodnot. Překvapivě nedošlo k nárůstu koncentrací PAU s délkou expozice, což mohlo být způsobeno nehomogenitou kontaminace půdy a rozdílným specifickým povrchem jednotlivých MPs. Dále mohl hrát roli tzv. aging, tzn. pevnější navázání PAU na povrch MPs během delší expozice, čímž by se zmenšila extrahovatelná frakce analytů. Vzhledem k nízké výtěžnosti sonifikační extrakce lze předpokládat, že během pokusu došlo k přibližně čtyřnásobně většímu přechodu PAU z půdy na povrch MPs. Nicméně, výtěžnosti extrakce se u jednotlivých standardů lišily a nelze tedy přesně vypočítat Σ PAU za předpokladu 100% účinnosti extrakce. Během přípravy slepých vzorků došlo k drobným ztrátám ulpíváním standardů na stěnách vialek kvůli nedokonalému zachytu na povrchu MPs během pipetování standardů rozpuštěných v acetonu. Jak vyplývá z navazujícího pokusu se slepými vzorky, kde byla použita sonifikační extrakce s následnou extrakcí ASE a došlo tak ke zvýšení účinnosti extrakce, při případném opakování pokusu by bylo vhodné provést tuto dvoustupňovou extrakci nebo se zaměřit na změnu extrakčních podmínek.

Podle rešerše ovlivňují MPs půdní organismy, u anektických žížal *Lumbricus terrestris* byla prokázána mortalita 8 a 25 % po 60denní expozici koncentracím PE-MPs (< 150 µm) 28 a 60 hm. % v opadu. Došlo také k signifikantnímu snížení rychlosti růstu při koncentracích 28, 45 a 60 % MPs v opadu oproti kontrole (0 %) a koncentraci 7 % (Huerta Lwanga et al., 2016). Rodriguez-Seijo et al. (2017) pozorovali u epigeických žížal *Eisenia andrei* poškození trávicího traktu a imunologickou odpověď na přítomnost PE-MPs (250-1000 µm). Jestliže se PUR-pěny použité na pachové ohradníky po skončení životnosti rozpadnou na drobné MPs, lze u nich také předpokládat riziko pro jedince a navazující potravní sítě. Nicméně, konkrétní studie zkoumající vliv PUR-MPs na činnost žížal dosud neexistují.

V případě kontaminace půdy PAU vzniká, podle vlastních výsledků, riziko adsorpce těchto polutantů na povrch MPs a jejich přenosu do těla organismů. U slávek *Mytilus galloprovincialis* byla pozorována akumulace pyrenu, zástupce PAU, v hemolymfě, žábrách a trávicím ústrojí po konzumaci MPs s adsorbovaným pyrenem (Avio et al., 2015). K usnadnění pronikání plastových částic do těla organismů dále dochází v případě NPs, které mohou překonávat hematoencefalickou bariéru (Kashiwada, 2006). Díky většímu specifickému povrchu navíc mohou adsorbovat řádově vyšší koncentrace organických polutantů, což bylo konkrétně pozorováno u PE s adsorpcí PCB (Velzeboer et al., 2014). Nicméně, studie zaměřené na vliv MPs a NPs s adsorbovanými organickými polutanty na půdní organismy dosud chybí.

7 Závěry

Provedený test biodegradability dle ASTM D5988-03 splňoval kritéria validity (mineralizace pozitivní kontroly během 6 měsíců > 70 %), což umožňuje porovnání výsledků s jinými studii. Nejlépe podléhal biodegradaci materiál BIO-10 obsahující 28 hm. % škrobu, který byl během devíti měsíců mineralizován ze $42,0 \pm 4,2$ %. Vzhledem k relativně vysokému stupni mineralizace je BIO-10 nejvhodnějším kandidátem pro plánované využití na pachové ohradníky v zemědělské krajině.

Pomocí FT-IR analýzy byla potvrzena hypotéza, že pro biodegradabilitu nově syntetizovaných materiálů je klíčová přítomnost esterových a uretanových vazeb. Z dat vyplývá, že během abiotické hydrolýzy a biodegradace docházelo k výraznému úbytku esterových a uretanových vazeb.

Modifikovaný postup dvoustupňové separační metody využívající fluidizace a flotace popsané v Nuelle et al. (2014) byl vhodný pro separaci produktů rozkladu PUR procesem biodegradace s původní velikostí 2-3,15 mm. Postup také umožnil separaci MPs s původní velikostí 0,8-2 mm z kontaminované půdy během adsorpčního pokusu. Během separace urychleně degradovaných materiálů pomocí Florida testu docházelo kvůli práškovité podobě MPs k výrazným ztrátám a znemožnění další analýzy kvůli nízkým navážkám vzorků.

Analýzou PUR-MPs (0,8-2 mm) vystavených kontaktu s kontaminovanou půdou bylo zjištěno, že dochází k adsorpci přítomných PAU na povrchu PUR-MPs. Byla potvrzena hypotéza o zakoncentrování PAU na povrchu PUR-MPs vzhledem k půdě. Největší koncentrace PAU ($8206,0 \pm 2719,2$ ppm) byly naměřeny u materiálu BIO-10 po tříměsíční expozici (BIO-10_N3). Analýzou slepých vzorků byla zjištěna nízká účinnost použité sonifikační extrakce a lze tedy u analyzovaných PUR-MPs předpokládat vyšší koncentrace PAU, přibližně čtyřnásobné.

8 Zdroje

AKUTSU, Yukie, et al. Purification and properties of a polyester polyurethane-degrading enzyme from *Comamonas acidovorans* TB-35. *Applied and environmental microbiology*, 1998, 64.1: 62-67.

AKUTSU-SHIGENO, Yukie, et al. Isolation of a bacterium that degrades urethane compounds and characterization of its urethane hydrolase. *Applied microbiology and biotechnology*, 2006, 70.4: 422.

ANDO, Yoichi, et al. Biodegradability of poly (tetramethylene succinate-co-tetramethylene adipate): I. Enzymatic hydrolysis. *Polymer degradation and stability*, 1998, 61.1: 129-137.

ANDRADY, Anthony L. Microplastics in the marine environment. *Marine pollution bulletin*, 2011, 62.8: 1596-1605.

ARTHAM, Trishul; DOBLE, Mukesh. Biodegradation of aliphatic and aromatic polycarbonates. *Macromolecular bioscience*, 2008, 8.1: 14-24.

AVIO, Carlo Giacomo, et al. Pollutants bioavailability and toxicological risk from microplastics to marine mussels. *Environmental Pollution*, 2015, 198: 211-222.

BAKIR, Adil; ROWLAND, Steven J.; THOMPSON, Richard C. Transport of persistent organic pollutants by microplastics in estuarine conditions. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2014a, 140: 14-21.

BAKIR, Adil; ROWLAND, Steven J.; THOMPSON, Richard C. Enhanced desorption of persistent organic pollutants from microplastics under simulated physiological conditions. *Environmental Pollution*, 2014b, 185: 16-23.

BARRATT, S. R., et al. Fungi are the predominant micro-organisms responsible for degradation of soil-buried polyester polyurethane over a range of soil water holding capacities. *Journal of applied microbiology*, 2003, 95.1: 78-85.

BEHRENDT, Gerhard; NABER, Bernhard W. The chemical recycling of polyurethanes. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 2009, 44.1: 3-23.

BENEŠ, Hynek, et al. Glycolysis of flexible polyurethane foam in recycling of car seats. *Polymers for Advanced Technologies*, 2007, 18.2: 149-156.

BENEŠ, Hynek, et al. Polyurethanes with bio-based and recycled components. *European journal of lipid science and technology*, 2012a, 114.1: 71-83.

BENEŠ, Hynek, et al. Utilization of natural oils for decomposition of polyurethanes. *Journal of Polymers and the Environment*, 2012b, 20.1: 175-185.

BERGAMI, Elisa, et al. Nano-sized polystyrene affects feeding, behavior and physiology of brine shrimp *Artemia franciscana* larvae. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2016, 123: 18-25.

BESSELING, Ellen, et al. Nanoplastic affects growth of *S. obliquus* and reproduction of *D. magna*. *Environmental science & technology*, 2014, 48.20: 12336-12343.

BHATTACHARYA, Priyanka, et al. Physical adsorption of charged plastic nanoparticles affects algal photosynthesis. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2010, 114.39: 16556-16561.

- BLAKE, R. C.; NORTON, W. N.; HOWARD, G. T. Adherence and growth of a *Bacillus* species on an insoluble polyester polyurethane. *International biodeterioration & biodegradation*, 1998, 42.1: 63-73.
- BOERGER, Christiana M., et al. Plastic ingestion by planktivorous fishes in the North Pacific Central Gyre. *Marine pollution bulletin*, 2010, 60.12: 2275-2278.
- BOUBENDIR, Abdelali. *Purification and biochemical evaluation of polyurethane degrading enzymes of fungal origin*. 1992. Ph.D. Thesis. University of Salford.
- BROWNE, Mark A., et al. Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.). *Environmental science & technology*, 2008, 42.13: 5026-5031.
- CANESI, L., et al. Evidence for immunomodulation and apoptotic processes induced by cationic polystyrene nanoparticles in the hemocytes of the marine bivalve *Mytilus*. *Marine environmental research*, 2015, 111: 34-40.
- CARSON, Henry S., et al. Small plastic debris changes water movement and heat transfer through beach sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 2011, 62.8: 1708-1713.
- CEDERVALL, Tommy, et al. Food chain transport of nanoparticles affects behaviour and fat metabolism in fish. *PLoS one*, 2012, 7.2: e32254.
- CHEN, Chi-Shuo, et al. Effects of engineered nanoparticles on the assembly of exopolymeric substances from phytoplankton. *PLoS One*, 2011, 6.7: e21865.
- CLAESSENS, Michiel, et al. Occurrence and distribution of microplastics in marine sediments along the Belgian coast. *Marine Pollution Bulletin*, 2011, 62.10: 2199-2204.
- COLE, Matthew, et al. Microplastics as contaminants in the marine environment: a review. *Marine pollution bulletin*, 2011, 62.12: 2588-2597.
- COSGROVE, L., et al. Effect of biostimulation and bioaugmentation on degradation of polyurethane buried in soil. *Applied and environmental microbiology*, 2010, 76.3: 810-819.
- CRABBE, Joel R., et al. Biodegradation of a colloidal ester-based polyurethane by soil fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 1994, 33.2: 103-113.
- CREGUT, Mickael, et al. New insights into polyurethane biodegradation and realistic prospects for the development of a sustainable waste recycling process. *Biotechnology advances*, 2013, 31.8: 1634-1647.
- CRITTER, Silvana AM; FREITAS, Sueli S.; AIROLDI, Claudio. Calorimetry versus respirometry for the monitoring of microbial activity in a tropical soil. *Applied soil ecology*, 2001, 18.3: 217-227.
- DA COSTA, Joao Pinto, et al. (Nano) plastics in the environment—sources, fates and effects. *Science of The Total Environment*, 2016, 566: 15-26
- DALE, R.; SQUIRRELL, D. J. A rapid method for assessing the resistance of polyurethanes to biodeterioration. *International Biodeterioration*, 1990, 26.6: 355-367.
- DARBY, Richard T.; KAPLAN, Arthur M. Fungal susceptibility of polyurethanes. *Applied microbiology*, 1968, 16.6: 900-905.

- DELLA TORRE, C., et al. Accumulation and embryotoxicity of polystyrene nanoparticles at early stage of development of sea urchin embryos *Paracentrotus lividus*. *Environmental science & technology*, 2014, 48.20: 12302-12311.
- DESAULES, André, et al. PAH and PCB in soils of Switzerland—status and critical review. *Journal of Environmental Monitoring*, 2008, 10.11: 1265-1277.
- DOS SANTOS, Tiago, et al. Effects of transport inhibitors on the cellular uptake of carboxylated polystyrene nanoparticles in different cell lines. *PloS one*, 2011, 6.9: e24438.
- DUTTA, Suvangshu, et al. Biodegradation of epoxy and MF modified polyurethane films derived from a sustainable resource. *Journal of Polymers and the Environment*, 2010, 18.3: 167-176.
- EL-SAYED, A. Halim MM, et al. Biodegradation of polyurethane coatings by hydrocarbon-degrading bacteria. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 1996, 37.1-2: 69-79.
- ENDO, Satoshi, et al. Concentration of polychlorinated biphenyls (PCBs) in beached resin pellets: variability among individual particles and regional differences. *Marine pollution bulletin*, 2005, 50.10: 1103-1114.
- ERIKSSON, Cecilia; BURTON, Harry. Origins and biological accumulation of small plastic particles in fur seals from Macquarie Island. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 2003, 32.6: 380-384.
- FRANZLUEBBERS, Alan J., et al. Climatic influences on active fractions of soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33.7-8: 1103-1111.
- GALGANI, F., et al. *Marine Strategy Framework directive-Task Group 10 Report marine litter do not cause harm to the coastal and marine environment. Report on the identification of descriptors for the Good Environmental Status of European Seas regarding marine litter under the Marine Strategy Framework Directive*. Office for Official Publications of the European Communities, 2010.
- GE, Jinjie, et al. Biodegradable polyurethane materials from bark and starch. I. Highly resilient foams. *Journal of Applied Polymer Science*, 2000, 77.12: 2575-2580.
- GE, Jinjie, et al. Biodegradable polyurethane materials from bark and starch. II. Coating material for controlled-release fertilizer. *Journal of applied polymer science*, 2002, 86.12: 2948-2952.
- GIOIA, Rosalinda, et al. Polychlorinated biphenyls (PCBs) in air and seawater of the Atlantic Ocean: sources, trends and processes. *Environmental science & technology*, 2008, 42.5: 1416-1422.
- GÓMEZ, Eddie F., et al. Biodegradability of crude glycerol-based polyurethane foams during composting, anaerobic digestion and soil incubation. *Polymer degradation and stability*, 2014, 102: 195-203.
- GRAHAM, Erin R.; THOMPSON, Joseph T. Deposit-and suspension-feeding sea cucumbers (Echinodermata) ingest plastic fragments. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2009, 368.1: 22-29.
- GUAN, Jianjun, et al. Preparation and characterization of highly porous, biodegradable polyurethane scaffolds for soft tissue applications. *Biomaterials*, 2005, 26.18: 3961-3971.
- GUELCHER, Scott A. Biodegradable polyurethanes: synthesis and applications in regenerative medicine. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 2008, 14.1: 3-17.

- HARDING, D. E.; ROSS, D. J. Some factors in low-temperature storage influencing the mineralisable-nitrogen of soils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1964, 15.12: 829-834.
- HÄRKÖNEN, Mika, et al. Properties and polymerization of biodegradable thermoplastic poly (ester-urethane). *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 1995, 32.4: 857-862.
- HEDĚNEC, Petr, et al. "The effect of native and introduced biofuel crops on the composition of soil biota communities." *Biomass and bioenergy* 60 (2014): 137-146.
- HIRAI, Hisashi, et al. Organic micropollutants in marine plastics debris from the open ocean and remote and urban beaches. *Marine Pollution Bulletin*, 2011, 62.8: 1683-1692.
- HORÁK, Pavel; BENEŠ, Hynek. Polyurethane foams based entirely on recycled polyols derived from natural oils. *Polimery*, 2015, 60.
- HORI, Yoji, et al. A novel biodegradable poly (urethane ester) synthesized from poly (3-hydroxybutyrate) segments. *Macromolecules*, 1992, 25.19: 5117-5118.
- HOWARD, Gary T.; CROTHER, Brian; VICKNAIR, Jared. Cloning, nucleotide sequencing and characterization of a polyurethanase gene (pueB) from *Pseudomonas chlororaphis*. *International biodeterioration & biodegradation*, 2001, 47.3: 141-149.
- HOWARD, Gary T. Biodegradation of polyurethane: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2002, 49.4: 245-252.
- HOWARD, Gary T. 7. Microbial biodegradation of polyurethane. *Recent Developments in Polymer Recycling*, 2011, 215: 238.
- HOWARD, Gary T.; NORTON, William N.; BURKS, Timothy. Growth of *Acinetobacter gernerii* P7 on polyurethane and the purification and characterization of a polyurethanase enzyme. *Biodegradation*, 2012, 23.4: 561-573.
- HUANG, SAMUEL J., et al. "Biodegradation of polyurethanes derived from polycaprolactonediol." 1981. 471-487.
- HUERTA LWANGA, Esperanza, et al. Microplastics in the terrestrial ecosystem: implications for *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta, Lumbricidae). *Environmental science & technology*, 2016, 50.5: 2685-2691.
- IANNACE, Salvatore, et al. Effects of composition on thermal, mechanical properties and biodegradability of starch based polyurethane foams. *Cellular polymers*, 1999, 18.1: 21-33.
- JANSEN, B., et al. Evidence for degradation of synthetic polyurethanes by *Staphylococcus epidermidis*. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 1991, 276.1: 36-45.
- KANNAN, Narayanan, et al. Polychlorinated biphenyls and nonylphenols in the Sea of Japan. *Environmental science & technology*, 1998, 32.12: 1747-1753.
- KASHIWADA, Shosaku. Distribution of nanoparticles in the see-through medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental health perspectives*, 2006, 114.11: 1697.

- KAY, M. J.; MORTON, L. H. G.; PRINCE, E. L. Bacterial degradation of polyester polyurethane. *International Biodeterioration*, 1991, 27.2: 205-222.
- KAY, M. J.; MCCABE, R. W.; MORTON, L. H. G. Chemical and physical changes occurring in polyester polyurethane during biodegradation. *International biodeterioration & biodegradation*, 1993, 31.3: 209-225.
- KISCHEL, Michael, et al. Dynamic infrared spectroscopy, a tool to detect hydrogen bonds in polymers?. *European polymer journal*, 1998, 34.11: 1571-1577.
- KOELMANS, Albert A.; BESSELING, Ellen; SHIM, Won J. Nanoplastics in the aquatic environment. Critical review. In: *Marine anthropogenic litter*. Springer International Publishing, 2015. p. 325-340.
- LEE, Seung-Hwan; TERAMOTO, Yoshikuni; SHIRAISHI, Nobuo. Biodegradable polyurethane foam from liquefied waste paper and its thermal stability, biodegradability, and genotoxicity. *Journal of Applied Polymer Science*, 2002, 83.7: 1482-1489.
- LOBELLE, Delphine; CUNLIFFE, Michael. Early microbial biofilm formation on marine plastic debris. *Marine Pollution Bulletin*, 2011, 62.1: 197-200.
- LOHMANN, Rainer, et al. PCBs and OCPs on a east-to-west transect: the importance of major currents and net volatilization for PCBs in the Atlantic Ocean. *Environmental science & technology*, 2012, 46.19: 10471-10479.
- LUSHER, A. L.; MCHUGH, M.; THOMPSON, R. C. Occurrence of microplastics in the gastrointestinal tract of pelagic and demersal fish from the English Channel. *Marine pollution bulletin*, 2013, 67.1-2: 94-99.
- MAAFI, El Miloud; MALEK, Fouad; TIGHZERT, Lan. Synthesis and characterization of new polyurethane based on polycaprolactone. *Journal of applied polymer science*, 2010, 115.6: 3651-3658.
- MAAß, Stefanie, et al. Transport of microplastics by two collembolan species. *Environmental Pollution*, 2017, 225: 456-459.
- MALISZEWSKA-KORDYBACH, Barbara, et al. Monitoring of the total content of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in arable soils in Poland. *Chemosphere*, 2008, 73.8: 1284-1291.
- MANABE, Masahiko; TATARAZAKO, Norihisa; KINOSHITA, Masato. Uptake, excretion and toxicity of nano-sized latex particles on medaka (*Oryzias latipes*) embryos and larvae. *Aquatic toxicology*, 2011, 105.3-4: 576-581.
- MATO, Yukie, et al. Plastic resin pellets as a transport medium for toxic chemicals in the marine environment. *Environmental science & technology*, 2001, 35.2: 318-324.
- MATTSSON, Karin, et al. Altered behavior, physiology, and metabolism in fish exposed to polystyrene nanoparticles. *Environmental Science & Technology*, 2014, 49.1: 553-561.
- MCMAHON, Clive R.; HOLLEY, Dave; ROBINSON, Susan. The diet of itinerant male Hooker's sea lions, *Phocarcos hookeri*, at sub-Antarctic Macquarie Island. *Wildlife Research*, 1999, 26.6: 839-846.

- MCMURRY, John. 2007. *Organická chemie*. Brno : Vysoké učení technické v Brně - Nakladatelství VUTIUM, 2007. ISBN 978-80-214-3291-8.
- MIZUKAWA, Kaoruko, et al. Bioconcentration and biomagnification of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) through lower-trophic-level coastal marine food web. *Marine pollution bulletin*, 2009, 58.8: 1217-1224.
- MORF, Leo S., et al. Brominated flame retardants in waste electrical and electronic equipment: substance flows in a recycling plant. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39.22: 8691-8699.
- MURRAY, Fiona; COWIE, Phillip Rhys. Plastic contamination in the decapod crustacean *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758). *Marine pollution bulletin*, 2011, 62.6: 1207-1217.
- NAKAJIMA-KAMBE, Toshiaki, et al. Isolation and characterization of a bacterium which utilizes polyester polyurethane as a sole carbon and nitrogen source. *FEMS microbiology letters*, 1995, 129.1: 39-42.
- NAKAJIMA-KAMBE, Toshiaki, et al. Determination of the polyester polyurethane breakdown products and distribution of the polyurethane degrading enzyme of *Comamonas acidovorans* strain TB-35. *Journal of fermentation and bioengineering*, 1997, 83.5: 456-460.
- NAKAJIMA-KAMBE, T., et al. Microbial degradation of polyurethane, polyester polyurethanes and polyether polyurethanes. *Applied microbiology and biotechnology*, 1999, 51.2: 134-140.
- NUELLE, Marie-Theres, et al. A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments. *Environmental Pollution*, 2014, 184: 161-169.
- OLOFSSON, J., OKSANEN, L. Role of litter decomposition for the increased primary production in areas heavily grazed by reindeer: a litterbag experiment. *Oikos*. 2002 Mar 1;96(3):507-15.
- OSMAN, Muhammad, et al. Degradation of Polyester Polyurethane by *Aspergillus* sp. Strain S45 Isolated from Soil. *Journal of Polymers and the Environment*, 2018, 26.1: 301-310.
- OWEN, Stephen., et al. Biodegradation of poly-D, L-lactic acid polyurethanes. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 1995, 32.4: 843-850.
- OWEN, Stephen, et al. The biodegradation of low-molecular-weight urethane compounds by a strain of *Exophiala jeanselmei*. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 1996, 60.2: 244-248.
- PETROVIC, Zoran S., et al. A chemical route to high molecular weight vegetable oil-based polyhydroxyalkanoate. *Macromolecules*, 2010, 43.9: 4120-4125.
- PHUA, S. K., et al. Biodegradation of a polyurethane in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 1987, 21.2: 231-246.
- PRIME, R. Bruce, et al. Thermogravimetric analysis (TGA). *Thermal analysis of polymers*, 2009, 241.
- RATTANAPAN, Suwat, et al. Preparation and properties of bio-based polyurethane foams from natural rubber and polycaprolactone diol. *Journal of Polymer Research*, 2016, 23.9: 182.
- REES, OJ. Fourier transform infrared spectroscopy. [electronic resource] : developments, techniques and applications. New York : Nova Science Publishers, c2010., 2010. (Chemical engineering methods and technology). ISBN: 9781616688356.

RILLIG, M. C. Microplastic in terrestrial ecosystems and the soil?. *Environmental science & technology*, 2012, 46.12: 6453-6454.

RIOS, Lorena M., et al. Quantitation of persistent organic pollutants adsorbed on plastic debris from the Northern Pacific Gyre's "eastern garbage patch". *Journal of Environmental Monitoring*, 2010, 12.12: 2226-2236.

RIST, Sinja; BAUN, Anders; HARTMANN, Nanna B. Ingestion of micro-and nanoplastics in *Daphnia magna*—Quantification of body burdens and assessment of feeding rates and reproduction. *Environmental Pollution*, 2017, 228: 398-407.

ROCHMAN, Chelsea M., et al. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in fish tissue may be an indicator of plastic contamination in marine habitats. *Science of the Total Environment*, 2014, 476: 622-633.

RODRIGUEZ-SEIJO, A., et al. Histopathological and molecular effects of microplastics in *Eisenia andrei* Bouché. *Environmental Pollution*, 2017, 220: 495-503.

ROWE, Lori; HOWARD, Gary T. Growth of *Bacillus subtilis* on polyurethane and the purification and characterization of a polyurethanase-lipase enzyme. *International biodeterioration & biodegradation*, 2002, 50.1: 33-40.

RUSSELL, Jonathan R., et al. Biodegradation of polyester polyurethane by endophytic fungi. *Applied and environmental microbiology*, 2011, AEM. 00521-11.

RYAN, P. G.; CONNELL, A. D.; GARDNER, B. D. Plastic ingestion and PCBs in seabirds: is there a relationship?. *Marine pollution bulletin*, 1988, 19.4: 174-176.

SAHA, Mahua. *Distribution and source-identification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in aquatic environments in India*. Tokyo, 2008. Ph.D. thesis, Tokyo University of Agriculture and Technology.

SAHA, Mahua, et al. Sources of sedimentary PAHs in tropical Asian waters: differentiation between pyrogenic and petrogenic sources by alkyl homolog abundance. *Marine pollution bulletin*, 2009, 58.2: 189-200.

SARKAR, S., et al. Synthesis, characterization, and cytotoxicity analysis of a biodegradable polyurethane. *Materials and manufacturing processes*, 2006, 21.3: 291-296.

SIRACUSA, Valentina, et al. Biodegradable polymers for food packaging: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 2008, 19.12: 634-643.

SOMANI, Keyur P., et al. Castor oil based polyurethane adhesives for wood-to-wood bonding. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 2003, 23.4: 269-275.

STERN, Robert V.; HOWARD, Gary T. The polyester polyurethanase gene (pueA) from *Pseudomonas chlororaphis* encodes a lipase. *FEMS Microbiology Letters*, 2000, 185.2: 163-168.

TERAMOTO, Naozumi, et al. Biodegradable polyurethane elastomers prepared from isocyanate-terminated poly (ethylene adipate), castor oil, and glycerol. *Journal of applied polymer science*, 2010, 115.6: 3199-3204.

THOMPSON, Richard C., et al. Lost at sea: where is all the plastic?. *Science*, 2004, 304.5672: 838-838.

- TOŠOVSKÁ, Kateřina. *Stanovení biologické rozložitelnosti nových typů lehčených polyurethanů*. Praha, 2016. Bakalářská práce (Bc.). Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Ústav pro životní prostředí.
- UGOLINI, A., et al. Microplastic debris in sandhoppers. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2013, 129: 19-22.
- URGUN-DEMIRTAS, Meltem; SINGH, Dileep; PAGILLA, Krishna. Laboratory investigation of biodegradability of a polyurethane foam under anaerobic conditions. *Polymer Degradation and Stability*, 2007, 92.8: 1599-1610.
- VEGA, Rodney E.; MAIN, Tina; HOWARD, Gary T. Cloning and expression in *Escherichia coli* of apolyurethane-degrading enzyme from *Pseudomonas fluorescens*. *International biodeterioration & biodegradation*, 1999, 43.1-2: 49-55.
- VELZEBOER, I.; KWADIJK, C. J. A. F.; KOELMANS, A. A. Strong sorption of PCBs to nanoplastics, microplastics, carbon nanotubes, and fullerenes. *Environmental science & technology*, 2014, 48.9: 4869-4876.
- VON MOOS, Nadia; BURKHARDT-HOLM, Patricia; KÖHLER, Angela. Uptake and effects of microplastics on cells and tissue of the blue mussel *Mytilus edulis* L. after an experimental exposure. *Environmental science & technology*, 2012, 46.20: 11327-11335.
- WALES, D. S.; SAGAR, B. F. Mechanistic aspects of polyurethane biodeterioration. In: *Biodeterioration 7*. Springer, Dordrecht, 1988. p. 351-358.
- WANG, Hui; CHEN, Hong-Zhang. A novel method of utilizing the biomass resource: Rapid liquefaction of wheat straw and preparation of biodegradable polyurethane foam (PUF). *Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers*, 2007, 38.2: 95-102.
- WARD, J. Evan; KACH, Dustin J. Marine aggregates facilitate ingestion of nanoparticles by suspension-feeding bivalves. *Marine Environmental Research*, 2009, 68.3: 137-142.
- WRIGHT, Stephanie L., et al. Microplastic ingestion decreases energy reserves in marine worms. *Current Biology*, 2013, 23.23: R1031-R1033.
- WRIGHT, Stephanie L.; THOMPSON, Richard C.; GALLOWAY, Tamara S. The physical impacts of microplastics on marine organisms: a review. *Environmental Pollution*, 2013, 178: 483-492.
- YAO, Yaoguang; YOSHIOKA, Mariko; SHIRAISHI, Nobuo. Water-absorbing polyurethane foams from liquefied starch. *Journal of applied polymer science*, 1996, 60.11: 1939-1949.
- ZIA, Khalid Mahmood; BHATTI, Haq Nawaz; BHATTI, Ijaz Ahmad. Methods for polyurethane and polyurethane composites, recycling and recovery: A review. *Reactive and functional polymers*, 2007, 67.8: 675-692.
- ZHANG, Shijie, et al. FTIR spectroscopic characterization of polyurethane-urea model hard segments (PUUMHS) based on three diamine chain extenders. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2007, 66.1: 188-193.
- ZHANG, Lin; LOHMANN, Rainer. Cycling of PCBs and HCB in the surface ocean-lower atmosphere of the open Pacific. *Environmental science & technology*, 2010, 44.10: 3832-3838.

ZHANG, HaiRong, et al. Biodegradability of polyurethane foam from liquefied wood based polyols. *Journal of Polymers and the Environment*, 2013, 21.2: 329-334.

Plastics-the Facts 2017. *PlasticsEurope* [online]. Brusel: PlasticsEurope, 2017 [cit. 26.3.2018].
Dostupné z: <https://www.plasticseurope.org/en/resources/publications/274-plastics-facts-2017>

9 Přílohy

Seznam příloh:

Příloha 1: Chemická struktura PUR BIO 8-10

Příloha 2: Chemické struktury surovin pro syntézu BIO 8-10

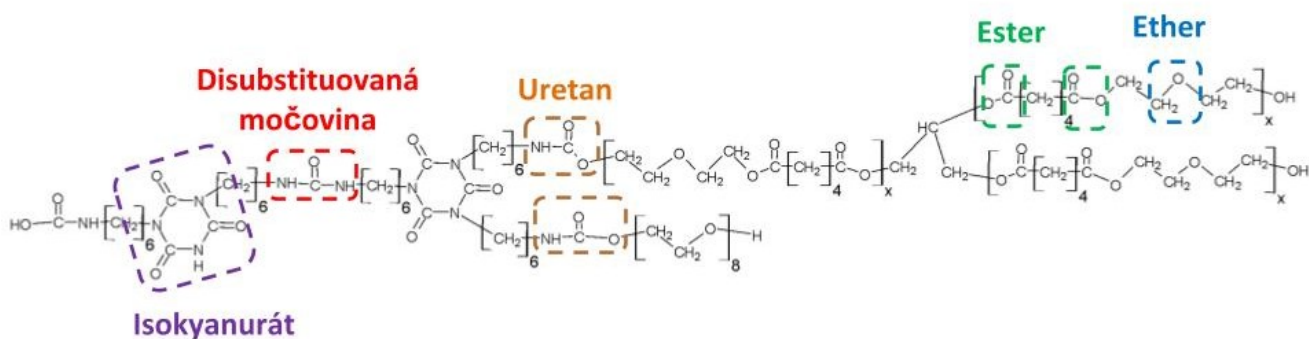
Příloha 3: Biodegradační pokus probíhající v termoboxu

Příloha 4: Titrace zbytkového KOH po záchytu CO₂ uvolněného při mineralizaci

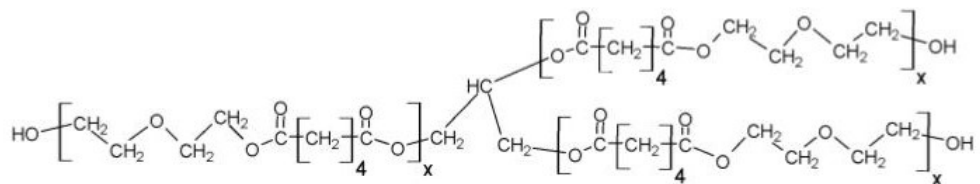
Příloha 5: Fluidizace PUR z kontaminované půdy obsahující PAU

Příloha 6: Přečišťování extraktů PAU přes SPE kolonky; kondicionování kolonek

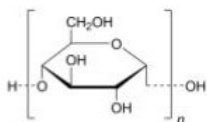
Příloha 7: Přečišťování extraktů PAU přes SPE kolonky; vymývání analytů do vialek



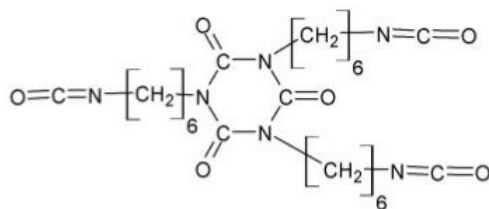
Příloha 1: Chemická struktura PUR BIO 8-10 (Ing. Hynek Beneš, Ph.D.)



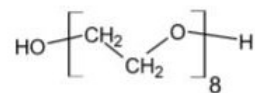
polyester triol



škrob



isokyanát



PEG 400

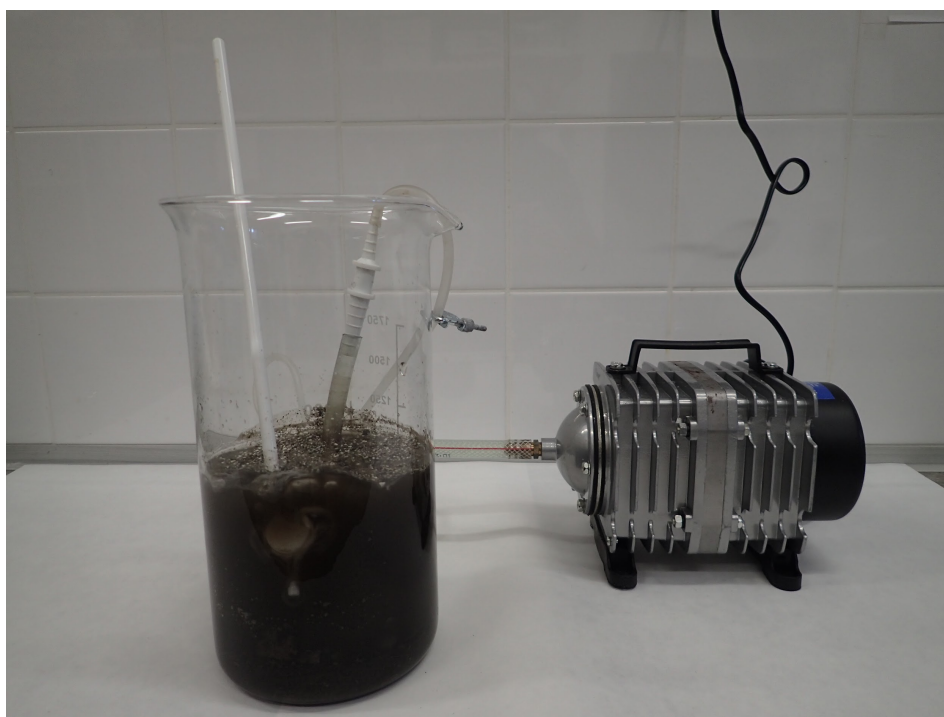
Příloha 2: Chemické struktury surovin pro syntézu BIO 8-10 (Ing. Hynek Beneš, Ph.D.)



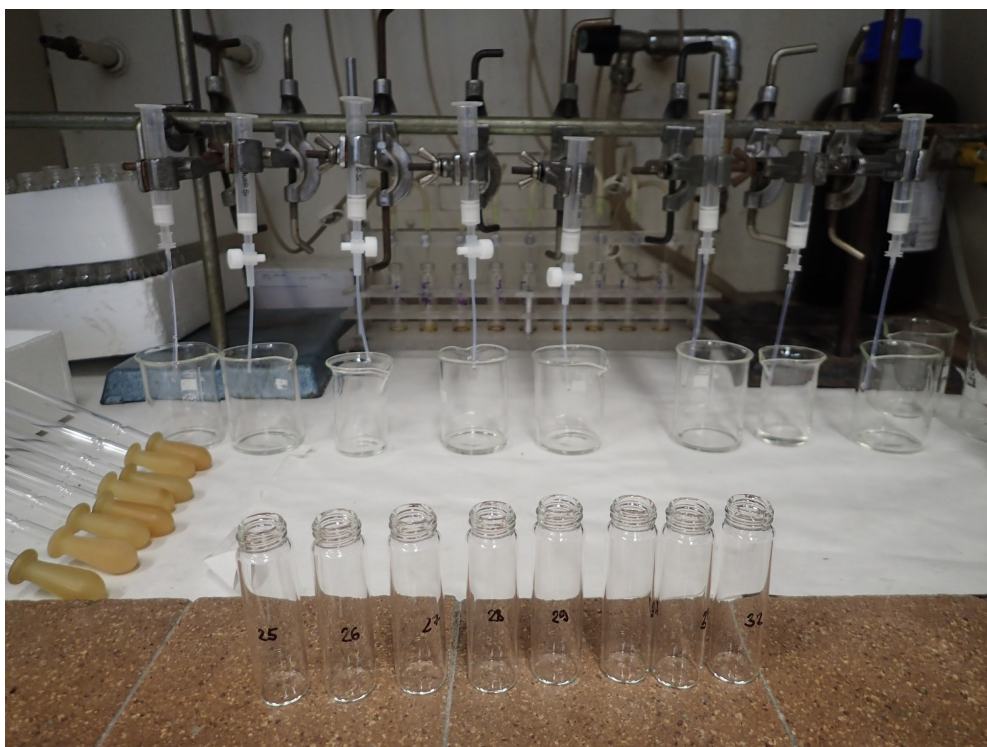
Příloha 3: Biodegradční pokus probíhající v termoboxu



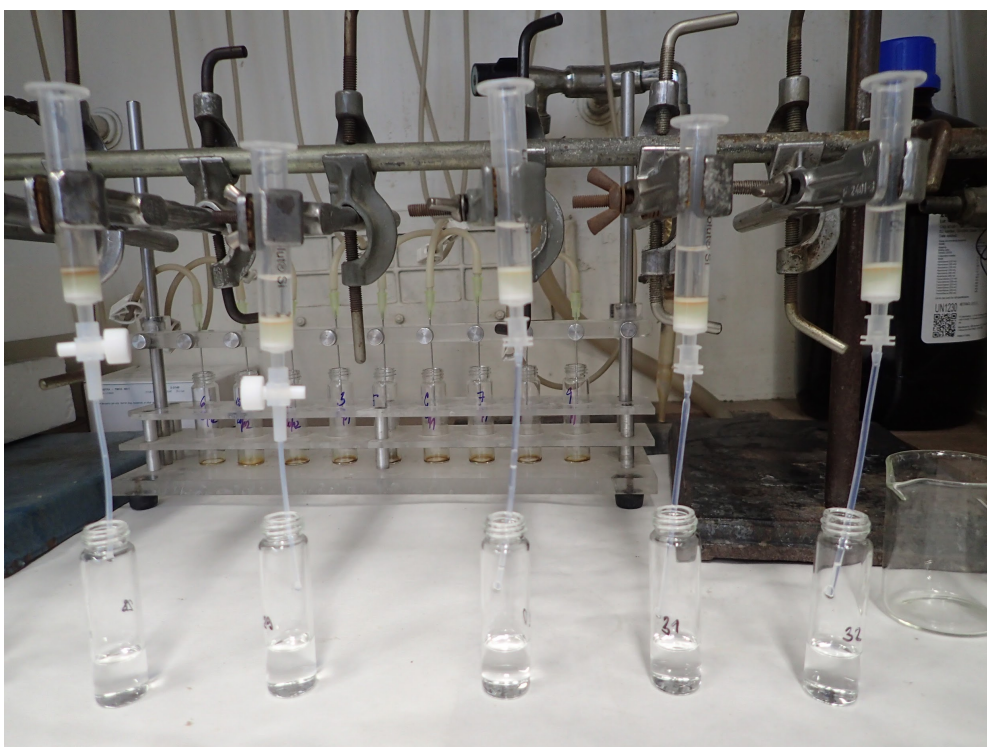
Příloha 4: Titrace zbytkového KOH po záchytu CO₂ uvolněného při mineralizaci



Příloha 5: Fluidizace PUR z kontaminované půdy obsahující PAU



Příloha 6: Přečišťování extraktů PAU přes SPE kolonky; kondicionování kolonek



Příloha 7: Přečišťování extraktů PAU přes SPE kolonky; vymývání analytů do vialek