



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

## ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

# VLIV BIODEGRADACE POLYHYDROXYALKANOÁTŮ NA VLASTNOSTI A SLOŽENÍ PŮDY

INFLUENCE OF BIODEGRADATION OF POLYHYDROXYALKANOATES ON SOIL PROPERTIES AND COMPOSITION

## DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

## AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Pavla Denková

## VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. Ing. Jiří Kučerík, Ph.D.

BRNO 2022

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1676/2021 Akademický rok: 2021/22  
Ústav: Ústav chemie a technologie ochrany  
životního prostředí  
Studentka: **Bc. Pavla Denková**  
Studijní program: Chemie a technologie ochrany  
životního prostředí  
Studijní obor: Chemie a technologie ochrany  
životního prostředí  
Vedoucí práce: **prof. Ing. Jiří Kučerík, Ph.D.**

### Název diplomové práce:

Vliv biodegradace polyhydroxyalkanoátů na vlastnosti a složení půdy

### Zadání diplomové práce:

1. Vypracování rešeršní práce na téma stabilizačních mechanismů uhlíku v půdě, půdní procesy, půdní analýza, biodegradace polymerů v půdě, voda v půdě.
2. Provedení biodegradčních experimentů v půdě (květináčové experimenty s vybranou rostlinou).
3. Vyhodnocení dat: síťová analýza, stanovení pF a výparné enthalpie vody z půdy, termogravimetrie půdy.
4. Diskuze vlivu biodegradace na studované půdní vlastnosti.

### Termín odevzdání diplomové práce: 13.5.2022:

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

-----  
Bc. Pavla Denková  
studentka

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

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

V Brně dne 1.2.2022

-----  
prof. Ing. Michal Veselý, CSc.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Biodegradabilní plasty jsou prezentovány jako slibná náhrada za syntetické polymery. Očekává se, že v půdě jsou během krátké doby plně odbourány přítomnými mikroorganismy a že jsou ze své podstaty neškodné pro životní prostředí. Správnost tohoto předpokladu je ale nutné ověřit, přičemž je důležité věnovat pozornost jak vlivu na půdní biotu, tak také vlivu procesu biodegradačních procesů na vlastnosti, složení a strukturu půdy.

V této práci je studován vliv biodegradace poly(R-3-hydroxybutyrátu), (P3HB), patřícího do skupiny polyhydroxyalkanoátů, na strukturu a fyzikálně-chemické vlastnosti půdy. Částice P3HB byly smíchány v různých koncentracích s půdou, ve které byly provedeny nádobové biodegradační experimenty za různých podmínek – tj. s rostoucí rostlinou i bez rostliny, s hnojením dusíkatým hnojivem i bez. Po 90 dnech byla půda analyzována. Termogravimetrie byla využita ke stanovení množství nezdegradovaného mikrobioplastu a umožnila stanovit vliv biodegradace na vznik půdní organické hmoty. Diferenční kompenzační kalorimetrie poskytla informace o vlivu biodegradace na výparnou entalpii vody z půdy, taktéž bylo sledováno množství adsorbované vody v půdě. Dále byl stanoven vliv na polní vodní kapacitu a byla provedena síťová analýza jednotlivých vzorků, jež umožnila charakterizovat vliv biodegradace na distribuci velikosti půdních částic.

Bylo prokázáno, že podmínky biodegradace ovlivňují nejen její rychlost, ale i některé půdní parametry. Podle očekávání biodegradace P3HB probíhala rychleji v prostředí s dostatkem živin. Naproti tomu, nedostatek dusíku v systému s rostoucí rostlinou způsobil snížení hodnoty výparné entalpie vody a snížení množství vody v systému, což může vést ke snazšímu vysychání půdy a vytvoření stresových podmínek pro růst rostliny. U všech sérií vzorků s P3HB byla patrná zvýšená agregace půdních částic v porovnání s půdami bez přídavku P3HB.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Biodegradace, biodegradabilní plasty, polyhydroxybutyrát, půda, termogravimetrie, diferenční kompenzační kalorimetrie.

## **ABSTRACT**

Biodegradable plastics are presented as a promising replacement for synthetic polymers. In soil, they are expected to be fully degraded by micro-organisms within a short time and to be inherently harmless to the environment. However, this assumption needs to be verified, and it is important to pay attention to the impact on soil's biota as well as the effect of the biodegradation process could have on soil properties, composition and structure.

In this work was studied the effect of biodegradation of poly(R-3-hydroxybutyrate), (P3HB), belonging to the group of polyhydroxyalkanoates, on the structure and physicochemical properties of soil. P3HB particles were mixed in different concentrations with soil in which biodegradation experiments were carried out under different conditions - i.e. with and without growing plant, with and without nitrogen fertilization. After 90 days, were soil analyzed. Thermogravimetry was used to determine the amount of residual non-degraded micro-bioplastics and to determine the effect of biodegradation on the properties of soil organic matter. Differential scanning calorimetry provided information on the effect of biodegradation on the evaporation enthalpy of adsorbed water from the soil, while the amount of water in the soil was also determined. Furthermore, the effect on field water holding capacity was determined and sieve analysis of individual samples was performed to characterize the effect of biodegradation on soil particle size distribution.

Biodegradation conditions were shown to affect not only the rate of biodegradation but also some soil parameters. As expected, biodegradation of P3HB was proved to be faster in a nutrient-rich environment. In contrast, lack of nitrogen in soil with growing plant caused a decrease in the evaporation enthalpy of water and a reduction in the amount of water in soil, which can lead to easier soil drying and cause stress conditions for plant growth. Increased soil particle aggregation was observed in all sample series with P3HB compared to soils without P3HB addition.

## **KEYWORDS**

Biodegradation, biodegradable plastics, polyhydroxybutyrate, microplastic, thermogravimetry, differential scanning calorimetry.

## **BIBLIOGRAFICKÁ CITACE**

DENKOVÁ, Pavla. *Vliv biodegradace polyhydroxyalkanoátů na vlastnosti a složení půdy*. Brno, 2022. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/138484>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí . Vedoucí práce Jiří Kučerík.

## **PROHLÁŠENÍ**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma **Vliv biodegradace polyhydroxyalkanoátů na vlastnosti a složení půdy** vypracovala samostatně a že jsem všechny použité literární zdroje správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být použita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

-----

Datum

-----

Podpis studenta

## **PODĚKOVÁNÍ**

Děkuji tímto vedoucímu mé diplomové práce prof. Ing. Jiřímu Kučeríkovi, Ph.D. za vstřícnost, materiály, cenné rady a čas, který mi věnoval při vypracování diplomové práce. Rovněž děkuji svému konzultantu Ing. Jakubu Fojtovi za podporu a rady, které mi poskytl. Dále bych ráda poděkovala pracovníkům Agronomické fakulty Mendelovy univerzity v Brně za uskutečnění nádobových experimentů a Ing. Elišce Kameníkové za výpomoc při provedení termogravimetrických experimentů. Na závěr bych chtěla poděkovat své rodině, partnerovi a přátelům za nesmírnou podporu během celého studia.

# OBSAH

ÚVOD.....	9
<b>TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>10</b>
<b>1 BIODEGRADABILNÍ PLASTY.....</b>	<b>10</b>
1.1 Polyhydroxyalkanoáty (PHA).....	11
1.1.1 Poly(R-3-hydroxybutyrát) .....	12
1.1.2 Poly(3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyvalerát) .....	14
1.1.3 Poly(3-hydroxybutyrát-co-4-hydroxybutyrát).....	14
1.1.4 Poly(3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyhexanoát) .....	14
1.1.5 Poly(4-hydroxybutyrát) .....	14
<b>2 PŮDA.....</b>	<b>15</b>
2.1 Funkce půdy.....	15
2.2 Abiotická složka půdy, vlastnosti půdy.....	15
2.2.1 Půdní textura/zrnitost .....	16
2.2.2 Půdní struktura.....	17
2.2.3 Porozita půdy .....	17
2.2.4 Voda v půdě.....	18
2.2.5 Vzduch v půdě .....	19
2.2.6 Teplota půdy .....	19
2.2.7 Redox potenciál půdy.....	20
2.2.8 pH půdy.....	20
2.2.9 Půdní koloidy, výměnná kapacita půd .....	21
2.3 Biotická složka půdy.....	22
2.3.1 Půdní edafon.....	22
2.3.2 Půdní flóra.....	23
2.3.3 Rhizosféra.....	23
2.3.4 Příjem živin z půdy .....	23
2.4 Koloběhy živin v půdě .....	24
2.4.1 Koloběh uhlíku .....	24
2.4.2 Koloběh dusíku .....	25
<b>3 DEGRADACE PLASTŮ .....</b>	<b>27</b>
3.1 Biotická degradace.....	27
3.2 Abiotická degradace.....	29
3.3 Mikroplasty .....	29
3.3.1 Zdroje mikroplastů.....	30
3.3.2 Mikroplasty v půdě .....	30
<b>4 VLIV MIKROBIOPLASTŮ NA PŮDU A PŮDNÍ ORGANISMY.....</b>	<b>33</b>



<b>5</b>	<b>PŮDNÍ EXPERIMENTY, ANALÝZA PŮDY .....</b>	<b>35</b>
5.1	Biodegradační nádobové experimenty .....	35
5.2	Analýza půdy s využitím diferenční kompenzační kalorimetrie .....	35
5.3	Termogravimetrická analýza půdy.....	37
5.4	Stanovení polní vodní kapacity.....	38
5.5	Sítová analýza.....	39
	<b>CÍL PRÁCE.....</b>	<b>40</b>
	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....</b>	<b>41</b>
<b>6</b>	<b>METODIKA .....</b>	<b>41</b>
6.1	Příprava vzorků .....	41
6.2	Použité chemikálie a pomůcky .....	41
6.3	Použité metody .....	41
6.3.1	Termogravimetrie .....	41
6.3.2	Diferenční kompenzační kalorimetrie .....	42
6.3.3	Stanovení polní vodní kapacity.....	42
6.3.4	Sítová analýza.....	42
<b>7</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE.....</b>	<b>44</b>
7.1	Stanovení množství reziduálního P3HB .....	44
7.2	Ovlivnění půdní organické hmoty .....	45
7.3	Vliv na chování půdní vlhkosti .....	48
7.4	Ovlivnění polní vodní kapacity.....	52
7.5	Vliv na distribuci půdních částic.....	53
<b>8</b>	<b>SHRNUTÍ VÝSLEDKŮ .....</b>	<b>60</b>
	<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>63</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ .....</b>	<b>64</b>
	<b>SEZNAM ZKRATEK .....</b>	<b>77</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>78</b>
	<b>SEZNAM TABULEK .....</b>	<b>80</b>
	<b>PŘÍLOHY .....</b>	<b>81</b>

## ÚVOD

Plasty vyrobené z ropy jsou v současnosti hojně nahrazovány biodegradabilními alternativami. U těchto materiálů se předpokládá, že se přírodními procesy kompletně rozloží, přičemž jak procesy tak i degradační produkty budou šetrné k životnímu prostředí. Z tohoto důvodu jsou biodegradabilní plasty využívány v zemědělství jako mulčovací fólie, květináče a nebo jako nosiče hnojiv pro řízené uvolňování agrochemikálií [1; 2].

Nicméně, jak naznačují některé studie, při procesu biodegradace nemusí materiál zdegradovat úplně [3], částice bioplastů se uvolňují do půdy, kde mohou setrvat podstatně delší dobu než se předpokládalo. Stejně jako u plastů vyrobených z fosilních zdrojů, tak i u rozložitelných plastů, tedy existuje riziko tvorby mikroplastů nebo přesněji mikrobioplastů. Zároveň z některých prací vyplývá, že biodegradabilní materiál může procesem biodegradace negativně ovlivňovat své okolí [4].

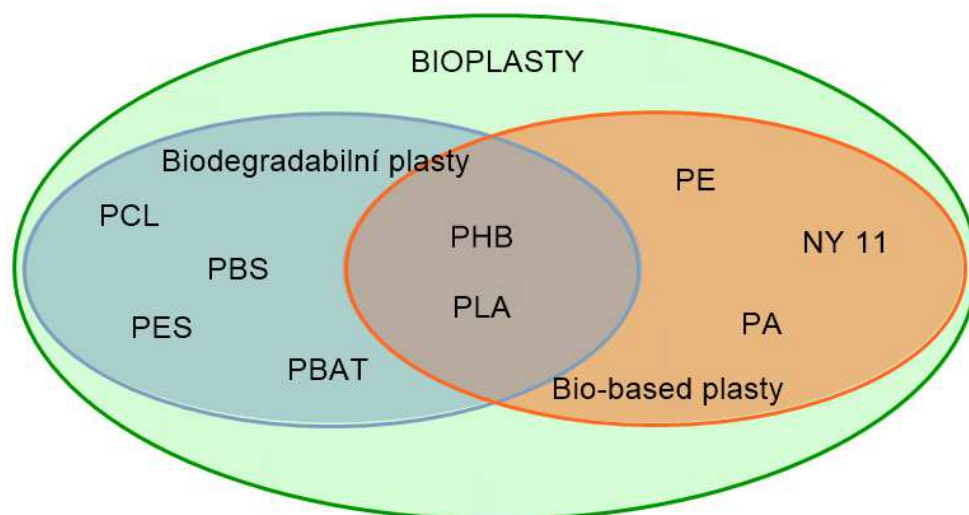
V České republice nalézají rozložitelné plasty své místo na trhu i jako obalové materiály a v potravinářství [5]. Ale jejich materiálová, chemická nebo surovinová recyklace není doposud uspokojivě vyřešena. Plánovaný způsob likvidace biodegradovatelných materiálů kompostováním není v současné době legislativně dořešen. Zároveň není vypracovaný systém pro jejich separaci, protože tento typ materiálu představuje kontaminaci jak ve žlutých, tak i v hnědých nádobách na separovaný odpad. Masivní produkce biodegradabilních plastů tedy může nastat až ve chvíli, kdy bude vytvořen systém, který zajistí vhodné nakládání s tímto plastovým materiálem. Než se tyto problémy vyřeší, je třeba dostatečně prostudovat možné vlivy těchto materiálů na životní prostředí ve všech fázích jejich životního cyklu.

Prozatím není vliv biodegradabilních materiálů a jejich biodegradačních produktů na životní prostředí dostatečně prostudován. Existuje několik studií, jež se zaměřuje na vliv rozložitelných plastů na živočišné i rostlinné organismy, ale je nutné zaměřit se i na ovlivnění vlastností půdního systému. Danou problematiku napomáhá ozřejmit tato diplomová práce, která se věnuje vlivu biodegradace polyhydroxyalkanoátů na vybrané vlastnosti půdního systému.

## TEORETICKÁ ČÁST

### 1 BIODEGRADABILNÍ PLASTY

Plastové materiály jsou hojně využívány v různých odvětvích. Široké uplatnění plastů je způsobeno jejich různorodými vlastnostmi, které vychází z jejich složení a strukturálního uspořádání [6]. Většina konvenčních plastů zároveň vyniká svou odolností, která je zajištěna přidávkem aditiv [7]. Vysoká odolnost proti erozi a degradaci, jež způsobuje perzistenci plastů [6], může mít v kombinaci se vzrůstající produkcí negativní vliv na životní prostředí, např. ovlivnění ekosystému v důsledku vzniku mikroplastů, uvolnění nebezpečných látek použitých při výrobě plastů a jejich aditiva, nesprávné nakládání s plastovým odpadem, atd. [8]. Alternativou ke konvenčním plastům jsou biodegradabilní plastové materiály, které jsou zařazeny do skupiny tzv. bioplastů (Obrázek 1) [9]. Tímto pojmem jsou označovány materiály, které jsou buď vyrobeny z obnovitelného zdroje (tzv. bio-based plasty) nebo jsou biologicky rozložitelné (případně splňují obě kritéria zároveň) [10; 11]. Z této definice vyplývá, že pokud materiál biologicky degraduje, je označován jako bioplast, nezávisle původu primární suroviny. Biodegradabilní plasty lze tedy syntetizovat z obnovitelných i fosilních zdrojů [1; 10].



Obrázek 1: Rozdělení bioplastů [11]

(PCL – polykaprolakton, PBS – polybutylensukcinát, PES – polyethersulfon, PBAT – polybutylen tereftalátadipát, PHB – poly(R-3-hydroxybutyrát), PLA – polymléčná kyselina, PE – polyethylen, NY 11 – nylon11, PA – polyamid).

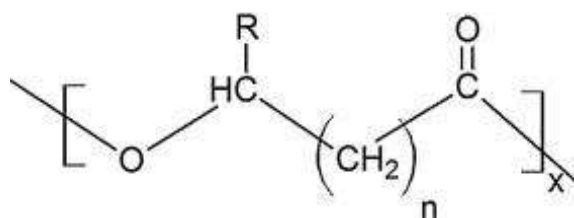
Biodegradace plastů je proces, při kterém dochází k rozkladu materiálu v důsledku působení mikroorganismů a jejich enzymů [11]. Podrobnější vysvětlení procesu biodegradace viz kapitola 3.1 *Biotická degradace*.

Největší snaha o využívání biologicky rozložitelných plastů je v oblasti obalových materiálů, které jsou určeny pouze na jedno použití. Pilotní studie ukázaly, že mají potenciál fungovat ekvivalentně s konvenčními plasty jako obaly na potraviny [5; 12]. Dále tyto polymery nalézají uplatnění jako alternativa k polyethylenovým mulčovacími fóliím, které se využívají v zemědělství [1]. Mulčovací fólie je využívána jako prostředek, který pomáhá regulovat růst plevelu, udržuje půdní vlhkost a zajišťuje příznivé mikroklima. Biologicky rozložitelné plastové fólie jsou navrhovány tak, aby byly po použití zapracovány do země, čímž odpadá jejich odstraňování a likvidace [12; 13]. Většímu používání těchto mulčovacích fólií však brání vyšší náklady a dosud nejistý vliv degradace těchto polymerů na půdní vlastnosti [13; 14]. Neúplný rozklad biologicky rozložitelného plastu by mohl vést k akumulaci plastových fragmentů v půdě [12; 13], jež mohou mít vliv na vlastnosti půdy (viz kapitola 3.3 *Mikroplasty*).

Na trhu se objevují i tzv. oxo-degradabilní polymery (též označovány jako oxo-biodegradabilní). Je nutné zmínit, že jsou považovány za specifickou skupinu plastů. Jedná se o polymery na ropné bázi, které jsou obohaceny vybranými přísadami (nejčastěji přechodné kovy – např. nikl, železo, mangan, kobalt) [15; 16]. Tyto látky fungují jako prooxidanty a dodávají plastu schopnost se rozložit. Dlouhý polymerový řetězec je rozrušen za vzniku menších fragmentů (abiotický proces), které jsou poté zpracovávány mikroorganismy (biotický proces) [15]. Bylo vysloveno mnoho obav, zda jsou oxo-degradabilní plasty plně rozložitelné podle mezinárodních norem – EN14855 [15; 17], EN13432 [15; 18]. Této problematice se v posledních letech intenzivně věnuje i Evropská komise, která podala v roce 2018 zprávu Evropskému parlamentu a Evropské radě o dopadu používání oxo-rozložitelných plastů na životní prostředí. V této zprávě jsou Evropskou komisí shrnovány aktuální poznatky o rozložitelnosti tohoto materiálu. Zdůrazňuje, že nemusí dojít k úplnému rozkladu oxo-biodegradabilní polymerů. Dále jsou zmiňovány i potenciální toxické účinky přidávaných aditiv. V závěru uvádí, že neexistuje dostatek důkazů o benefitech těchto materiálů, naopak je zde velké množství potenciálních rizik. Proto je zahájen proces omezení používání oxo-degradabilních plastů [19; 20].

### 1.1 Polyhydroxyalkanoáty (PHA)

Polyestery různých hydroxyalkanových kyselin jsou označovány jako polyhydroxyalkanoáty (Obrázek 2). Syntetizovány jsou mnoha gram pozitivními i gram negativními bakteriemi z nejméně 75 různých rodů [21]. Mezi gram negativní bakterie, jež mají schopnost vytvářet PHA patří *Caenibacterium*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Anabaena* a mnoho dalších. Gram pozitivních bakterií produkujících PHA je menší množství. Tuto možnost mají rody *Actinomycetes*, *Derxia*, *Clostridium* [22; 23]. V současné době je objeveno více než 150 monomerů polyhydroxyalkanotátů, které lze dále kombinovat v kopolymerech [24]. Akumulují se intracelulárně a mají funkci uhlíkové a energetické rezervy, kterou bakterie využívají v případě vyčerpání vnějších zdrojů [21]. V organismech, které je produkují, se kumulují v podobě granulí, které jsou obklopeny specifickými fosfolipidy a proteiny [23].

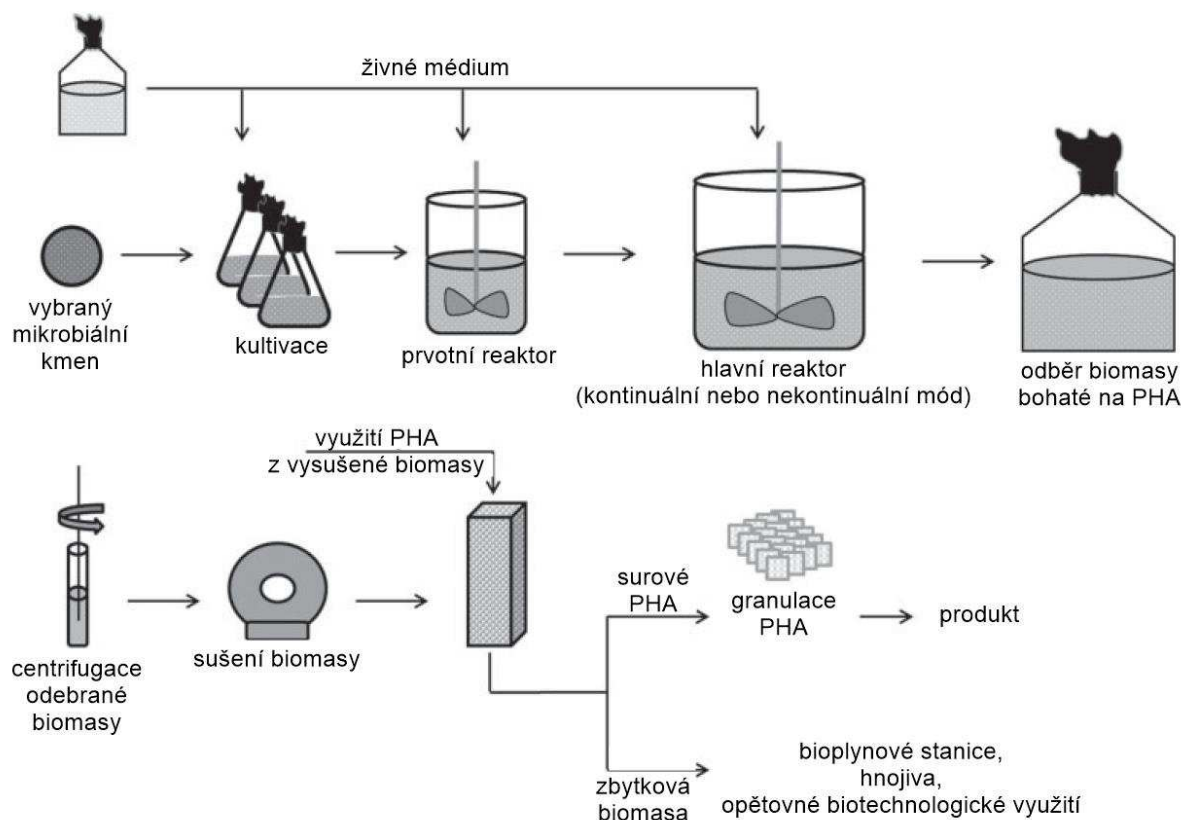


Obrázek 2: Obecná struktura polyhydroxyalkanoátu [25].

Polyhydroxyalkanoáty jsou netoxické, biologicky rozložitelné, opticky aktivní a mají vysoký stupeň polymerace. Zároveň jsou nerozpustné ve vodě a relativně odolné vůči hydrolytické degradaci. Tyto vlastnosti je činí vhodné jako náhradu polypropylenu [21; 26]. Plná konkurenceschopnost konvenčním plastům prozatím není zajištěna, což je způsobeno hlavně vyššími výrobními náklady v porovnání s ropnými plasty [22].

V závislosti na počtu atomů uhlíku v monomerech jsou PHA klasifikovány do dvou odlišných skupin: scl-PHA (PHA s krátkým řetězcem) a mcl-PHA (PHA se středně dlouhým řetězcem). Monomery polyhydroxyalkanoátů s krátkým řetězcem se skládají ze 3 – 5 atomů uhlíku a syntetizuje je řada bakterií, např. *Cupriavidus necator*. PHA s dlouhým řetězcem jsou vytvořeny z monomerů, které mají 6 – 14 atomů uhlíku a jsou zásobárnou energie hlavně u druhů *Pseudomonas* [25].

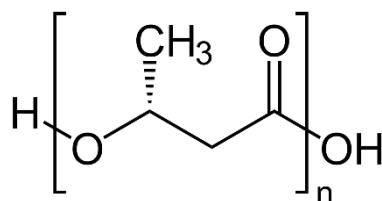
Výroba tohoto typu bioplastu je zajištěna biotechnologickou cestou (přestože je lze připravit i synteticky). Proces syntézy jednotlivých typů PHA závisí na zdroji uhlíku [22]. Jako suroviny lze využít odpad ze zemědělské výroby (hlavně z důvodu obsahu polysacharidů) [27], oleje [28], odpadní CO<sub>2</sub> [29] nebo i methan [30]. Při biosyntéze z tuků a olejů dochází k β-oxidaci mastných kyselin. V případě sacharidů dochází ke glykolýze a dehydrogenaci pyruvátu [23]. V bakteriích se PHA vytváří vlivem PHA syntetáz, které katalyzují polymeraci monomerů. Při průmyslové výrobě syntéza probíhá v reaktorech, kde jsou bakterie vlivem stresu (např. snížení koncentrace esenciálních prvků) donuceny k ukládání PHA. Poté je biomasa odebrána a PHA je po izolaci využíváno k dalšímu zpracování [22]. Schématické znázornění výroby viz *Obrázek 3*.



*Obrázek 3: Schéma výroby polyhydroxyalkanoátu. Převzato z [22] a upraveno.*

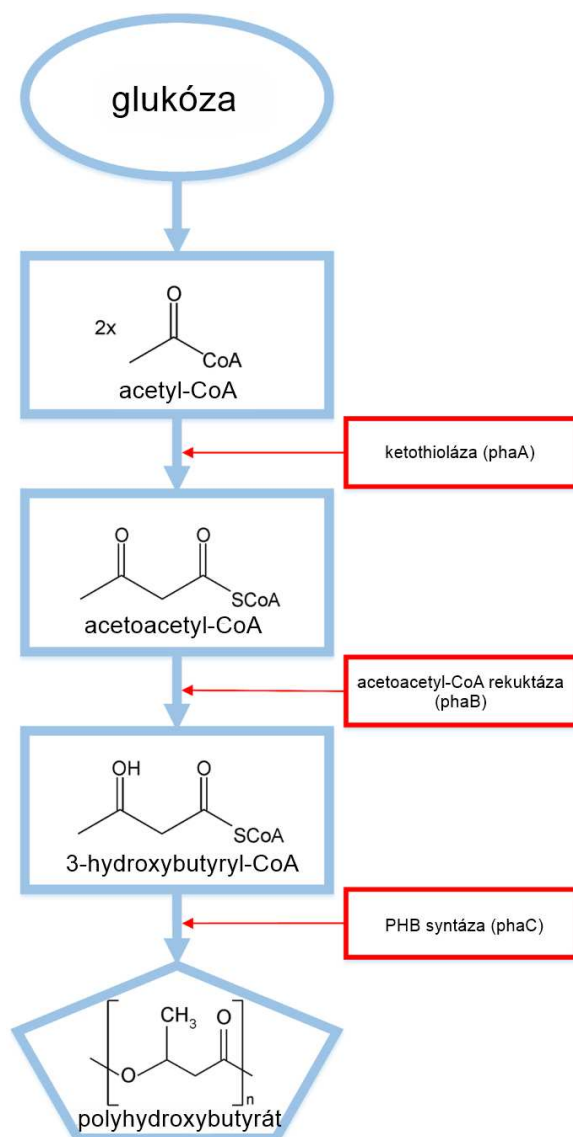
### 1.1.1 Poly(R-3-hydroxybutyrát)

Tento polymer patří k nejvyužívanějším biodegradabilním plastům. Zkráceně bývá označován jako P3HB nebo PHB. Poprvé byl izolován a charakterizován Mauricem Lemoignem v roce 1926 [31]. Ve své struktuře obsahuje monomer 3-hydroxybutanové kyseliny [32] (*Obrázek 4*).



*Obrázek 4: Chemická struktura poly(R-3-hydroxybutyrátu) [33].*

Mikrobiální syntéza poly(R-3-hydroxybutyrátu) z glukózy je zahájena reakcí dvou částic acetyl-CoA, které zkondenzují za vzniku acetoacetyl-CoA. Tato reakce je katalyzována  $\beta$ -ketothiolázou. Acetoacetyl-CoA je redukován na 3-hydroxybutyryl-CoA, jehož polymerací se syntetizuje P3HB [32; 34].



Obrázek 5: Schéma syntézy P3HB. Převzato z [34] a upraveno.

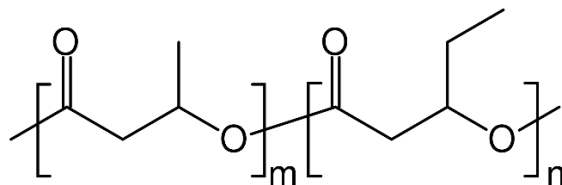
Vlastnosti polymeru vychází z jeho struktury. Poly(R-3-hydroxybutyrát) je stereoregulární, opticky aktivní. Lze jej zpracovávat vytlačováním, vstřikováním, foukáním a tvarováním za tepla [31]. Některými autory je uváděná teplota tání 173 °C [31; 35], ale lze najít i jiné hodnoty, které se obecně pohybují v rozmezí 173 – 180 °C [31; 36; 37]. Teplota, která iniciuje degradaci P3HB je 212 °C a teplota rozkladu je 260 °C [31; 38]. Poly(R-3-hydroxybutyrát) má také řadu výhod oproti syntetickým polymerům. Bariérová propustnost P3HB je lepší než v případě polyethylenu (PE) či polypropylenu (PP). Dále bylo zjištěno, že je tento materiál více tuhý a pružný než polypropylen (PP) [39].

Tento materiál je pro své vlastnosti využíván ve farmakologické oblasti, v zemědělství, nalézá uplatnění také v biomedicině a jako obalový materiál [31].

Poly(R-3-hydroxybutyrát) byl využit jako modelový zástupce polyhydroxyalkanoátů v experimentální části této práce.

### 1.1.2 Poly(3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyvalerát)

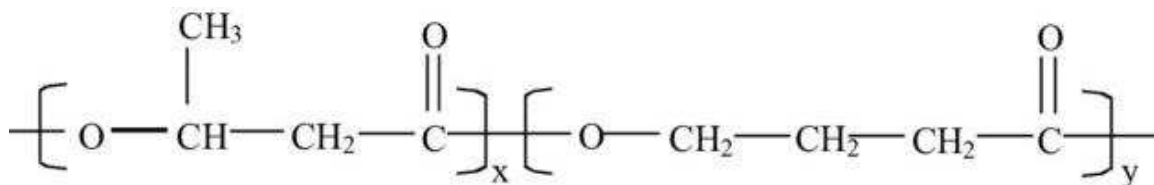
Tento kopolymer je označován zkratkou P(3HB-co-3HV) [40], též PHBV (Obrázek 6). Získává se kopolymerací kyseliny 3-hydroxybutanové a kyseliny 3-hydroxypentanové [41]. Nachází uplatnění jako obalový materiál a využívá se k řízenému uvolňování léků [42].



Obrázek 6: Chemická struktura poly(3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyvalerátu) [43].

### 1.1.3 Poly(3-hydroxybutyrát-co-4-hydroxybutyrát)

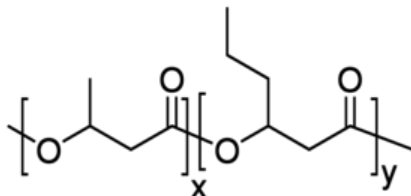
Materiál označován zkratkou P(3HB-co-4HB) se využívá se pro medicínské a farmaceutické aplikace [41]. Tyto kopolyestery mohou být různé termoplastické až zcela elastomerní v závislosti na obsahu 4HB [40]. Jeho chemická struktura viz Obrázek 7.



Obrázek 7: Chemická struktura poly(3-hydroxybutyrát-co-4-hydroxybutyrátu) [41].

### 1.1.4 Poly(3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyhexanoát)

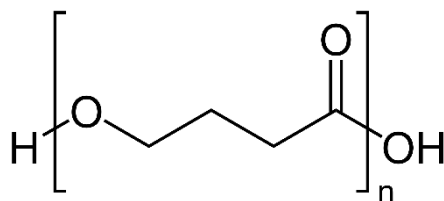
Zkratka tohoto materiálu je P(3HB-co-3HHx), znázornění chemické struktury viz Obrázek 8. Začlenění jednotky 3-hydroxyhexanoátu do systému 3-hydroxybutyrátu snižuje bod tání z přibližně 180 °C na méně než 155 °C, čímž se zlepšuje jeho tepelná zpracovatelnost [41].



Obrázek 8: Chemická struktura poly(3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyhexanoát) [44].

### 1.1.5 Poly(4-hydroxybutyrát)

Tento homopolymer je označován zkratkou P4HB (Obrázek 9) a je využíván v menší míře než ostatní polyhydroxyalkanoáty [40]. Materiál nelze vyrobit chemickou syntézou, je produkován geneticky modifikovanými organismy (např. *Escherichia coli*). V současné době je držitelem patentu na jeho výrobu společnost Tepha, která je jediným světovým výrobcem komerčního P4HB [45].



Obrázek 9: Chemická struktura poly(4-hydroxybutyrátu) [46].

## 2 PŮDA

Terestrický systém je jednou ze složek životního prostředí. Tento přírodní substrát vznikl procesem označovaným jako půdotvorba (též pedogeneze). Půda vzniká zvětráváním matečné horniny za působení biotických (biologické zvětrávání) i abiotických faktorů (fyzikální a chemické zvětrávání) [47; 48]. Charakter těchto procesů je určován několika základními činiteli: klima (tj. teplota, vlhkost), vegetace a půdní organismy, topografie, složení matečné horniny a čas. Vývoj půdy trvá tisíce let, ale k jejímu znehodnocení může dojít během krátkého okamžiku (např. vypuštění toxických látek) nebo během několika let při necitlivém obhospodařování [48].

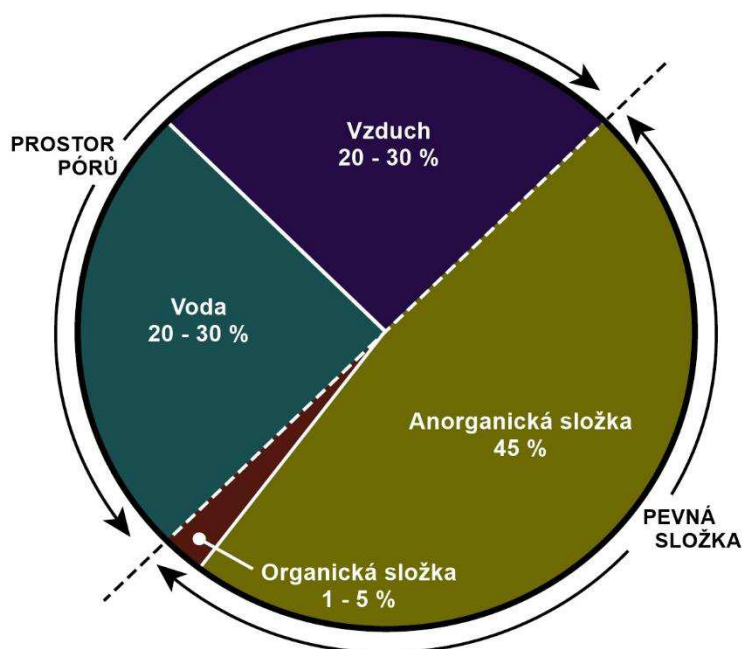
### 2.1 Funkce půdy

Půda je komplexní systém, který má řadu důležitých, tzv. ekosystémových, funkcí:

- zázemí půdních organismů,
- zádrž vody v krajině,
- poskytuje stavební materiál,
- zemědělství, zdroj potravy,
- regulace biochemických cyklů (např. sekvestrace uhlíku),
- zásobárna uhlíku,
- historické nálezy,
- regulace klimatu [49; 50].

### 2.2 Abiotická složka půdy, vlastnosti půdy

Složení a vlastnosti půdy se mohou pro jednotlivé typy půd výrazně lišit. Půda se skládá ze čtyř základních složek: anorganická část, organická část, voda a vzduch. Jejich typický poměr udávaný v modelových půdách je zobrazen níže v kruhovém grafu (Obrázek 10). Tyto složky ovlivňují fyzikální vlastnosti půdy včetně textury, struktury a pórovitosti. Půdní biota podporuje správnou funkci a vývoj terestrického systému [48; 51].



Obrázek 10: Složky půdy a jejich typický poměr (v hmotnostních procentech).  
Převzato z [51] a upraveno.

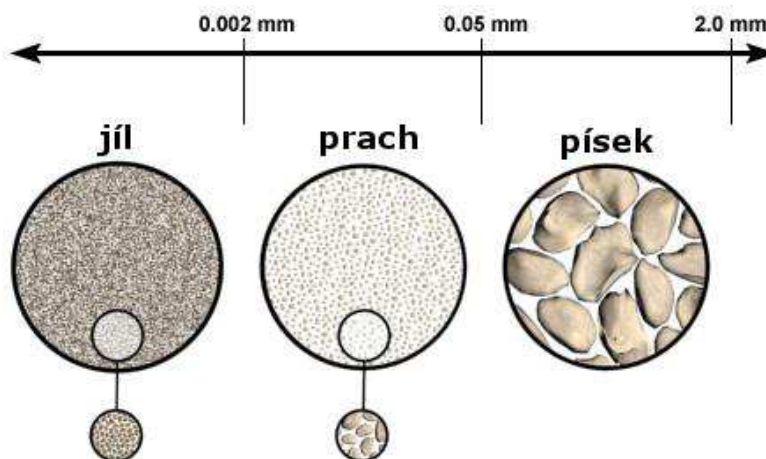


**Půdní anorganická složka** vzniká zvětráváním nejsvrchnější části zemské kůry (litosféry). Je tvořena zvětralými částmi původní horniny. Z matečné horniny vznikají rozpadem tzv. primární minerály, které mohou mít různé chemické složení – např. křemičitany (křemen, živce, slídy), uhličitaný (kalcit, dolomit), fosforečnany (flouroapatit), sírany (sádrovec). Z primárních minerálů vznikají přeměnou sekundární minerály, především jílové materiály [50; 51].

**Organickou část půdy** lze rozdělovat na neživou půdní organickou hmotu (zkratka SOM z angl. soil organic matter) a na půdní biotu (viz 2.3 *Biotická složka půdy*). Půdní organická hmota se zjednodušeně rozděluje na labilní (čerstvě odumřelá biomasa), stabilizovanou (stabilizované v agregátech nebo mikrobiologicky hůře odbouratelná) a stabilní (stabilizovaná interakcí s jílem a seskvioxidy), někdy též označována jako pasivní. Stabilní a stabilizovaná část půdní organické hmoty vzniká střednědobou a dlouhodobou půdotvorbou, při které se uplatňuje široké spektrum mikroorganismů [50]. Sekvestrace uhlíku závisí na dostupnosti stabilizačních prvků – dusíku, fosforu a síry [52]. Výluh půdní organické hmoty je označován jako rozpuštěná organická hmota (DOM z angl. dissolved organic matter). Organická hmota váže minerální částice do zrnité struktury půdy a je z velké části zodpovědná za produkční schopnost půdy. Zároveň SOM zvyšuje množství vody, kterou půda může zadržet [50]. Mezi další funkce půdní organické hmoty patří: nutriční funkce (je zdrojem dusíku, fosforu a síry), sorpční a pufrční schopnost, zvyšuje kationtovou výměnnou kapacitu, stabilizuje strukturu půdy, umožňuje výměnu plynů, je zdrojem energie pro organismy, má vliv na barvu půdy [50; 53].

### 2.2.1 Půdní textura/zrnitost

Minerální částice půdy jsou definovány různou velikostí, tvarem a složením. Tyto vlastnosti závisí na typu matečné horniny. K určení velikosti částic půdy se využívá nejčastěji síťová analýza [48; 51]. Podle velikosti částic se jednotlivé frakce rozdělují do několika skupin. Frakce obsahující částice větší než 2 mm se označuje jako skelet, podsítný podíl je definován jako jemnozeme, jež lze dále rozdělovat (*Obrázek 11*). Nejmenší zrna (<0,002 mm) má jíl, zároveň je v této frakci i nejméně volného prostoru mezi jednotlivými částicemi. Prachové částice jsou definovány velikostí 0,002 – 0,05 mm. Největší částice obsahuje frakce písku, kde je stanoven rozměr jednotlivých zrn v rozmezí 0,05 – 2 mm [48].



Obrázek 11: Zobrazení frakcí jemnozeme. Převzato z [54].

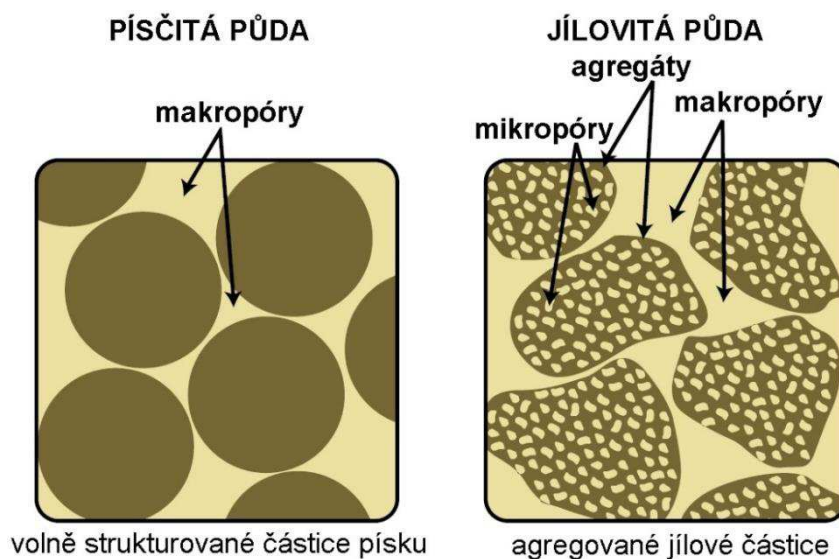
Dle podílu jednotlivých velikostních frakcí se půdy rozdělují na jednotlivé půdní druhy. Existuje několik klasifikačních systémů, přičemž v České republice se nejčastěji využívají dva – dle Nováka a dle Kopeckého [48].

### 2.2.2 Půdní struktura

Struktura půdy popisuje způsob, jakým jsou částice uspořádány a pospojovány dohromady ve větších shlucích, jež jsou označovány jako agregáty [50]. Jejich vznik je důležitý pro zvýšení odolnosti vůči erozi. Zároveň agregace umožňuje udržení pórovitosti, čímž je zajištěn prostor pro pohyb půdní vody [51]. Struktura půdy výrazně ovlivňuje prosperitu bioty v půdě. Tvorba agregátů je ovlivňována texturou půdy a přirozenými půdními procesy (např. nasycení vodou a vysoušení, střídání teplot, mikrobiální aktivita) [48]. Rozrušení půdní struktury je vnímáno jako forma degradace půdy, jež často souvisí se zemědělským využíváním půdy [55].

Agregace půdy odráží uspořádání primárních částic do větších strukturních jednotek a ovlivňuje množství a velikost pórů v půdě. Stabilita agregátu odráží úroveň biologické aktivity, obsah organické hmoty a koloběh živin v půdě. Jedná se o důležitý ukazatel stavu půdy [56].

Podle struktury je půda klasifikována buď jako velmi hrubá ( $> 10$  mm), hrubá (5 – 10 mm), střední (2 – 5 mm), jemná (1 – 2 mm) nebo velmi jemná ( $< 1$  mm) [56]. Makroagregáty jsou větší než 250  $\mu\text{m}$  a skládají se z mikroagregátů, jež jsou spojeny organickou hmotou, houbovými hyfy či mikrobiálními polysacharidy. Makroagregáty jsou narušovány zemědělskou činností. Agregáty menší než 250  $\mu\text{m}$  jsou označovány jako mikroagregáty. Několik mikroagregátů dohromady může vytvářet makroagregáty [50]. Např. hrubé (písčité) půdy mají mnoho velkých makropórů, jemné (jílovité) půdy obsahují malé mikropóry a jsou těsněji uspořádány (Obrázek 12) [51].



Obrázek 12: Znárodnění struktury písčité a jílovité půdy. Převzato z [51] a upraveno.

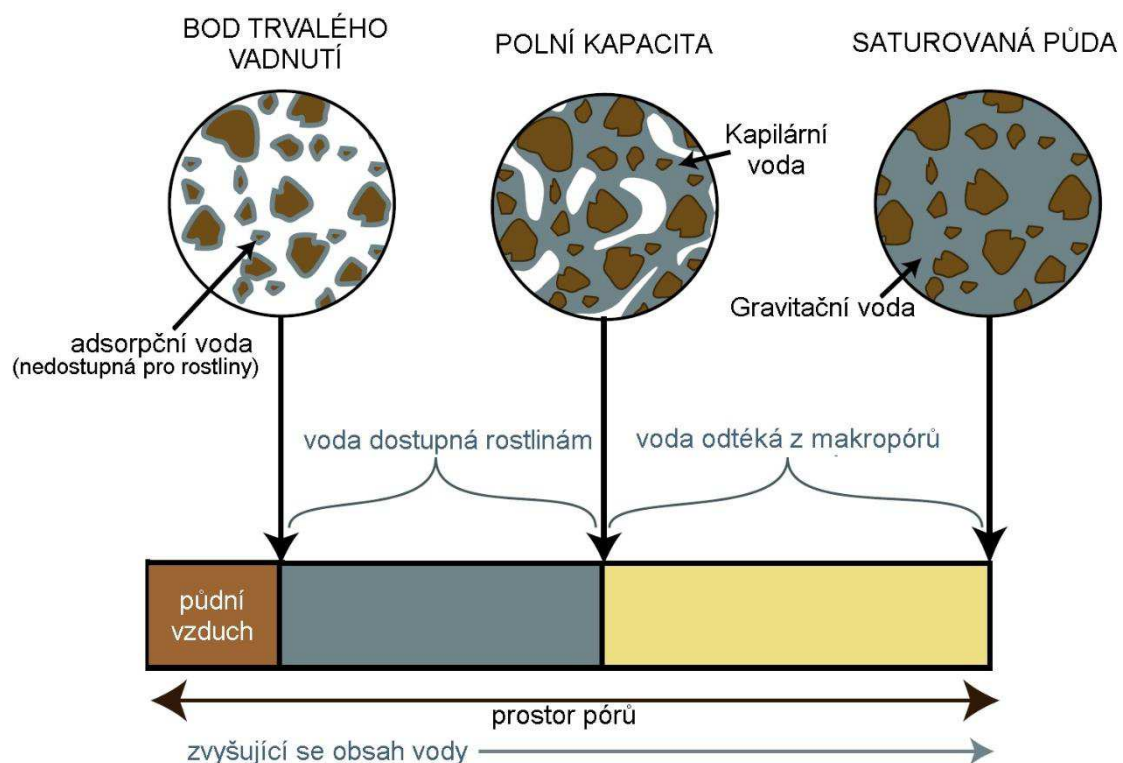
### 2.2.3 Porozita půdy

S půdní strukturou a texturou je úzce spjata porozita půdy. Póry mají různý tvar a velikost, mohou být zaplněny vodou nebo vzduchem. Jejich objem a tvar má vliv na množství a pohyb půdní vody. Lze rozlišit póry kapilární a nekapilární (též gravitační), jež mají větší velikost [50]. Dlouhodobá zemědělská činnost vede ke snížení porozity půdy v důsledku poklesu množství půdní organické hmoty [50; 51]. Zhutnění povrchové vrstvy půdy taktéž snižuje porozitu a brání tak vnikání vody do půdy, popř. zvyšuje povrchový odtok vody [51].

#### 2.2.4 Voda v půdě

Přítomnost vody v půdě je nezbytná pro udržení biologické rozmanitosti půdy, stejně tak pro zajištění ostatních funkcí. Je rozpouštědlem velké části živin, má velkou tepelnou kapacitu [48]. Voda ovlivňuje strukturu půdy, podporuje vznik agregátů. Účastní se nesčetného množství chemických reakcí. Schopnost vody ovlivňovat tolik půdních procesů je dána především strukturou její molekuly. [50]. Půdní póry jsou zaplňovány vodou, podíl pórů naplněných vzduchem nebo vodou se mění dle toho, jak se půda smáčí a vysychá [51].

Na povrchu půdních zrn je fyzikálními silami držena adsorpční (hygroskopická) voda, která je přijímána ze vzdušné vlhkosti. Tato voda není dostupná pro rostliny, je pouze částečně dostupná pro některé mikroorganismy. Pokud se vodní obaly na protilehlých zrnech půdy spojí, začínají působit kapilární síly, jež udržují tzv. kapilární vodu [50]. Postupná kondenzace vody kolem polárních skupin vytváří vodní molekulové můstky (WaMB z angl. water molecule bridge), jež stabilizují půdní segmenty [57]. Při dešťových srážkách již kapilární síla neudrží všechnu vodu, zapojuje se síla gravitační. Póry jsou naplněny vodou, půda je nasycená a voda z makropórů gravitačně odtéká. Tato voda může pronikat až k hladině podzemních vod, hloubka průniku závisí na množství srážek a hodnotě maximální vodní kapacity půdy [48; 50; 51]. Množství vody po odtoku gravitační vody je definováno tzv. polní vodní kapacitou (FC z angl. field capacity) [51]. Kapilární voda je na rozdíl od vody gravitační zadržována v půdě a může být odstraněna pouze odpařováním nebo příjmem rostlin. Množství kapilární vody, které je rostlinám k dispozici je označováno jako kapacita zadržování vody (WHC z angl. water holding capacity). Tato voda je rostlinám k dispozici, dokud není dosaženo bodu trvalého vadnutí (PWP z angl. permanent wilting point), kdy je voda již zadržována příliš pevně a není rostlinám k dispozici [50; 51]. Schématické znázornění zádrže vody v půdě viz *Obrázek 13*.



*Obrázek 13: Schématické znázornění zádrže vody v půdě. Převzato z [51] a upraveno.*

Polní kapacita je důležitý termín, protože označuje přibližný stupeň vlhkosti půdy, při kterém jsou zajištěny optimální podmínky pro růst rostlin. Půda v danou chvíli zadržuje maximální množství vody využitelné rostlinami, další voda by měla omezené využití pro rostliny, protože by v půdě zůstala jen krátkou dobu. Zároveň by tímto způsobem došlo ke snížení provzdušnění půdy. Optimální aerace je zajištěna taktéž při dosažení polní vodní kapacity [50].

Schopnost půdy poskytovat rostlinám dostatek vody je založena především na její struktuře. Pokud voda obsahuje mnoho makropórů (např. hrubý písek), ztrácí gravitačně velké množství vody. Naopak půdy s jemnou texturou (např. jílovitá půda) mají hlavně mikropóry, které pevněji zadržují vodu a neuvolňují ji působením gravitace. Tyto půdy jsou ale náchylné ke špatnému provzdušňování a anaerobní podmínky mohou negativně ovlivňovat růst rostlin. Dobře agregované hlinité půdy jsou nejvhodněji zásobovány vodou, protože mají dostatek makropórů k zajištění drenáže a provzdušňování, ale zároveň mají dostatečné množství mikropórů, jež poskytují vodu rostlinám. Velké množství vody je schopna pojmout půdní organická hmota [51].

### 2.2.5 Vzduch v půdě

Půdní vzduch má obdobné složení jako okolní atmosféra. Atmosféra obsahuje téměř 21 % kyslíku, 0,035 % oxidu uhličitého a více než 78 % dusíku. Pro srovnání, půdní vzduch má přibližně stejný obsah dusíku, trvale nižší obsah kyslíku a obsahuje vyšší množství oxidu uhličitého [48].

Obsah kyslíku v horních vrstvách půdy může být jen mírně pod 20 %, ve spodních horizontech špatně provzdušněných půd může klesnout pod 5 %. Může dojít i k úplnému vyčerpání kyslíku, poté se toto prostředí stává anaerobním. Nízký obsah kyslíku je obecně typický pro vlhké půdy [50].

Obsah dusíku v půdním vzduchu je relativně konstantní, proto existuje inverzní vztah mezi obsahy kyslíku a dusíku. S klesající koncentrací kyslíku se zvyšuje koncentrace oxidu uhličitého [50]. Obsah oxidu uhličitého může ve špatně provzdušněných půdách dosahovat až 12 %, což je zhruba tisíckrát více než v atmosféře [48]. Tento obsah oxidu uhličitého může být pro některé rostliny toxický [50].

V půdě se vyskytují i další plyny, jako například metan, vodík, sulfan, jež mohou vznikat při rozkladu organické hmoty [48; 50].

### 2.2.6 Teplota půdy

Fyzikální, chemické i biochemické procesy v půdě jsou ovlivňovány teplotou. Má vliv i na aktivitu půdních organismů. Za hlavní zdroj tepla v půdě je považována sluneční energie, z čehož vyplývá, že je teplotní režim v půdě ovlivňován denní dobou a ročním obdobím. Biologická aktivita organismů je silně ovlivňována tímto faktorem. Při překročení příliš vysoké či nízké teploty může dojít k fyziologickému poškození organismů [48].

### 2.2.7 Redox potenciál půdy

Důležitou vlastností související s provzdušením půdy je její redox potenciál. Tento parametr udává, zda má prostředí tendenci přijímat nebo dodávat elektrony (tj. zda v systému budou převažovat oxidační nebo redukční procesy) [58]. V případě dobré aerace jsou látky hlavně v oxidovaném stavu (např.  $\text{Fe}^{3+}$ ). Pokud látka snadno přijímá elektrony, je označována jako oxidační činidlo; pokud látka dodává elektrony, jedná se o redukční činidlo [48; 50].

Příkladem silného oxidačního činidla je kyslík, protože snadno přijímá elektrony z mnoha dalších prvků. Veškeré aerobní dýchání vyžaduje příjem elektronů kyslíkem. Kyslík může oxidovat organické i anorganické látky [50].

Veškeré organismy získávají energii oxidací organických látek, kdy danou látku přeměňují na oxid uhličitý, přičemž je uvolňován vodík a elektrony, které se musí navázat na akceptory vodíku a elektronů (Tabulka 1). Tímto procesem je např. aerobní respirace nebo denitrifikace. Při aerobní respiraci probíhající u aerobních organismů je akceptorem vodíku a elektronů kyslík, jež je redukován za vzniku vody. Při denitrifikaci se oxidy dusíku stávají akceptory elektronů a dochází k jeho redukci na elementární dusík (viz kapitola 2.4.2 Koloběh dusíku). Tento proces často probíhá přes různé meziprodukty ( $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ) [48].

Tabulka 1: Schématické znázornění vybraných půdních redoxních procesů. Dle [48].

Akceptor elektronů	Proces	Organismy
$\text{O}_2 + \text{H}_2 + \text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$	Aerobní respirace	Kořeny rostlin, živočichové, aerobní bakterie, houby
$\text{NO}_3^- + \text{e}^- \rightarrow \text{N}_2$	Denitrifikace	Fakultativně aerobní bakterie (např. <i>Pseudomonas</i> )
Organická hmota + $\text{e}^- \rightarrow$ organické kyseliny	Fermentace	<i>Clostridium</i>
$\text{Fe}^{3+} + \text{e}^- \rightarrow \text{Fe}^{2+}$	Redukce železa	<i>Pseudomonas</i>
$\text{CO}_2 + 4 \text{H}_2 + \text{e}^- \rightarrow \text{CH}_4 + 2 \text{H}_2\text{O}$	Metanogeneze	Metanogenní bakterie

### 2.2.8 pH půdy

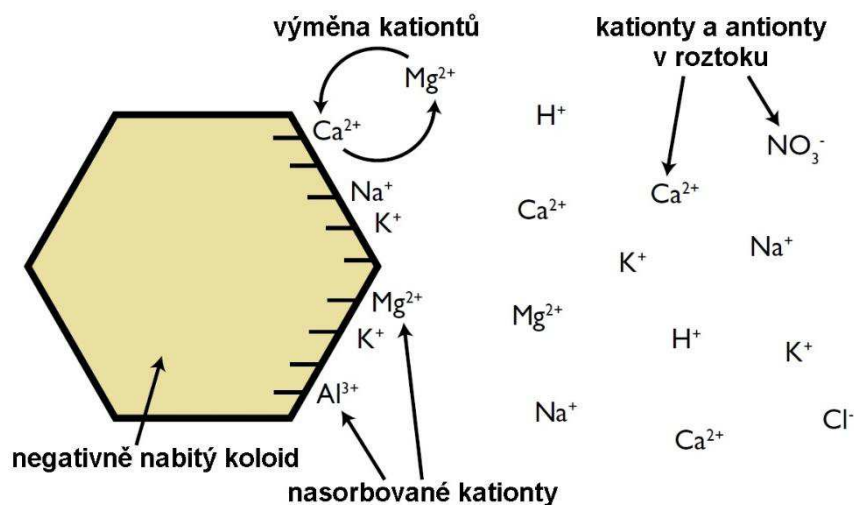
Tato hodnota označuje kyselost nebo zásaditost půdy a je funkcí vodíkových iontů ( $\text{H}^+$ ) v půdě, konkrétně se jedná o záporný logaritmus koncentrace aktivního vodíkového iontu [56].

Hodnota pH půdy může ovlivnit kationtovou a aniontovou výměnou kapacitu změnou povrchového náboje koloidů (více viz 2.2.9 Půdní koloidy, výměnná kapacita půd) [51]. Dále má pH značný vliv na dostupnost živin pro rostliny. Ovlivňuje také mikrobiální populaci v půdách. Většina esenciálních prvků je dostupná v rozmezí pH 5,5 – 6,5. Při určitém pH dochází k uvolňování prvků v jejich toxických formách, což představuje riziko pro biotu. Např. hliník se při nízkém pH, tj. v kyselé půdě, chová toxicky. Při pH vyšším než 5,2 se již hliník nevyskytuje v roztoku, takže nepředstavuje riziko pro organismy [56].

### 2.2.9 Půdní koloidy, výměnná kapacita půd

Půdní koloidy jsou velmi malé úlomky horniny a organické hmoty, jedná se o vysoce reaktivní materiály s nábojem na povrchu. Většina chemických interakcí v půdě probíhá na koloidních površích kvůli jejich nabitým povrchům. Vzhledem ke svému chemickému složení a velkému povrchu mají koloidy nabitě povrchy, které jsou schopny sorbovat nebo přitahovat nabitě částice z půdního roztoku. V závislosti na náboji, velikosti a koncentraci iontu v půdě může být iont sorbován a držen na povrchu koloidu nebo vyměněn s jinými ionty a uvolněn do půdního roztoku (Obrázek 14) [50].

Schopnost půdy sorbovat a vyměňovat ionty je označována jako výměnná kapacita. Přestože jsou na koloidních površích přítomny jak kladné, tak záporné náboje, v půdách obvykle dominují záporné náboje a koloidy tak mají celkový záporný náboj. Proto je k výměnným místům přitahováno více kationtů než aniontů. Ve vlhkých půdách kationty existují v hydratovaném stavu (obklopené obalem molekul vody). Půdy mají obvykle větší kationtové výměnné kapacity (CEC z angl. cation exchange capacity) než aniontové výměnné kapacity (AEC z angl. anion exchange capacity). Kationtová výměnná kapacita je definována jako počet záporných koloidních nábojů na jednotku hmotnosti, její hodnota je závislá na množství organické hmoty v půdě a na množství a druhu přítomných jíílů. Půdy s jemnou texturou mají obvykle větší výměnnou kapacitu než hrubé půdy z důvodu vyššího podílu koloidů [50; 51; 56]. Vyšší koncentrace  $H^+$  (nižší pH) neutralizuje negativní náboj na koloidech, čímž se snižuje CEC a zvyšuje AEC. Opak nastává při zvýšení pH [51].



Obrázek 14: Schématické znázornění sorpce kationtů na povrch koloidu. Převzato z [51] a upraveno.

Kationtová výměnná kapacita je zásadní v koloběhu živin a v dalších environmentálních procesech. Přitahování iontů k povrchu koloidu umožňuje půdám fungovat jako účinné filtry, jež chrání podzemní vody a potravní řetězec před nadměrnou expozicí mnoha znečišťujících látek [50].

## 2.3 Biotická složka půdy

Označení biotická složka půdy zahrnuje flóru i faunu. Tato složka má velký vliv na koloběhy živin. Organismy vyskytující se v půdě se označují jako edafon a mají celou řadu důležitých funkcí: podílí se na pedogenezi, na agregaci, sekvestrují uhlík, fixují atmosférický dusík, zadržují půdní živiny, podporují růst rostlin (symbióza) [48; 50]. V půdě žije velké množství různorodých druhů organismů, z tohoto důvodu je půdní prostředí považováno za největší genový rezervoár na Zemi [48].

### 2.3.1 Půdní edafon

Tyto organismy lze rozdělit dle velikosti do několika kategorií (viz *Tabulka 2*).

*Tabulka 2: Rozdělení půdního edafonu dle velikosti [50].*

Označení	Velikost	Organismy
Mikroedafon	< 0,2 mm	Bakterie, sinice, řasy
Mezoedafon	0,1 – 2 mm	Houby, chvostokoci, menší hmyz
Makroedafon	2 – 20 mm	Hmyz, pavouci
Megaedafon	> 20 mm	Žížaly, obratlovci

Mikroorganismy obklopují částice půdy a agregují je dohromady prostřednictvím sekrece organických sloučenin (zejména cukrů). Do kategorie mikrobů lze zařadit bakterie, prvoky, řasy, houby a aktinomycety. Bakterie jsou nejmenší a nejrozmanitější částí půdních organismů. Mají důležitou funkci při rozkladu SOM, přeměně živin a agregaci jílu. Zároveň vytváří biofilm na povrchu kořenů a půdních zrn. Prvoci (např. nálevníci, bičíkovci) jsou pohyblivé organismy, které se živí jinými mikroby a půdní organickou hmotou. Řasy, stejné jako rostliny, fotosyntetizují a nacházejí se v blízkosti povrchu půdy. Houby jsou důležité při rozkladu SOM. Mnoho hub má dlouhé hyfy neboli mycelia, která se mohou rozrůstat do velkých vzdáleností a fyzicky vážou částice půdy. Aktinomycety jsou klasifikovány jako bakterie, ale mají hyfy podobné houbám. Bakterie dominují v zemědělských a travnatých půdách, zatímco houby převládají v lesních a kyselých půdách [51].

Půdní organismy mohou být klasifikovány jako autotrofní nebo heterotrofní podle toho, z jakého zdroje získávají uhlík. Heterotrofní organismy získávají uhlík rozkladem organického materiálu. V případě autotrofních organismů je zdrojem uhlíku oxid uhličitý nebo jiná anorganická forma uhlíku [48; 50].

Růst a činnost mikroorganismů ovlivňuje několik faktorů. Přidáním energeticky bohaté organické látky je stimulován mikrobiální růst a aktivita. Jednotlivé mikroorganismy mají rozdílné požadavky na obsah kyslíku. Většina půdních mikroorganismů je aerobních a využívá kyslík jako akceptor elektronů ve svém metabolismu. Pro prosperitu mikroorganismů je důležitá i vhodná vlhkost půdy. Příliš vysoký obsah vody omezí přísun kyslíku. Mikrobiální aktivita je obecně největší při teplotách 20 – 40 °C. Vliv na složení mikrobiální populace má také pH půdy a dostupnost živin (hlavně dusíku) [50].

Zemědělská činnost má vliv na složení organismů v půdě. Střídání plodin na polích může podporovat větší diverzitu a aktivitu mikroorganismů oproti monokulturním systémům, což je důsledkem rozmanitějších reziduí rostlin. Aktivitu mikroorganismů může také ovlivnit aplikace hnojiv. Biotická aktivita se v půdách s nízkým obsahem SOM pravděpodobně zvýší po přidání hnojiv s obsahem dusíku. Populace mikroorganismů se stabilizuje s tím, jak se dusík spotřebovává. Využití nevhodného hnojiva ovšem může krátkodobě oslabit některou část půdní fauny [51].



### 2.3.2 Půdní flóra

Rostliny napomáhají k udržení struktury a pórovitosti půdy. Jejich výhonky a kořenové zbytky jsou zdrojem SOM [51]. Zaujímají přibližně 1 % půdy. Kořeny fyzikálně, chemicky i biologicky modifikují půdu, ve které se nachází. Fyzikálně kořeny mění uspořádání částic, rozšiřují některé póry a protlačují se půdou [50]. Kořenové kanálky mohou zůstat otevřené ještě nějakou dobu poté, co se kořen rozloží. Tyto kanálky umožňují snadný průnik vody a vzduchu. Kořeny mají vliv také na stabilizaci půdy prostřednictvím agregace [51]. Chemicky půdu ovlivňují kořeny tím, že vyčerpávají z okolí živiny a vodu. Zároveň vylučují do půdy kořenové exsudáty, pomáhají stabilizovat půdní agregáty [50].

### 2.3.3 Rhizosféra

Úzká zóna obklopující kořeny rostlin je označována jako rhizosféra. Jedná se o biologicky nejaktivnější část půdy. Obsahuje odloučené kořenové buňky a vylučované chemické látky (cukry, organické látky), které poskytují organismům potravu [51]. Její šířka je 1 – 3 milimetry [48].

Kořeny uvolňují organické sloučeniny do rhizosféry nejméně šesti způsoby:

- buňky z povrchu kořenů se neustále odlupují;
- buňky v blízkosti hrotu kořene vylučují velké množství ve vodě nerozpustného slizového gelu (mucigel);
- v důsledku tření nebo mikrobiálního napadení dochází k lyzi buněk, které vylévají svůj obsah do přilehlého okolí buňky;
- povrchové buňky aktivně produkují a vylučují specifické sloučeniny;
- kortikální buňky pasivně uvolňují širokou škálu rostlinných metabolitů;
- některé kortikální buňky exportují organické sloučeniny přímo do symbiotických hub [50].

Bakterie přizpůsobené životu v této zóně se nazývají rhizobakterie, z nichž mnohé jsou prospěšné vyšším rostlinám. V přírodě jsou povrchy kořenů téměř úplně pokryty bakteriálními buňkami [50; 51].

Mladé kořeny jsou nejaktivnější při vylučování organických sloučenin do rhizosféry. Velká část organických kyselin slouží ke zvýšení dostupnosti živin pro rostliny. Mnoho z těchto sloučenin využívají mikroorganismy, se kterými si rostliny vyvinuly symbiotické vztahy [50].

### 2.3.4 Příjem živin z půdy

Živiny z půdy jsou rostlinami přijímány z půdního roztoku, kde se nacházejí v rozpuštěné formě. Půdní organismy buď využívají stejného způsobu jako rostliny, nebo živiny přijímají z potravy. Nutrienty obsažené v půdním roztoku se k cílovým organismům mohou dostat difúzí a pasivním transportem [50].



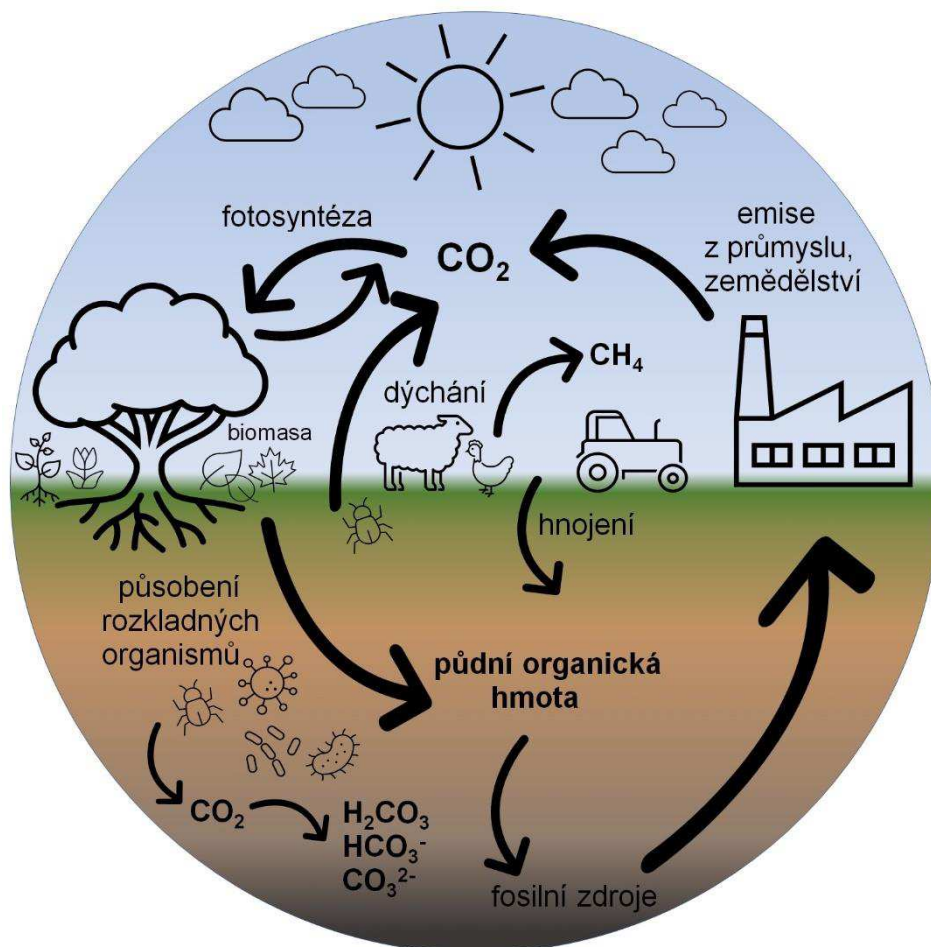
## 2.4 Koloběhy živin v půdě

Koloběhy jednotlivých prvků v půdě jsou vzájemně propojeny. Koloběhy prvků závisí na podmínkách prostředí, především na teplotě, aeraci, vlhkosti, aktivitě půdních organismů a na pH. Tyto procesy jsou ovlivňovány i množstvím vstupující rostlinné biomasy a rychlostí rozkladu tohoto substrátu. Jedná se o řadu procesů, jež dohromady vytváří funkční systém [48].

### 2.4.1 Koloběh uhlíku

Uhlík je základní stavební jednotkou všech živých organismů [50]. Půdní organická hmota představuje největší zásobárnu uhlíku a energie. V půdě existují dva typy uhlíku: anorganický a organický (SOM) [48]. Základní procesy zapojené do globálního uhlíkového cyklu viz *Obrázek 15*.

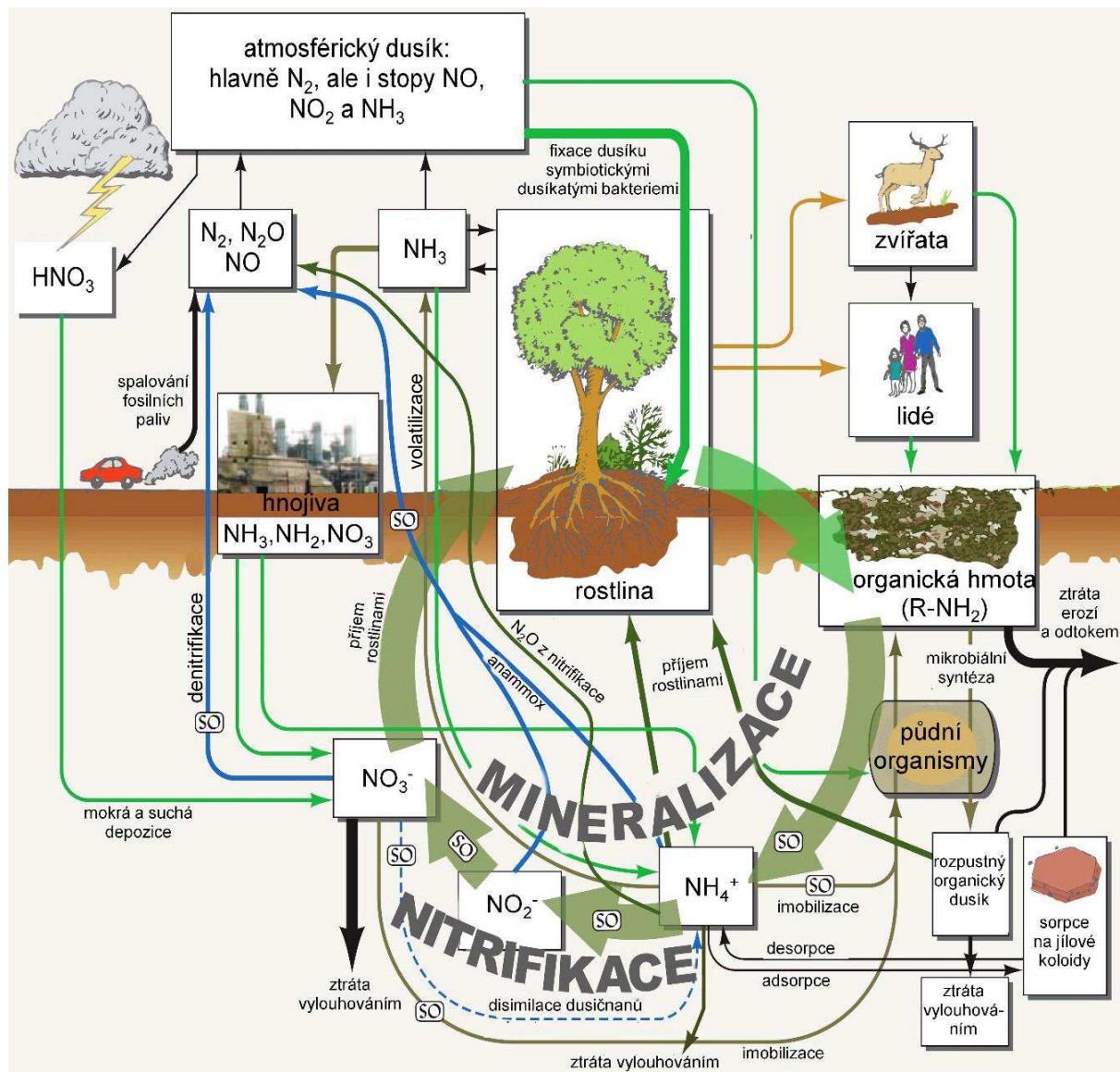
Rostliny odebírají uhlík ve formě oxidu uhličitého z atmosféry. Poté je fotosynteticky fixován, rostlina část vytvořených organických látek spotřebuje ve svém metabolismu. Navázaný uhlík v rostlinách je hlavním vstupem organického uhlíku do půdy [48]. Mikrobiální biomasa produkuje enzymy, které rozkládají rostlinné zbytky. Mikroorganismy tímto způsobem získají energii, většina uhlíku se uvolňuje jako oxid uhličitý a část zabudují do svého organismu. Ostatní prvky (dusík, síra, fosfor) se mohou uvolňovat do půdního roztoku. Půdní prostředí a mikrobiální aktivita řídí stabilizaci a akumulaci půdní organické hmoty. Oxid uhličitý v půdě může reagovat za vzniku kyseliny uhličité, uhličitánů a hydrogenuhličitánů vápníku, draslíku, hořčíku a sodíku [50].



Obrázek 15: Koloběh uhlíku. Inspirováno [59; 60].

## 2.4.2 Koloběh dusíku

Nedostatek nebo přebytek dusíku má významné dopady na zdraví a produktivitu ekosystémů. Dobrý přísun dusíku stimuluje růst a vývoj kořenů. V aerobních půdách mikroorganismy mineralizují organický dusík z rostlinných zbytků, rostliny přijímají minerální dusík a případně vracejí organický dusík do půdy v podobě čerstvých rostlinných zbytků. Kořeny rostlin přijímají dusík z půdy hlavně ve formě rozpuštěných dusičnanů, amonných iontů nebo organické hmoty (Obrázek 16). Anaerobní procesy jsou v tomto obrázku označeny modrou šipkou [50].



Obrázek 16: Cyklus dusíku. Převzato z [50] a upraveno.  
Zkratka SO označuje působení půdních organismů (z angl. soil organisms).

Amonné ionty v půdě jsou poměrně rychle oxidovány procesem nitrifikace. Prvním krokem tohoto děje je oxidace amonných iontů na dusitany, což je označováno jako nitritace. Na dusitany začínají ihned působit nitratační bakterie (nejčastěji bakterie rodu *Nitrobacter*), které zajišťují jejich oxidaci na dusičnany [48; 50].

Dusík se z půdy a vody dostává do atmosféry procesy, které jsou označovány jako denitrifikace. Dusičnany jsou přeměňovány na plynou formu dusíku. Na tomto procesu se podílí fakultativně anaerobní bakterie z rodů *Pseudomonas*, *Bacillus* nebo *Achromobacter*. Pojem anammox označuje proces, při kterém probíhá anaerobní oxidace amonných iontů na plyný dusík, kdy dusitany figurují jako akceptory elektronů [48; 50].

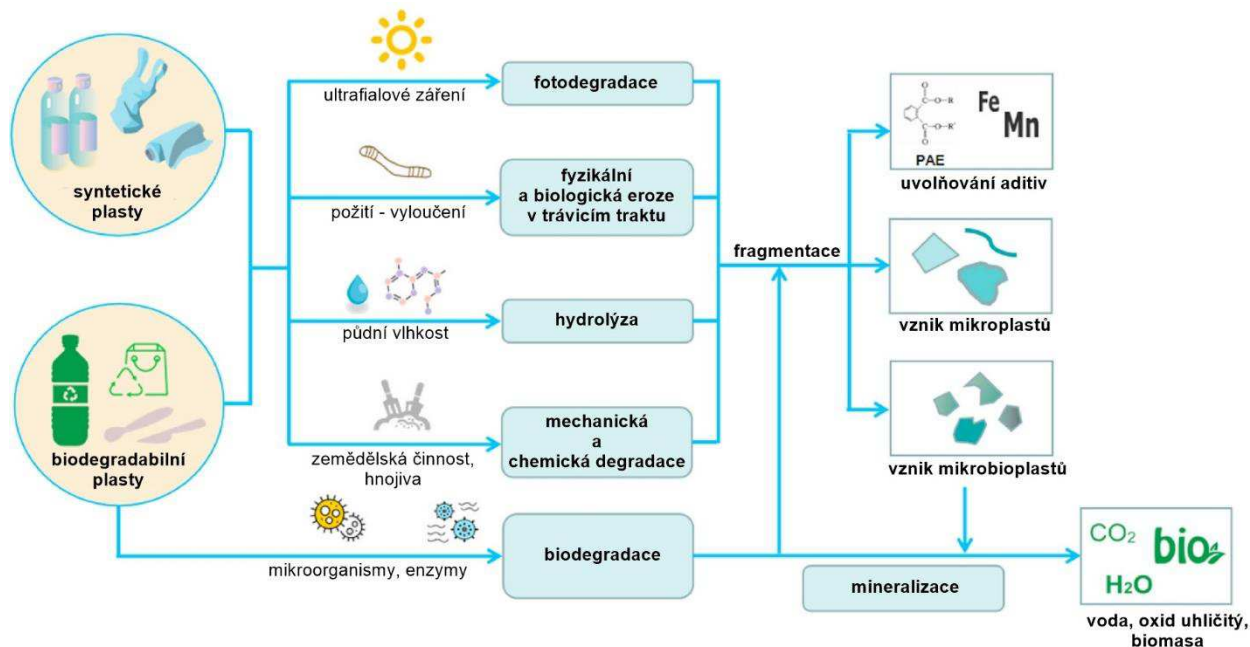
Dusík z atmosféry je fixován symbiotickými bakteriemi. Jedná se o důležitou biochemickou reakci, při níž se přeměňuje inertní molekula dusíku na reaktivní dusík, který je prostřednictvím koloběhu dusíku dostupný pro všechny formy života. Rostliny z čeledi bobovitých jsou známé svou výraznou schopností symbiózy s těmito bakteriemi. Hostitelská rostlina dodává bakteriím sacharidy jako zdroj energie, bakterie rostlině dodává reaktivní dusík, což jí umožňuje vytvářet chlorofyl a proteiny [50].

Všechny procesy koloběhu dusíku v půdě spolu úzce souvisí. Průběh těchto procesů závisí na aktivitě půdních mikroorganismů, na množství dusíku v půdě, na dostupnosti uhlíku a dalších živin. Uvádí se, že jakmile je poměr uhlík:dusík v půdě 25:1, tak jsou procesy dusíkatého cyklu v rovnováze. Při nižším poměru převládá v půdě mineralizace, naopak při poměru vyšším dochází k imobilizaci dusíku [48].

Pro efektivní hospodaření s dusíkem je nutné zvážit rovnováhu mezi jeho vstupem a výstupem. Zemědělská půda je odlišná od přirozeného ekosystému tím, že je ve většině případů hnojena. Pokud je celkový vstup dusíku vyšší než množství obsažené ve sklizených zemědělských produktech, tak má taková půda přebytek dusíku. Nadbytečné množství dusíku v půdě může v dlouhodobém horizontu způsobovat poškození životního prostředí [50].

### 3 DEGRADACE PLASTŮ

Při degradaci plastového materiálu se uplatňují biotické i abiotické procesy (viz *Obrázek 17*) [61]. Pojmem biodegradace je označován proces, při kterém dochází k rozkladu materiálu v důsledku působení přirozeně se vyskytujících mikroorganismů, jako jsou bakterie, houby, řasy a prvoci [9].



Obrázek 17: Schéma degradace syntetických a biodegradabilních polymerů. Převzato z [62] a upraveno.

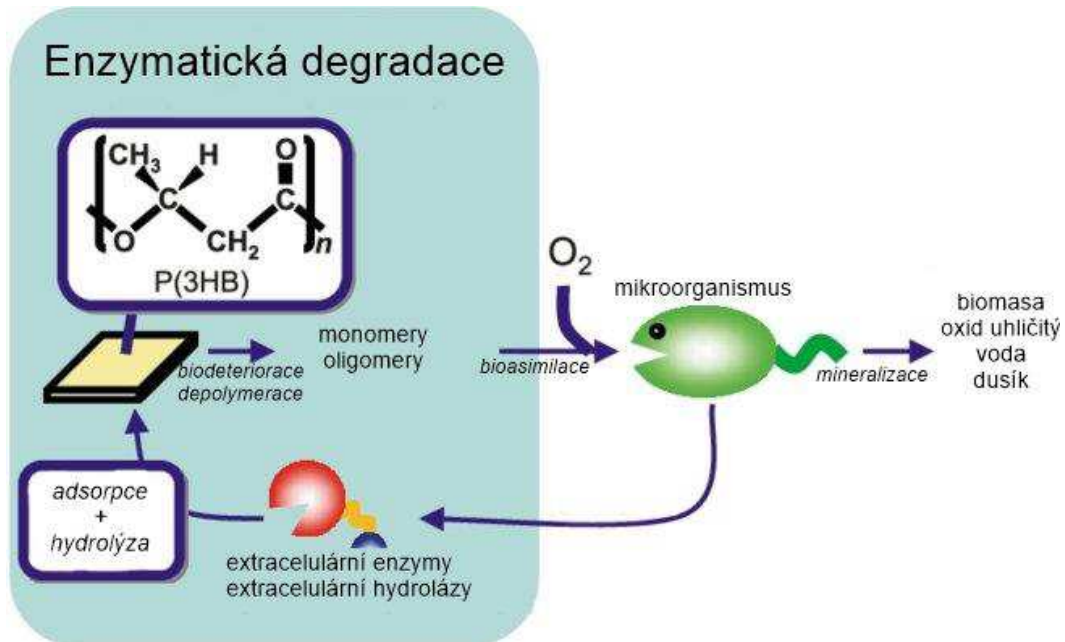
#### 3.1 Biotická degradace

Biodegradace je složitý proces, jež se skládá z několika fází, které mohou být po sobě jdoucí, ale mohou probíhat i zároveň. Mikroorganismus využívá polymer jako zdroj energie a živin. Při aerobní biodegradaci materiálu se kyslík spotřebovává, uhlík slouží jako zdroj energie pro mikroorganismy a přeměňuje se na oxid uhličitý. Při anaerobní degradaci, která by probíhala na skládce nebo v sedimentech, dochází ke generování methanu. V případě průmyslové anaerobní degradace těchto materiálů by muselo být zajištěno jímání a zpracování methanu, aby nedocházelo k jeho úniku do atmosféry [61].

Průběh biodegradace závisí na mnoha parametrech:

- Vlastnosti materiálu: biodegradace plastů je omezena jejich molekulovou hmotností, chemickou strukturou, stupněm krystalinity, rozpustností ve vodě [61; 63; 64].
- Prostředí: fyzikálně-chemické vlastnosti prostředí, ve kterém probíhá biodegradace mají vliv na růst a aktivitu mikroorganismů. Je vhodné zajistit ideální vlhkost, teplotu, obsah kyslíku, hydrostatický tlak, světlo, dostupnost živin nutných pro růst mikroorganismů [61; 64].
- Druh mikrobiální populace: jednotlivé mikrobiální druhy nemají schopnost degradovat všechny druhy organických látek [64].

Rozkladná činnost mikroorganismů je zahájena jejich navázáním na povrch polymeru, kde utvoří mikrobiální film. Tento film chrání mikroorganismy před vnějšími nepříznivými vlivy (např. UV záření) [65]. Extracelulární enzymy, které jsou vylučovány mikroorganismy, narušují povrchovou strukturu polymeru. Pronikají do jejich pórů a způsobují praskliny materiálu. Tento jev je označován jako biodeteriorace (Obrázek 18) [65; 66].



Obrázek 18: Schématické znázornění biotické degradace. Převzato z [67] a upraveno.

Chemolitotrofní bakterie využívají jako zdroj energie a elektronů anorganické sloučeniny (např. dusíkaté sloučeniny), mohou uvolňovat aktivní chemikálie jako jsou kyselina dusitá (*Nitrosomonas spp.*), kyselina dusičná (*Nitrobacter spp.*), kyselina sírová (*Thiobacillus spp.*). Chemoorganotrofní mikroorganismy používají organické substráty a uvolňují organické kyseliny. Tyto kyseliny mají různé způsoby působení. Některé mohou reagovat se složkou materiálu a tím zvyšovat erozi povrchu. Ostatní mohou sekvestrovat přítomné kationty do matrice (např.  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Si}^{4+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  a  $\text{Mg}^{2+}$ ) za vzniku stabilních komplexů. Organické kyseliny jsou účinnější než kyseliny minerální a jsou považovány za jednu z hlavních příčin biodeteriorace [65; 68].

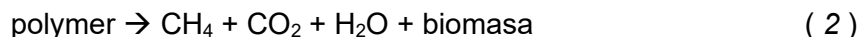
Polymery jsou příliš velké na to, aby se mohly transportovat přímo přes stěnu bakteriální buňky. Je nutné rozštěpit vazby a získat směs monomerů a/nebo oligomerů [65]. Proto bakterie vylučují extracelulární hydrolázy, které jsou schopny převádět polymery na odpovídající monomery hydroxylových kyselin [66]. Postupně tedy dochází k depolymerizaci materiálu – tj. ke vzniku monomerů, dimerů a oligomerů. Malé oligomery mohou pasivně difundovat přes buněčnou stěnu do organismu, kde dochází k bioasimilaci. Pro organismus představují tyto látky zdroj energie, elektronů a prvků (tj. uhlík, dusík, fosfor, síra, kyslík), jež potřebují pro růst. Uvnitř buněk dochází ke katalytické oxidaci, která vede k produkci adenosin trifosfátu (ATP) a primárních i sekundárních metabolitů. Tyto látky jsou posléze podléhají mineralizaci [65].

V aerobním prostředí je produkován oxid uhličitý, voda a biomasa (1). Tento proces je iniciován oxygenázou (enzym), kyslík zde figuruje jako akceptor elektronů [66].





V nepřítomnosti kyslíku je organický materiál rozkládán na methan (popř. sulfan), oxid uhličitý a vodu ( 2 ) [66]. Anaerobní degradace je pomalejší a složitější. Jako akceptory elektronů jsou využívány dusičnany, sírany, železo, mangan nebo oxid uhličitý [65].



Produktem degradace je i biomasa, popř. další elementární prvky, pokud je původní polymer obsahoval (např. dusík). Mineralizace je ukončena ve chvíli, kdy je veškerý uhlík z biorozložitelného polymeru přeměněn na oxid uhličitý a biomasu [66].

Na degradaci polyhydroxyalkanoátů se může podílet celá řada organismů, např. *Acidovorax*, *Aspergillus*, *Comamonas*, *Pseudomonas*, *Variovorax*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Actinomyces*, *Penicillium*, *Azobacter*, *Geotrichum*, *Nocardia*, *Escherichia*, *Flavobacterium* [66; 68; 69]. Produktem hydrolýzy P3HB je kyselina R-3-hydroxymásečná, jež difunduje do organismu, kde je bioasimilována [66].

### 3.2 Abiotická degradace

Na polymerní materiály, které jsou vystaveny venkovním podmínkám, mohou působit různé abiotické faktory, které ovlivňují jejich polymerní strukturu. Ve většině případů dochází k oslabení této struktury, což umožňuje snazší biodegradaci materiálu [65].

K **mechanické degradaci** dochází v důsledku stlačení nebo napětí polymeru. Na makroskopické úrovni nejsou poškození obvykle viditelná okamžitě, ale na úrovni molekulární již degradace započne. Mechanická degradace v reálných podmínkách působí synergisticky (tj. kombinace dvou faktorů má větší vliv než součet jejich samostatných vlivů) s ostatními abiotickými faktory (teplota, sluneční záření, chemikálie) [65].

Některé materiály jsou fotosensitivní, dochází tedy k **photodegradaci**. Při abiotické degradaci je působení světelného záření jedním z nejdůležitějších parametrů. Photodegradace může vést k Norrishovým reakcím (transformace polymerů fotoionizací a štěpením řetězce) a/nebo k zesíťování polymeru, což vede ke zvýšení křehkosti materiálu [65; 70].

K **tepelné degradaci** dochází při překonání teploty tání konkrétního polymeru. Např. teplota tání P3HB je vyšší než 170 °C, z čehož vyplývá že k jeho tepelné degradaci v přírodním prostředí nedochází [37; 65]. V případě polykaprolaktonu, jehož teplota tání je kolem 60 °C, k tepelné degradaci může docházet při kompostování [65].

**Chemická transformace** je poměrně častým jevem. Polymer interaguje s látkami v ovzduší nebo v půdě (např. agrochemikálie) [65; 71]. Nejčastěji dochází k reakci s kyslíkem (ve formě O<sub>2</sub> nebo O<sub>3</sub>), kdy jsou produkovány volné radikály. Stejně jako v případě photodegradace je polymer zesíťován nebo řetězově štěpen [65].

### 3.3 Mikroplasty

Při nedokonalé degradaci plastů nebo při některé její fázi může docházet k fragmentaci, kdy jsou do prostředí uvolňovány malé úlomky polymeru. Tyto fragmenty jsou označovány pojmem mikroplasty (MPs). Mnohé zdroje definují mikroplasty jako fragmenty o velikosti menší než 5 mm [8; 72; 73], jiné zdroje je vymezují rozměrem menším než 1 mm [73; 74]. Úlomky z biodegradabilních polymerů jsou označovány mikrobioplasty. Termínem nanoplast bývá označována částice, která má rozměr menší než 1 μm [75].

Mikroplasty, jež vnikají při degradaci fragmentací původního plastu, bývají označovány jako sekundární mikroplasty. Pojem primární mikroplasty odpovídá částicím, které jsou cíleně přidávány do produktů – např. v kosmetickém průmyslu [75; 76]

### 3.3.1 Zdroje mikroplastů

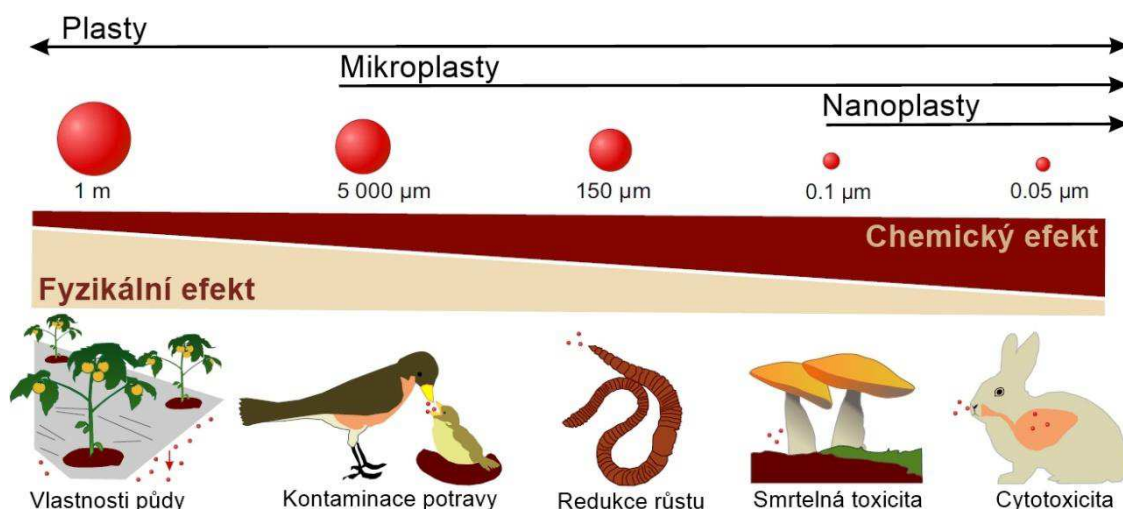
Ke kontaminaci terestrického systému sekundárními mikroplasty dochází různými cestami. Prvním způsobem je špatné nakládání s plastovým odpadem, tj. odhození polymeru do životního prostředí, kde nejsou zajištěny ideální podmínky pro biodegradaci a pravděpodobně bude docházet k fragmentaci za vzniku různě velkých úlomků [77]. K neúmyslnému zanášení mikroplastů do půdního systému přispívá ve velké míře zemědělství, kdy je do zeminy aplikován kontaminovaný kal z čistírny odpadních vod [78; 79; 80] nebo kompost, ve kterém probíhala biodegradace plastů. Využívání mulčovacích folií z rozložitelných plastů, které jsou ponechávány k rozkladu na polích, je dalším potenciálním způsobem kontaminace [12; 13; 80]. Speciální aplikací biodegradabilních polymerů je jejich využití jako nosičů hnojiv a pesticidů [81].

Neupravený kal z čistírny odpadních vod je bohatý na vlákna z oděvů, ale i po úpravě by mohl obsahovat značné množství mikroplastů. V tomto případě se jedná hlavně o mikroplasty syntetických polymerů [78; 79; 80].

Biodegradabilní plasty jsou likvidovány kompostováním. Finální kompost, který bývá aplikován na zemědělskou půdu, ovšem může obsahovat mikrobioplasty. Kritéria kompostovatelnosti se zaměřují více na dezintegraci materiálu než na úplnou degradaci. Existuje předpoklad, že zbývající mikroplasty v prostředí zmineralizují. Za vhodných podmínek k úplné degradaci opravdu dojít může, ale není zajištěno, že k procesu mineralizace dojde ve všech případech [17; 82].

### 3.3.2 Mikroplasty v půdě

Chování mikroplastů a nanoplastů v životním prostředí závisí na jejich velikosti, tj. mikroplasty se v prostředí mohou chovat jinak než nanoplasty (Obrázek 19). Větší částice obecně ovlivňují většinou fyzikálně-chemické vlastnosti půdy, ale při požití mohou mít negativní vliv i na suchozemské rostliny a organismy. Menší částice mají schopnost omezit růst makrofauny (např. žížaly), mohou mít toxický účinek na rostliny a houby. Zároveň jsou nanoplasty považovány za cytotoxické [8].



Obrázek 19: Vybrané efekty různých velikostí mikroplastů. Převzato z [8] a upraveno.

Celkově vzato je nutné brát v potaz chemické složení polymeru, velikost částic a chemické chování povrchů mikroplastů. Čím menší je částice, tím větší je povrch a reaktivita, v důsledku toho je pozorováno dynamičtější chování nanočástic. Zároveň se ukázalo, že je třeba vzít v úvahu také tvar plastů. Vlákna, zejména mikrovlákna, ovlivňují fyzikální vlastnosti půdy silněji než kuličky [8; 83].

Kombinace těchto faktorů může ovlivnit vlastnosti půdy prostřednictvím fyzikálně-chemických změn textury a struktury půdy. Zachování vhodných vlastností půdy je důležité pro koloběh vody a fungování ekosystému (interakce mezi půdou, rostlinami a mikroorganismy) [8; 84].

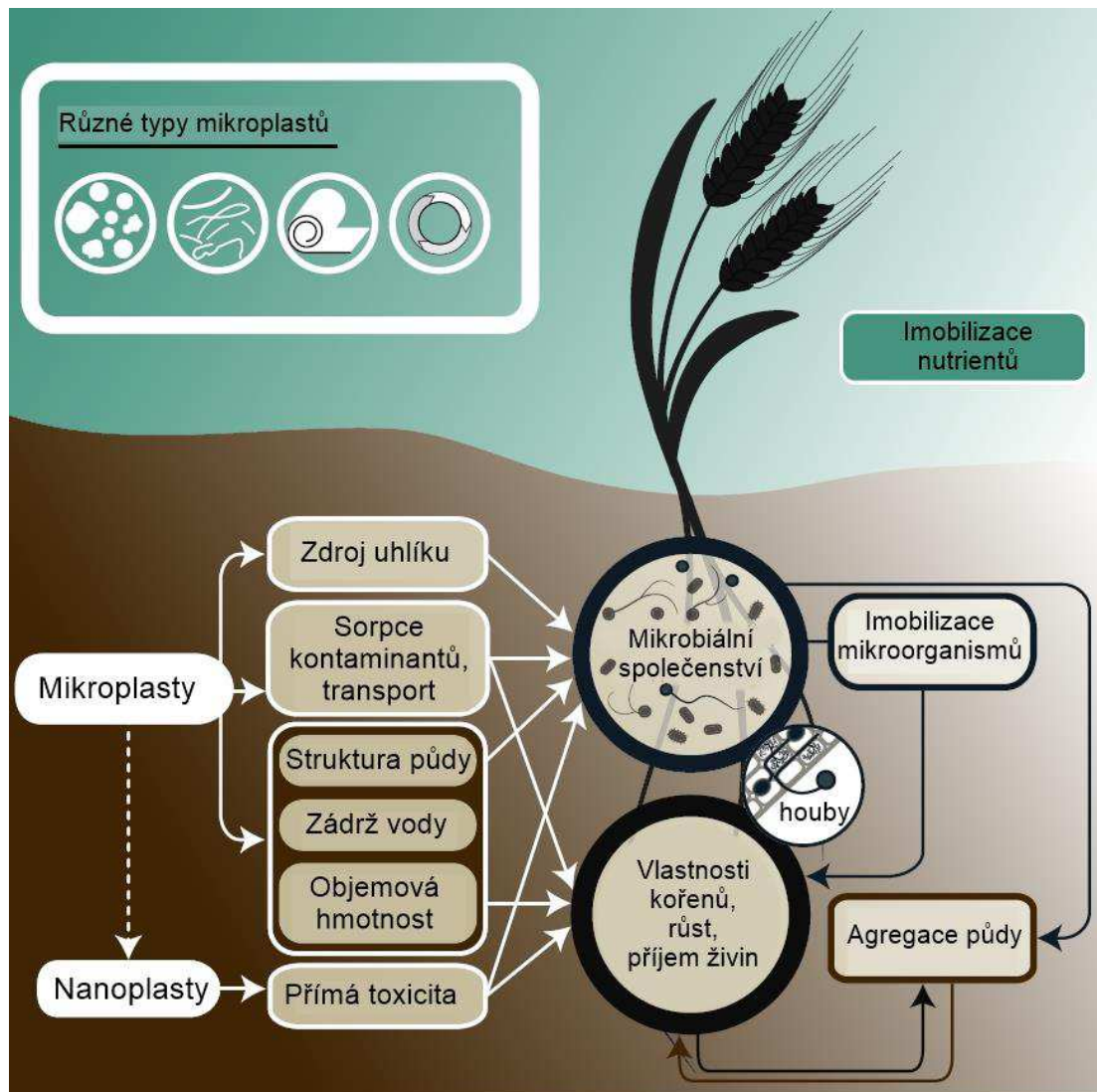
Osud a transport mikroplastů v půdě je řízen celou řadou faktorů – např. struktura půdy, agregace, zemědělské obhospodařování. Velkým transportérem mikroplastů je růst rostlin, kdy kořeny unášejí úlomky plastů. Půdní fauna (larvy, obratlovci, žížaly) je dalším důležitým faktorem, kdy tyto organismy mohou mikroplasty polykat a vylučovat je v jiné části půdního systému. Transport mikroplastů je ovlivněn také rychlostí proudění půdní vody a přítomností organické hmoty [85].

Ovlivnění vlastností půdy má vliv i na růst rostlin, kde se hypoteticky může uplatňovat několik mechanismů (*Obrázek 20*):

- **Změna struktury půdy:** na mikroplasty lze pohlížet jako na částice, jež fyzikálně ovlivňují strukturu půdy. Počáteční studie naznačují snížení objemové hmotnosti půdy, což způsobuje sníženou odolnost půdy vůči pronikání kořenů rostlin. Půda je více provzdušněná a u kořenů je pozorován jejich zvýšený růst [86; 87; 88]. Zároveň lze sledovat změny v agregaci půdy [86; 88]. Fragmenty plastů mohou způsobovat zvýšený výpar vody [89; 90]. Zároveň bylo ve studii [87] prokázáno, že evapotranspirace byla v přítomnosti mikroplastů zvýšena o 35 – 50 %, což přispělo ke ztrátě vody ze systému. V kombinaci se zvýšeným výparem vody by mohlo docházet k nadměrnému vysychání půdy [83]. Změna struktury půdy může vyvolat mnoho dalších efektů – např. změnu ve složení mikrobiálního společenství, což by mohlo mít potenciální dopad na symbiotické soužití v suchozemských ekosystémech (mykorrhiza) [8; 88; 91].
- **Imobilizace nutrientů:** v případě syntetických mikroplastů pravděpodobně nebude pozorován výrazný efekt, protože se jedná o poměrně inertní materiál. Pokud budou uvažovány mikrobioplasty, tak lze dle pilotních studií předpokládat, že vlivem imobilizace může docházet ke snížení růstu listů [88; 92].
- **Transport nebo adsorpce kontaminantů:** na povrch mikroplastů se mohou sorbovat látky nebezpečné pro člověka i ekosystém. Mikroplasty mají specifický povrch, na kterém se může uskutečňovat záchyt různorodých látek (např. těžké kovy, patogenní látky), jež mohou být transportovány půdním prostředím [83; 93]. Tyto látky mohou negativně ovlivnit půdní mikrobiom. Zároveň by adsorpce kontaminantů na povrch mikroplastu mohla snížit dostupnost dalších znečišťujících látek pro půdní biotu a rostliny, což bylo pozorováno hlavně ve vodním prostředí [88; 94].
- **Přímá toxicita:** předpokládá se, že s klesající velikostí částic roste vliv na biotu, kdy se látka stává více chemitoxickou [86; 88]. Nanočástice polymeru by mohly migrovat do kořenového systému, kde by mohly způsobovat poškození (např. změna buněčné membrány, oxidativní stres). Pokud by rostlina byla zároveň plodinou, existovalo by riziko průniku mikroplastů do potravního řetězce [88].



- **Půdní mikrobiální společenství a kořenová symbiota:** růst rostliny silně závisí na půdní biotě a její rozmanitosti. Důležití jsou především mikroorganismy nacházející se u kořenového systému rostlin a mikroorganismy fixující dusík [95]. Pokud mikroplast způsobuje změny ve struktuře půdy, tak dále může být ovlivněno i mikrobiální společenstvo v půdě, jež má důležitou funkci mineralizace. Prozatím není tento vliv potvrzen ani vyvrácen, je důležité věnovat této oblasti pozornost [88].



Obrázek 20: Schématické znázornění vlivu mikroplastů na terestrický systém. Převzato z [88] a upraveno.

#### 4 VLIV MIKROBIOPLASTŮ NA PŮDU A PŮDNÍ ORGANISMY

V současné době se většina studií zaměřuje obecně na vliv mikroplastů na životní prostředí. Mikroplasty z biodegradabilních polymerů jsou ve většině případů přehlíženy, přestože jsou tyto materiály náchylnější k degradaci, takže může být za stejný časový horizont uvolněno do terestrického systému více mikroplastů [3; 62; 96]. Pokud jsou v úvahu brány mikrobioplasty, tak je zkoumán hlavně vliv na biotu, ale je nutné věnovat pozornost i vlivu na abiotickou část půdy. Produkce biodegradabilních polymerů se zvyšuje, pokud má dojít k nahrazení syntetických polymerů polymery biorozložitelnými, je třeba vyhodnotit dopad mikrobioplastů na životní prostředí [62].

Obecně byly pozorovány velmi variabilní mikrobiální změny vyvolané mikroplasty s ohledem na typ polymerů, jejich tvar a koncentraci, ale vliv měla i textura půdy. Půdy vystavené jejich dlouhodobé kontaminaci (využívání mulčovacích folií) vykazovaly snížení aktivity půdních enzymů, což souvisí s ovlivněním cyklu živin [97; 98].

Mikrobioplasty figurují jako zdroj uhlíku pro půdní mikroorganismy, zároveň mohou mít v dlouhodobém horizontu vliv na složení a aktivitu mikrobů [62]. Biodegradabilní plasty mohou přispívat ke snížení obsahu živin v půdě. Tyto polymery podléhají mikrobiologickému rozkladu, přičemž mikroorganismy potřebují ke svému metabolismu dusík, fosfor a další prvky, které čerpají z půdy [83; 88].

V nádobovém experimentu [4] byly studovány biochemické změny vyvolané biodegradací mikroplastů PHBV v systému rostlina-půda. Byl zaznamenán výrazný nárůst mikrobiální biomasy, stejně jako zvýšené množství rozpuštěného organického uhlíku (DOC), pravděpodobně v důsledku mikrobiální asimilace mikroplastů. Dále byla potvrzena imobilizace dusíku a zvýšení dusíkové mikrobiální biomasy. Tato zjištění poukazují na přímé dopady na cykly uhlíku a dusíku [4; 62]. Silnější ovlivnění poměru uhlík:dusík, stejně jako ovlivnění cyklu uhlíku, bylo pozorováno v případě PLA v porovnání s konvenčními mikroplasty [62; 99]. Přítomnost biomikroplastů v půdě je považována za exogenní vstup uhlíku, podílí se na koloběhu uhlíku v ekosystémech a dle některých autorů vede k emisím nežádoucích skleníkových plynů [62; 89; 100; 101].

Mineralizace mikrobioplastů by mohla ovlivnit vlastnosti půdy. Bylo popsáno, že je depolymerizace a hydrolyza PLA doprovázena tvorbou kyseliny mléčné a poklesem pH [62; 102]. Snížení pH půdy po přidavku mikroplastů PLA bylo popsáno i v souvislosti se změnou mikrobiálního společenstva [89; 103]. Vliv biodegradace PLA na půdní organismy byl pozorován ve studii, jež se zaměřovala především na půdní mikrobiální nitrifikaci, kdy bylo prokázáno, že biodegradace PLA nemá inhibiční účinek na nitrifikační aktivitu půdy [83; 104]. Arcos-Hernandez s kolektivem studovali rychlost biodegradace PHBV v půdním testu, kdy byl hodnocen vliv degradačních produktů na mikrobiální aktivitu. Nebyla prokázána toxicita degradačních produktů PHBV vůči bakteriím *Vibrio fischeri* [83; 105].

Fytotoxická studie extraktů půd, v nichž byly umístěny různé typy mikroplastů (PBAT, PLA, P3HB), byla provedena na dvou druzích zemědělských rostlin (salát – *Lactuca sativa*, rajče – *Lycopersicon esculentum*). Výsledky ukázaly, že extrakty půd s obsahem různých typů mikroplastů, měly inhibiční účinky na klíčení semen, růst rostlin a zdraví kořenů, což poukazuje na nepříznivé dopady mikrobioplastů na rostlinu [62; 106].

Wang a kolektiv prokázali, že přidavek mikroplastů PLA způsobil nižší produkci kukuřice, která zároveň obsahovala menší množství chlorofylu v listech, zatímco mikroplasty PE nevykazovaly žádné patrné dopady [62; 107].

Vysoký specifický povrch a hydrofóbnost způsobují schopnost mikroplastů koncentrovat látky znečišťující životní prostředí, včetně organických a anorganických chemikálií. Následně mohou ovlivňovat jejich transport a osud v prostředí [62]. Mechanismy podílející se na sorpci mikroplastů se připisují hlavně hydrofobním interakcím, elektrostatickým interakcím,  $\pi$ - $\pi$  interakcím a vodíkovým vazbám. Tento efekt je pozorován u mikroplastů z konvenčních polymerů, ale předpokládá se i u polymerů biodegradabilních [62; 108; 109].

Mikrobioplasty mohou ovlivňovat i vodní režim v půdním systému. Za zádrž vody v půdě je ve velké míře zodpovědná půdní organická hmota (SOM). Pro pozorování vlivu mikrobioplastů na tuto složku půdy byla využita rašelina, jelikož obsahuje velké množství SOM. Mikroplasty P3HB způsobily snížení hodnoty výparné entalpie vody, z čehož vyplývá, že narušují zádrž vody půdní organickou hmotou a může docházet ke zvýšenému vysychání. Zároveň došlo k ovlivnění stability vodních molekulových můstku (WaMB). V tomto případě se jedná pravděpodobně o ovlivnění fyzikálního parametru, kdy vnos cizorodé látky způsobuje tyto efekty [90].

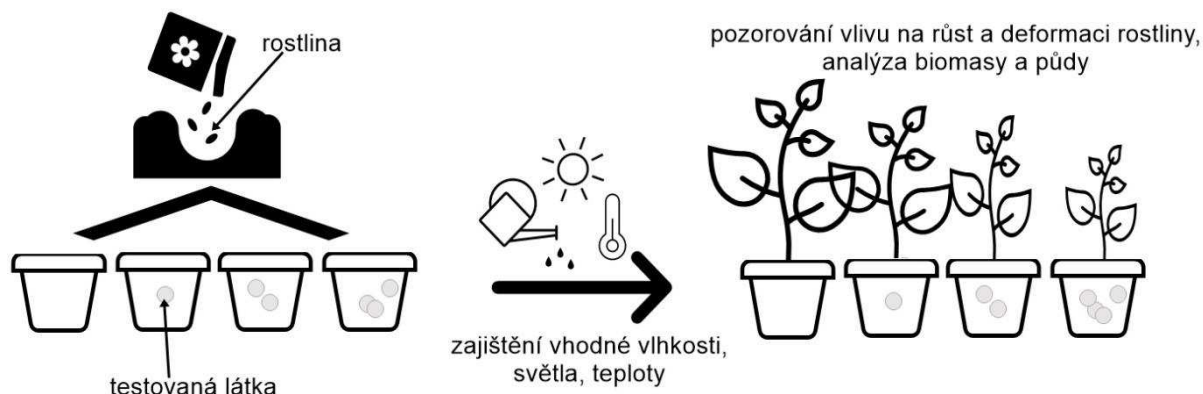
V práci [110], která se zaměřovala na vliv biodegradace P3HB na kvalitu půdy, bylo zjištěno, že proces biodegradace tohoto bioplastu ovlivnil půdní organickou hmotu. Byl potvrzen tzv. „priming effect“, kdy docházelo ke zpomalení nebo urychlení rozkladu SOM. Mikroorganismy odebíraly dusík z půdy, aby mohly pokračovat ve zpracování P3HB. Zároveň bylo ovlivněno složení půdního mikrobiálního společenství. Tato práce poukazuje také na negativní vliv na zádrž vody u vzorků s přidaným P3HB.

Prozatím je stále nedostatek informací pro celistvé hodnocení environmentálních rizik mikrobioplastů, zejména v půdním prostředí. Mnohdy výzkumy poskytují protichůdné výsledky mezi různými druhy polymerů, což znesnadňuje objasnění mechanismů vlivu mikrobioplastů na půdní systém [62].

## 5 PŮDNÍ EXPERIMENTY, ANALÝZA PŮDY

### 5.1 Biodegradační nádobové experimenty

Nádobové experimenty slouží k napodobení přírodních podmínek. Jejich výhodou je poměrně nízká cena. Tyto pokusy probíhají v květináčích, které musí mít pro celou sérii experimentů stejnou velikost i tvar. Všechny nádoby jsou vystaveny shodným podmínkám (teplota, světlo, vlhkost vzduchu, zálivka), jež jsou kontrolovány. Testovaná látka je aplikována do terestrického systému. Po ukončení experimentu může být analyzován vliv látky na rostlinu i vliv na abiotické vlastnosti půdy (Obrázek 21). Tyto experimenty se nejčastěji využívají pro testování účinnosti hnojiv nebo vlivu pesticidů. Délka pokusu je určena charakterem testované látky [111].



Obrázek 21: Schématické znázornění květináčového experimentu.

Jednou z podmínek provedení květináčových experimentů je stejný základní substrát (pokud není rozdíl vlivu půdy předmětem zkoumání). Využívá se zemina, která má známé základní vlastnosti. Je nutné zajistit dokonalou homogenizaci. Na tyto experimenty lze využít různé rostliny, např. kukuřice, pšenice, salát, cibule, hořčice [111].

### 5.2 Analýza půdy s využitím diferenční kompenzační kalorimetrie

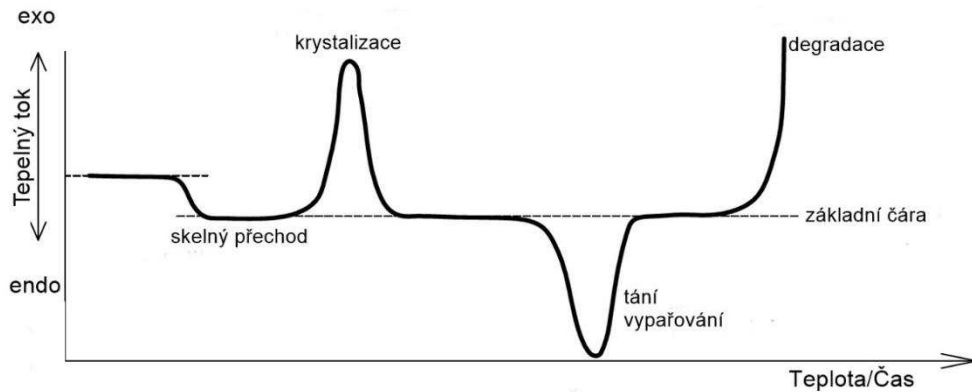
Tato termoanalytická metoda je označována zkratkou DSC (z angl. differential scanning calorimetry) [112] a je využívána v širokém spektru odvětví: výzkum polymerů, léčiv, biomolekul, potravinářství [113; 114; 115]. Metoda je založena na měření rozdílu teploty mezi referencí (prázdná pánvička) a vzorkem za současného, nejčastěji lineárního, zvyšování nebo snižování teploty. Z teplotního rozdílu je určeno množství tepla, které se spotřebovává nebo uvolňuje ze vzorku. Uvolňování tepla odpovídá exotermickému ději, jedná se např. kondenzaci, krystalizaci a rozklad. Při endotermickém ději se teplo spotřebovává. Příkladem tohoto děje je vypařování, tání a skelný přechod [112; 115].

Uvolněné nebo dodané teplo lze označit za konstantního tlaku jako změnu entalpie:

$$\Delta h_{1-2} = \int_{T_1}^{T_2} c_p(T) \cdot dT, \quad (3)$$

přičemž  $\Delta h$  ... změna měrné entalpie [ $\text{J} \cdot \text{kg}^{-1}$ ],  
 $c_p$  ... měrná tepelná kapacita [ $\text{J} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ ],  
 $T$  ... teplota [K] [116].

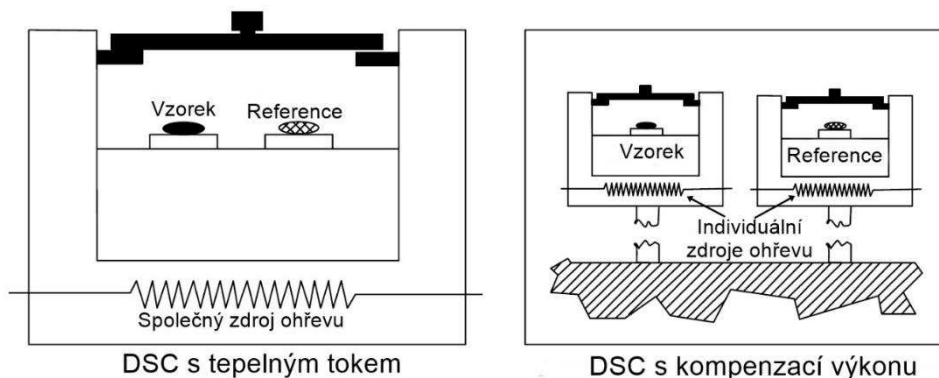
Změna entalpie je určována jako odchylka tepelného toku od základní linie, což je úsek záznamu, kde je konstantní tepelný tok. Výsledným záznamem je graf závislosti tepelného toku na teplotě nebo čase (viz Obrázek 22) [116]. V záznamu lze dle starší nomenklatury rozlišovat změny I. druhu, jež se projevují jako pík, a transformace II. druhu, které lze pozorovat jako skokovou změnu základní linie [112].



Obrázek 22: DSC záznam. Převzato z [116] a upraveno.

Existují dva typy DSC přístrojů:

- DSC s tepelným tokem (angl. Heat Flux DSC): využívá jednu pec se společným zdrojem ohřevu,
- DSC s kompenzací výkonu (angl. Power Compensation DSC): dvě samostatné pece pro vzorek a referenci [115].



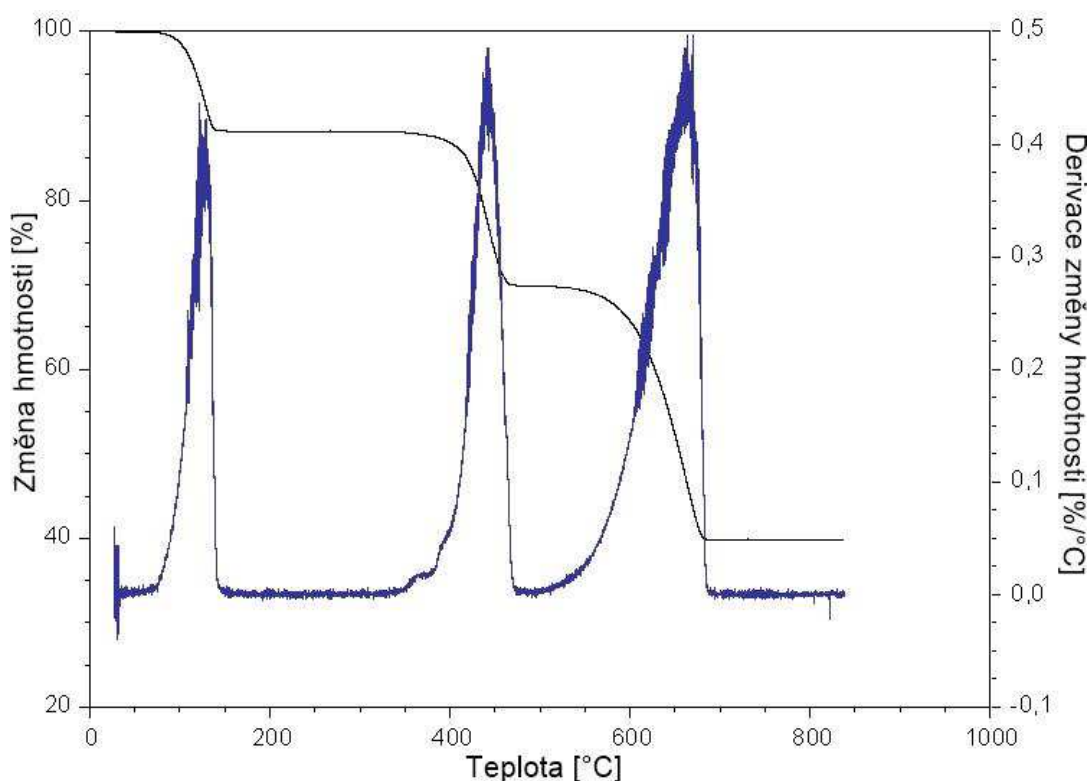
Obrázek 23: Schéma zobrazující DSC s tepelným tokem a DSC s kompenzací výkonu. Převzato z [115] a upraveno.

Diferenční kompenzační kalorimetrie našla uplatnění i v analýze půdy a sedimentů [117]. V půdě byl s využitím této metody zkoumán skelný přechod za různých podmínek [118]. Další možností výzkumu půdy s využitím DSC jsou vlastnosti vody v půdě, kdy umožňuje stanovit stabilitu vodních molekulových můstků a hodnotu výparné entalpie vody [119].

### 5.3 Termogravimetrická analýza půdy

Termogravimetrie (zkratka TG, TGA) je řazena do skupiny termoanalytických metod. Pozorována je změna hmotnosti vzorku v závislosti na teplotě/času. Toto měření poskytuje informace o fyzikálních jevech (adsorpce, desorpce), ale i o jevech chemických (chemisorpce, tepelný rozklad) [120]. Měření může probíhat buď v inertoním prostředí (dusík) nebo v prostředí oxidačním (kyslík, vzduch) [121].

Tuto metodu lze použít pro charakterizaci materiálů prostřednictvím analýzy charakteristických vzorců rozkladu. Je to zvláště užitečná metoda pro studium polymerních materiálů, včetně termoplastů, termosetů, elastomerů, plastových fólií, vláken a barviv [120]. Termogravimetrie je vhodnou metodou pro analýzu půd, lze stanovovat např. obsah dusíku, uhlíku nebo celkový obsah půdní organické hmoty. Výhodou této metody je to, že není nutná složitá předúprava vzorku [122].



Obrázek 24: Ukázka termogravimetrického záznamu pro oxalát.

Obrázek 24 zobrazuje ukázkový záznam pro měření dihydrátu oxalátu vápenáého. Černou linií je zobrazena procentuální změna hmotnosti v závislosti na teplotě, modrou linií je znázorněno tzv. diferenciální zobrazení, kdy je na ose y vynesena derivace změny hmotnosti. V záznamu (černá linie) lze pozorovat oblasti, kde nedochází k hmotnostním změnám, tyto části záznamu jsou označovány jako tzv. plata. Mezi těmito oblastmi jsou části označovány jako zlomy, které poukazují na změnu hmotnosti. V diferenciálním zobrazení gravimetrické křivky se změna hmotnosti projeví jako pík [120; 121].

V půdní analýze se termogravimetrie využívá ke stanovení množství organické hmoty. Dle [123] lze rozlišit jednotlivé typy SOM s využitím teplotních intervalů, přičemž interval 200 – 300 °C odpovídá labilní půdní organické hmotě, v intervalu 300 – 450 °C lze pozorovat aktivní půdní organickou hmotu a teplotní rozmezí 450 – 550 °C odpovídá pasivní půdní organické hmotě. Změna hmotnosti v teplotním intervalu 200 – 550 °C odpovídá celkové SOM. V intervalu 100 – 200 °C lze pozorovat volně a silně vázanou vodu, nad 550 °C lze detekovat půdní anorganickou hmotu (specificky uhličitany).

## 5.4 Stanovení polní vodní kapacity

Vztah mezi logaritmem potenciálu matrice půda-voda a obsahu vlhkosti v hmotnostních nebo objemových procentech se nazývá křivka retence vody nebo křivka pF [124; 125]. Hodnota pF je vyjádřena následujícím způsobem:

$$pF = \log H, \quad (4)$$

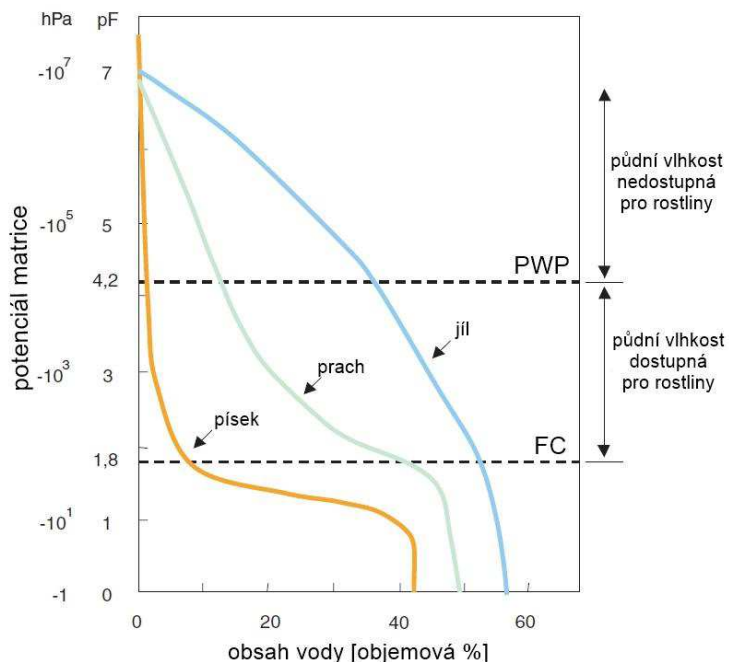
přičemž H je tlaková výška [126].

Z této křivky lze odvodit tři různé parametry retence vody, jež jsou definovány různým obsahem vlhkosti pro jednotlivé typy půd (Tabulka 3).

Tabulka 3: Parametry retence vody [127].

Polní vodní kapacita (FC)	Množství vody, které půda dokáže zadržet proti působení gravitace.
Dostupná kapacita vody	Voda, která je dostupná rostlinám. Část FC, která není zadržena v jemných pórech.
Vzduchová kapacita	Obsah vzduchu v půdě při FC.

Experiment pro stanovení polní vodní kapacity vychází z normy ISO 11274, jež se zaměřuje na stanovení retenčních vlhkostních charakteristik vody [128]. Polní vodní kapacita (FC) se v Německu běžně uvádí jako obsah vlhkosti v procentech při matricovém potenciálu půdní vody  $pF = 1,8$  (Obrázek 25). Trvalý bod vadnutí (PWP), běžně uváděný jako  $pF = 4,2$ , je limit, při kterém plodiny začínají nevratně vadnout. Nad  $pF = 4,2$  je veškerá vlhkost zadržována v jemných pórech a není dostupná pro rostliny, pod  $pF = 1,8$  je vlhkost relativně snadno odstranitelná z pórů [127; 129].

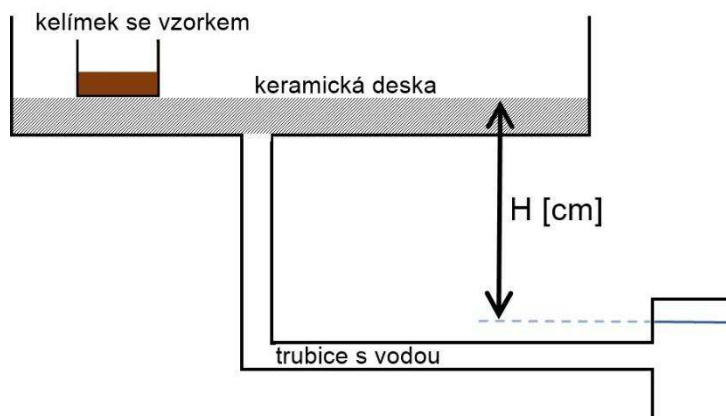


Obrázek 25: Retenční pF křivky pro jednotlivé typy půd. Převzato z [127] a upraveno.

Parametry retence vody v půdě závisí na objemu pórů a jejich distribuci, proto se liší podle typu půdy. Písčité půdy se vyznačují vysokým podílem volně vázané vody a vysokou kapacitou vzduchu. V jílovitých půdách dominují jemné póry, proto mají tendenci pevně zadržovat vlhkost, v hlinitých půdách dominují středně velké póry. Vliv na zadržování vody má také objemová hmotnost půdy, obsah půdní organické hmoty a struktura půdy [126; 127].



Pro experiment je využívána keramická deska, která je napojena na mechanismus, pomocí kterého je umožněna změna hladiny vodního sloupce. Suché půdní vzorky jsou navažovány do plastových kroužků, které mají ve spodní části síťku umožňující průnik vody [126; 130].

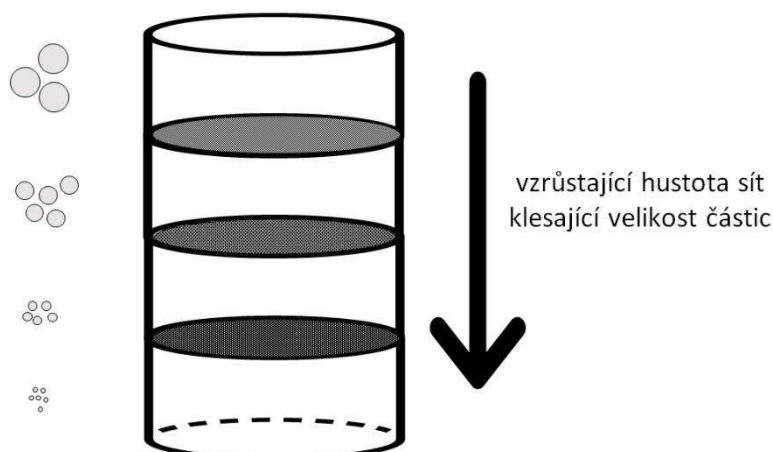


Obrázek 26: Schématické znázornění systému pro měření polní vodní kapacity. Inspirováno [126].

## 5.5 Síťová analýza

Půda je systém, který obsahuje směs částic různé velikosti. Síťová analýza je separační metoda, která může v půdní analýze figurovat pouze jako předúprava vzorku před konkrétní výzkumnou metodou. Zároveň tato metoda slouží ke snadnému zjištění rozměrů půdních částic a umožňuje popis jejich distribuce [129; 131].

Principem je použití sít, které mají definovanou velikost otvorů. Tato síta jsou seřazena tak, aby byl analyzovaný materiál gravitačně transportován síty, u nichž se postupně zvyšuje hustota sít, tj. zmenšuje se velikost otvorů (Obrázek 27) [129]. Částice, které propadnou konkrétním sítím, jsou označovány jako podsítná frakce, nad sítím zůstane nadsítný podíl. Cílem je rozdělit vzorek na jednotlivé zrnitostní frakce. Po nasypání materiálu se síty pohybuje ručně nebo s využitím strojního zařízení. Po ukončení síťování je soustava sítí rozebrána a jednotlivé půdní frakce jsou zváženy [131]. Výsledek síťové analýzy je obvykle udáván v hmotnostní procentech, které popisují obsah jednotlivých frakcí [129].



Obrázek 27: Schématické znázornění síťové analýzy.



## CÍL PRÁCE

U biodegradabilních plastů využívaných v zemědělství se předpokládá jejich rozklad v půdě. V těchto reálných podmínkách může být biodegradace pomalá, protože systém nemusí splňovat ideální podmínky (např. teplota, vlhkost, obsah živin, pH) pro rychlý rozklad. Může docházet k ovlivnění půdní bioty, čemuž je již pozornost nějakou dobu věnována, ale i k ovlivnění abiotických vlastností půdy, především kvality půdní organické hmoty.

Cílem této práce je zjistit, zda a jakým způsobem ovlivní biodegradace polyhydroxyalkanoátu vlastnosti půdy. Jako modelový biodegradabilní polymer byl zvolen práškový P3HB, který byl do půdního systému vnesen v různých koncentracích. Nádobové biodegradační experimenty byly prováděny s rostlinou i bez rostliny, s hnojením dusíkatým hnojivem i bez. Po ukončení tohoto biodegradačního experimentu byly odebrány půdní vzorky, které byly následně analyzovány.

Vliv na půdu je v této práci hodnocen s využitím několika parametrů:

- množství reziduálního P3HB, které umožňuje určit, kolik biodegradabilního plastu je v půdním systému přítomno po 90 dnech biodegradace,
- hodnota výparné entalpie, která je proporcionální způsobu, jakým je voda v půdě zadržována,
- množství vody v půdě, které odráží strukturu půdy a její schopnost zadržovat vodu,
- hodnota polní vodní kapacity, která odráží strukturu půdy a její případné změny
- velikost částic, které odrážejí schopnost půdních organismů slepovat půdní částice a tím tvořit půdní strukturu,
- množství a kvalitu půdní organické hmoty, které je důležitým parametrem stavu půdy.

Stanovení těchto parametrů umožňuje odpovědět na následující výzkumné otázky:

- Bude ovlivněna rychlost biodegradace v půdě přidávkem živin?
- Bude mít přítomnost rostliny v systému vliv na rychlost biodegradace?
- Dojde vlivem biodegradace materiálu k ovlivnění půdní organické hmoty?
- Lze pozorovat změnu textury půdy?
- Ovlivní biodegradace polyhydroxyalkanoátu vodní režim v půdě?

Ke stanovení ovlivnění těchto vlastností byla použita diferenční kompenzační kalorimetrie, termogravimetrie, síťová analýza a metoda pro stanovení polní vodní kapacity.

# EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

## 6 METODIKA

### 6.1 Příprava vzorků

- poly(R-3-hydroxybutyrát): TianAn Biologix Materials (Čína)
- půda: prachovitá jílovitá půda (dle trojúhelníkového diagramu zrnitosti půd), odebraná poblíž Troubska (Česká republika)

S poly(R-3-hydroxybutyrátem) byly na Mendelově univerzitě v Brně provedeny nádobové experimenty ve čtyřech sériích:

- bez hnojiva, bez rostliny
- bez hnojiva, s rostlinou
- s hnojivem, bez rostliny
- s hnojivem, s rostlinou.

Práškové P3HB bylo pro nehnojené série dávkováno do půdy v koncentracích 0 hm.%, 0,1 hm.%, 1 hm.%, 5 hm.% a 10 hm.%. Každá koncentrace byla připravena v 3 – 5 opakováních. Na dalších 2 sériích vzorků s obsahem P3HB 0 – 5 hm. % probíhal totožný experiment, ale navíc byly tyto vzorky hnojeny minerálním hnojivem NPK YaraMila 16:16:16 (YARA Agri Czech Republic s.r.o., nadnárodní společnost YARA Denmark Fertilizers, Dánsko) v dávce 0,05 g N/kg půdy při založení a následně po každých 15 dnech. Tento experiment probíhal v růstové komoře PlantMaster (CLF, Německo), kde byla zajištěna 70% vlhkosti vzduchu, půda byla zalévána na 60 – 70 % polní vodní kapacity a byla zajištěna teplota 20 °C stupňů ve dne (14 hodin) a 12 °C v noci (10 hodin). Délka experimentu byla 90 dnů. Následně byly půdní vzorky vysušeny a byly provedeny následující analýzy.

### 6.2 Použité chemikálie a pomůcky

- Uhlíčan draselný (PENTA s.r.o., Chrudim)
- Analytické váhy (Scaltec)
- Analytické váhy (Denver Instrument, Germany)
- Běžné laboratorní vybavení

### 6.3 Použité metody

#### 6.3.1 Termogravimetrie

- Termogravimetr TGA 550 (TA Instruments, USA)
- Alumina pánvičky (TA Instruments, USA)

Pomocí termogravimetrické analýzy bylo zjištěno množství P3HB, které nepodlehlo biodegradaci. Vzorky byly vystaveny shodné laboratorní vlhkosti vzduchu 40 %. Přibližně 50 mg vzorků bylo naváženo do vzorkovnice, následoval teplotní program obsahující ohřev s rychlostí 10 °C/min do 575 °C. Byla použita oxidační atmosféra vzduchu, průtok plynu byl 60 ml/min.

### 6.3.2 Diferenční kompenzační kalorimetrie

- Diferenční kompenzační kalorimetr Discovery DSC 2500 (TA Instruments, USA)
- Tzero press: lis pro hermetické uzavření pánviček s víčkem (TA Instruments, USA)
- Hliníkové pánvičky a víčka Tzero (TA Instruments, USA)

Tato metoda umožňuje stanovit hodnotu výparné entalpie, přičemž experiment byl využit zároveň ke stanovení množství vázané (rovnovážné) vody v půdě. Část každého vysušeného půdního vzorku byla odebrána a umístěna na 3 týdny do exsikátoru, kde byly vzorky vystaveny vzdušné vlhkosti 43 %. Příslušná vlhkost byla zajištěna uhličitanem draselným, který byl v exsikátoru umístěn ve formě přesyceného roztoku a zároveň i ve své krystalické podobě.

Vzorek byl navážen do hliníkových Tzero pánviček, hmotnost vzorku byla přibližně 25 mg. Pánvičky byly lisem Tzero press hermeticky uzavřeny. V každé sérii vzorků bylo provedeno 3 – 5 opakování pro každou koncentraci.

Hermeticky uzavřená vzorkovnice byla zvážena před měřením, následně bylo víčko reprodukovatelně perforováno špendlíkem a pánvička byla vložena manuálně do pece diferenčního kompenzačního kalorimetru. Příslušný měřicí program obsahoval chlazení na  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , následný ohřev rychlostí  $7\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  na teplotu  $185\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Bezprostředně po ukončení měření byla pánvička opět zvážena, což umožnilo stanovit množství rovnovážné (vázané) vody v půdě.

### 6.3.3 Stanovení polní vodní kapacity

- Keramická deska s mechanismem umožňujícím změnu vodního sloupce
- Plastové kelímky se sítkou umožňující průnik vody

Půdní vzorek byl navážen do speciálních plastových kelímků, které ve spodní části obsahují síťovinu umožňující průnik vody. Naváženo bylo přibližně 10 g suchého materiálu ve 3 opakováních pro každý vzorek. Kelímky se vzorkem byly umístěny na keramickou desku, na kterou je připojen mechanismus k ovládání hladiny vodního sloupce. Nejprve byly všechny vzorky plně nasyceny vodou umístěním hladiny vodního sloupce do vyšší úrovně než je pozice keramické desky. Po plném nasycení vzorků vodou, jež trvalo 16 – 20 hodin, byla snížena hladina vodního sloupce na 63 cm, jež odpovídá hodnotě  $pF = 1,8$ . Při těchto podmínkách experiment probíhal dalších 24 hodin, po kterých byly jednotlivé vzorky zváženy.

Z hmotnostního rozdílu suché půdy a půdy na konci experimentu bylo stanoveno množství vody, které půda zadržela za daných podmínek. Tato hodnota byla vztažena na hmotnost suchého vzorku a byla vyjádřena v hmotnostních procentech. Následně byl vytvořen průměr této hodnoty pro všechny vzorky se stejným obsahem P3HB.

### 6.3.4 Síťová analýza

- Analytická síta (velikost ok: 45  $\mu\text{m}$ , 63  $\mu\text{m}$ , 128  $\mu\text{m}$ , 500  $\mu\text{m}$ , 1000  $\mu\text{m}$ )

Pro popis distribuce částic půdních vzorků byla použita analytická síta s definovanou velikostí ok. K síťové analýze bylo využito 80 – 100 g vzorku, který byl umístěn na nejhrubší síto. Následoval ruční mechanický pohyb síty, který byl prováděn přibližně 3 minuty. Následně byly jednotlivé velikostní frakce zváženy.

Hmotnosti jednotlivých velikostních frakcí byly vyjádřeny v hmotnostních procentech. Průměry těchto hodnot pro každou velikostní frakci a obsah P3HB byly vyneseny do sloupcových grafů. Dále byly vytvořeny tabulky, jež schématicky zobrazují změnu distribuce částic pro jednotlivé frakce a obsahy P3HB.

Pro zhodnocení celkového vlivu P3HB na distribuci částic byly využity postupy a rovnice, které se obvykle využívají pro zhodnocení distribuce velikosti částic v polydisperzních směsích. Umožňují porovnat rozptyl distribuce částic pro konkrétní sérii vzorků.

První vzorec popisuje početně střední molární hmotnost (početní průměr molárních hmotností):

$$\overline{Mn} = \frac{\sum N_i M_i}{\sum N_i} \quad (5)$$

Pro popis hmotnostně střední molární hmotnosti (hmotnostní průměr molárních hmotností) je využíván následující vzorec:

$$\overline{Mw} = \frac{\sum N_i M_i^2}{\sum N_i M_i} \quad (6)$$

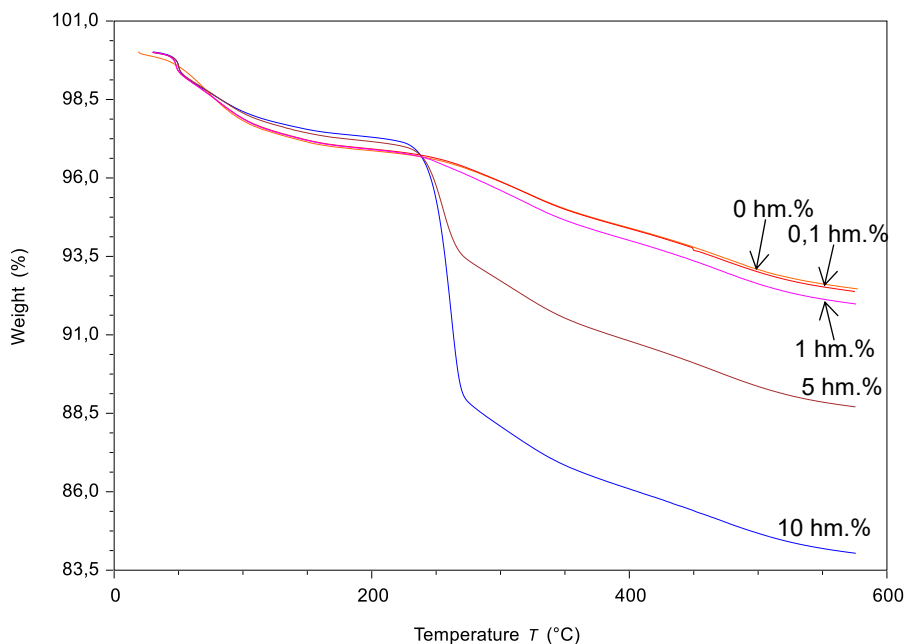
přičemž  $Mn$  ... početně středně molární hmotnost [-],  
 $Mw$  ... hmotnostně středně molární hmotnost [-],  
 $N_i$  ... četnost [hm.%],  
 $M_i$  ... velikost [mm] [132; 133].

Podíl hmotnostně střední molární hmotnosti a početně střední molární hmotnosti udává koeficient polydisperzity (angl. polydispersity index), jež je v podstatě měřítkem šířky distribuce částic [132].

## 7 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 7.1 Stanovení množství reziduálního P3HB

Termální degradace P3HB probíhá v teplotním intervalu 180 – 275 °C [31; 37]. Termogravimetrický záznam graficky zobrazuje hmotnostní úbytek v daném teplotním intervalu, který odpovídá degradaci P3HB. Tento reprezentativní záznam (Obrázek 28) odpovídá vzorkům bez hnojiva a bez rostliny pro jednotlivé hmotnostní koncentrace P3HB.



Obrázek 28: Ukázka termogravimetrického záznamu zobrazující změnu hmotnosti v závislosti na teplotě pro vzorky bez dusíku a bez rostliny.

Reziduální obsah P3HB byl stanoven jako rozdíl procentuálního hmotnostního úbytku blanku a vzorku s obsahem biodegradabilního polymeru. K určení změny hmotnosti byla využita funkce Weight change v programu Trios (TA Instruments).

Množství P3HB na počátku experimentu a po biodegradaci vyjádřené v hmotnostních procentech – viz *Tabulka 4*.

Tabulka 4: Průměrný obsah reziduálního P3HB ve vzorcích, zeleně jsou označeny vzorky, ve kterých došlo ke kompletní biodegradaci.

	Obsah P3HB v půdě [hm. %]			
	Bez rostliny		S rostlinou	
	Před	Po	Před	Po
Bez N-hnojiva	0,1 %	0,00 ± 0,01 %	0,1 %	0,00 ± 0,02 %
	1 %	0,34 ± 0,08 %	1 %	0,43 ± 0,10 %
	5 %	3,1 ± 0,4 %	5 %	2,86 ± 0,15 %
	10 %	7,2 ± 1,1 %	10 %	6,8 ± 0,8 %
S N-hnojivem	0,1 %	0,00 ± 0,02 %	0,1 %	0,00 ± 0,02 %
	1 %	0,00 ± 0,03 %	1 %	0,14 ± 0,04 %
	5 %	1,4 ± 0,4 %	5 %	1,8 ± 0,8 %

Z této tabulky je patrné, že přídavek N-hnojiva přispěl k rychlejší biodegradaci polymeru v porovnání s paralelním experimentem, při kterém vzorky hnojeny nebyly. Mikroorganismy potřebují pro svůj metabolismus dostatek živin, které čerpají z okolní půdy [83; 97]. Získané výsledky naznačují, že přídavek dusíku do systému má pozitivní vliv na aktivitu mikroorganismů, které posléze biodegradují P3HB rychleji. Je nutné zmínit soupeření rostliny a mikroorganismů o tyto živiny, čímž lze ožrejmít menší úbytek P3HB ve vzorcích půdy s rostlinami v porovnání s neosazenou půdou v sadě nádob, které byly hnojeny.

## 7.2 Ovlivnění půdní organické hmoty

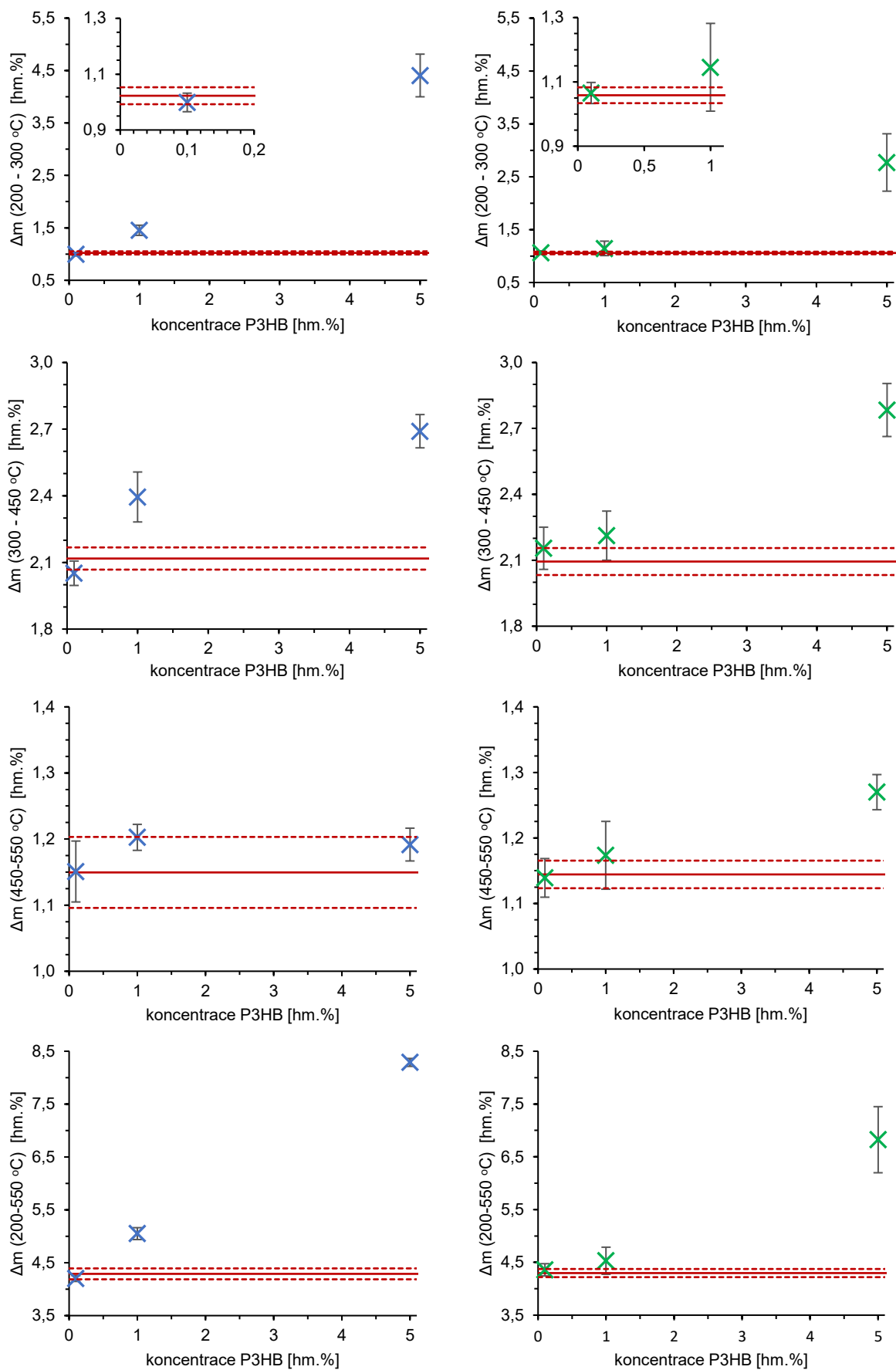
Termogravimetrické záznamy umožňují zmapovat vliv P3HB na půdní organickou hmotu. Do grafů byly vyneseny procentuální změny hmotnosti v intervalech 200 – 300 °C, 300 – 450 °C, 450 – 550 °C a 200 – 550 °C [123; 134], jež byly vztaženy vůči průměrné hodnotě blanku v daném teplotním intervalu.

Vliv P3HB na půdní organickou hmotou (SOM) je zobrazen v následujících grafech (*Obrázek 29*, *Obrázek 30*). Na ose x je vynesena koncentrace P3HB v hmotnostních procentech (z důvodu přehlednosti je využívána koncentrace P3HB, která byla do systému vložena na počátku experimentu), na ose y je vynesena změna hmotnosti vzorku v daném teplotním intervalu vztažena vůči blanku. Nulová linie odpovídající blanku je zobrazena červenou linií, odchylky měření jsou znázorněny čarou přerušovanou.

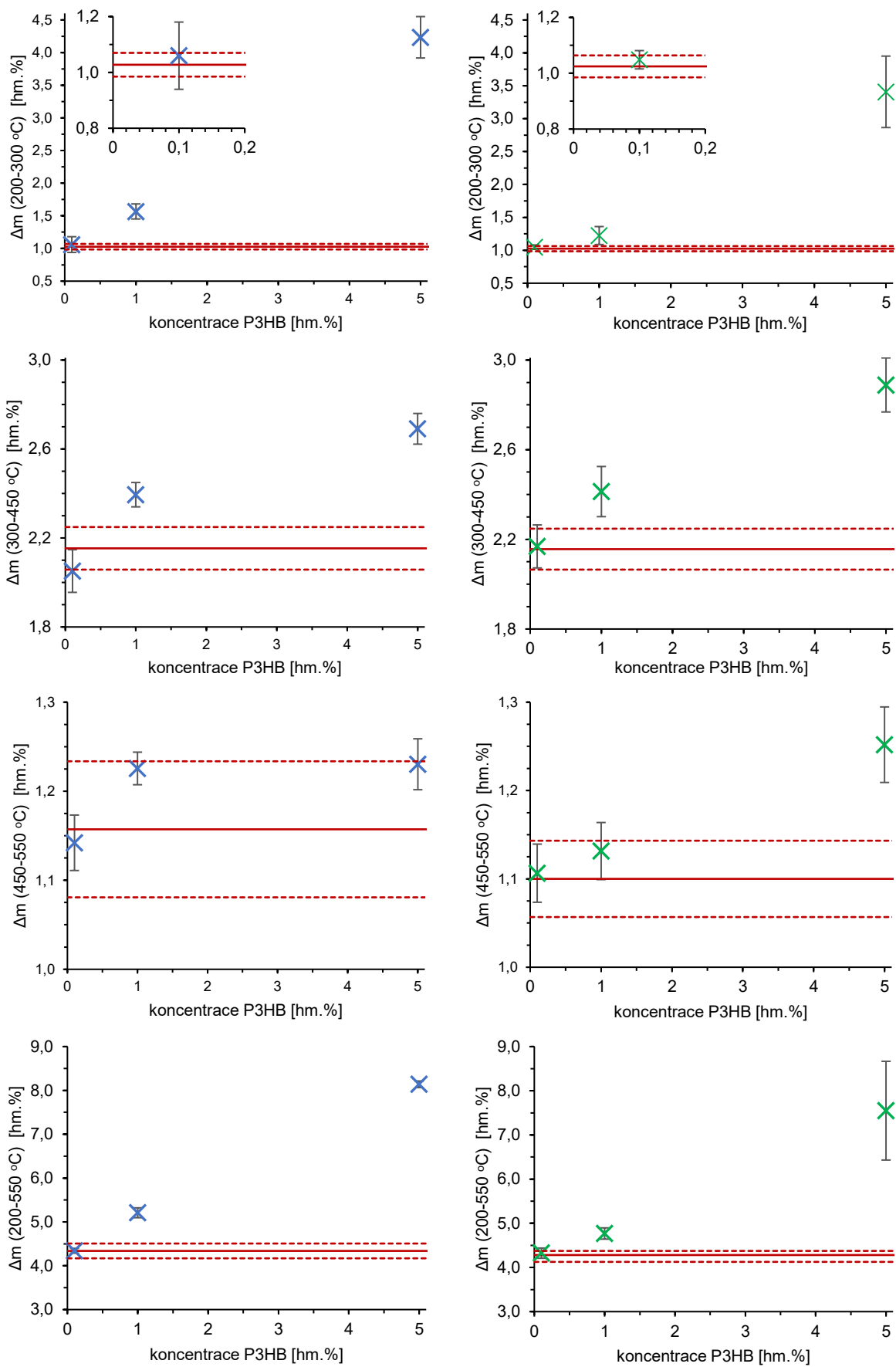
Při porovnání grafů, které zobrazují měření vzorků bez rostliny (*Obrázek 29*) v teplotním intervalu 200 – 300 °C, je nutné vzít v úvahu, že v tomto teplotním intervalu degraduje P3HB (*Obrázek 28*). V grafu je patrné, že u nehnojených vzorků (vlevo) nabývají hodnoty vyšších hodnot než u vzorků hnojených (vpravo). Tato skutečnost odpovídá tomu, že přídavek hnojiva způsobil rychlejší biodegradaci P3HB, takže tyto vzorky obsahovaly nižší množství tohoto materiálu. Obdobný efekt v tomto intervalu lze pozorovat i u vzorků, na kterých probíhal růst kukuřice (*Obrázek 30*), ale zde je tento vliv méně intenzivní v porovnání se vzorky bez rostliny. Degradční produkty a biomasu, jež vznikly rozkladem P3HB lze pozorovat teplotním intervalu 300 – 450 °C.

V teplotním intervalu 450 – 550 °C degraduje pasivní frakce SOM [123]. V případě nehnojených vzorků (s rostlinou i bez rostliny) nedošlo ke zvýšení hmotnosti v této oblasti v porovnání s blankem. U hnojených vzorků lze pozorovat nárůst hmotnosti u vzorků obsahujících 5 hm.% P3HB, z čehož vyplývá že proces biodegradace v tomto případě dosáhl úrovně intenzivní půdotvorby a došlo ke zvýšené tvorbě pasivní SOM.

Celkový rozdíl hmotnosti v intervalu 200 – 550 °C je vyšší u vzorků nehnojených oproti těm, ke kterým bylo v průběhu experimentu přidáváno hnojivo. Tato skutečnost je dána navýšením hodnot v intervalu 200 – 300 °C. U vzorků bez rostliny je tento efekt patrnější než u vzorků, na kterých byla pěstována rostlina.



Obrázek 29: Grafy zobrazující změnu hmotnosti v jednotlivých teplotních intervalech pro vzorky bez rostliny. Vlevo – bez N-hnojiva, vpravo – s N-hnojivem.

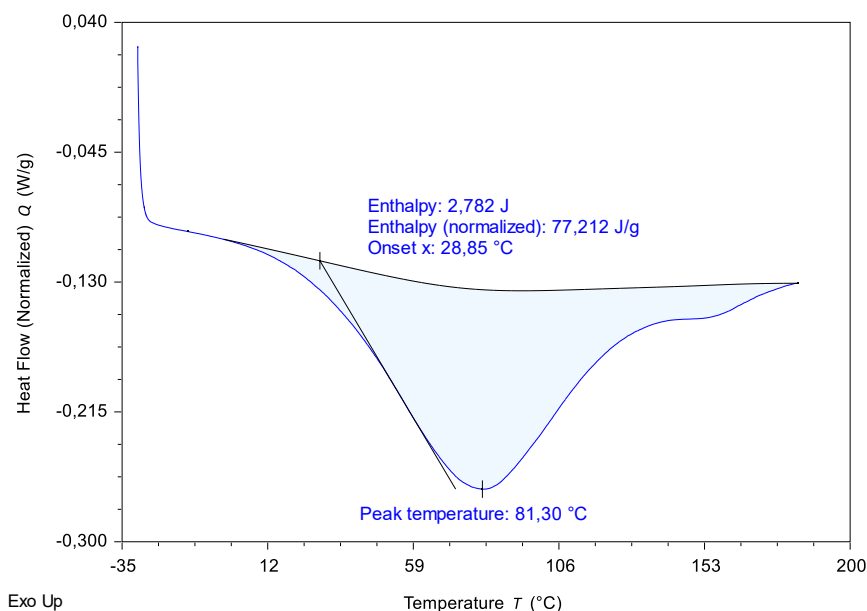


Obrázek 30: Grafy zobrazující změnu hmotnosti v jednotlivých teplotních intervalech pro vzorky s rostlinou. Vlevo – bez N-hnojiva, vpravo – s N-hnojivem.



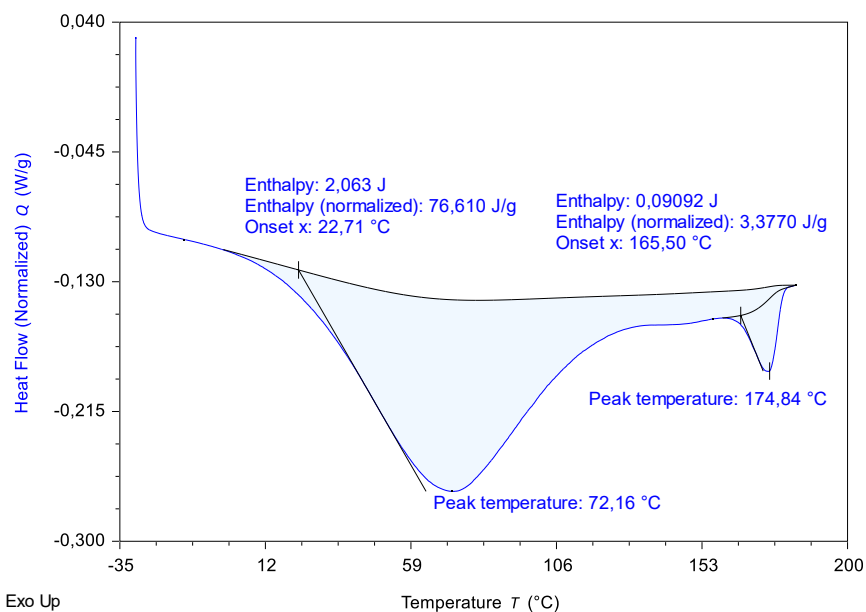
### 7.3 Vliv na chování půdní vlhkosti

Záznam z DSC pro vzorek neobsahující P3HB (Obrázek 31) zobrazuje závislost tepelného toku na teplotě. Endotermický pík vypařování vody byl integrován pomocí funkce Peak integration v programu Trios (TA Instruments) s využitím sigmoidální základní čáry s manuálním nastavením tečen na obou stranách. Plocha tohoto píku odpovídá entalpii procesu vypařování vody, které probíhá v intervalu přibližně 0 – 180 °C. V záznamu níže je zaznamenána teplota píku 81,30 °C a entalpie 2,782 J. Tato hodnota je normalizována na hmotnost odpařené vody, čímž je určena hodnota výparné entalpie [J/mg].



Obrázek 31: Vyhodnocený DSC záznam pro vzorek bez obsahu P3HB (bez hnojiva, bez rostliny).

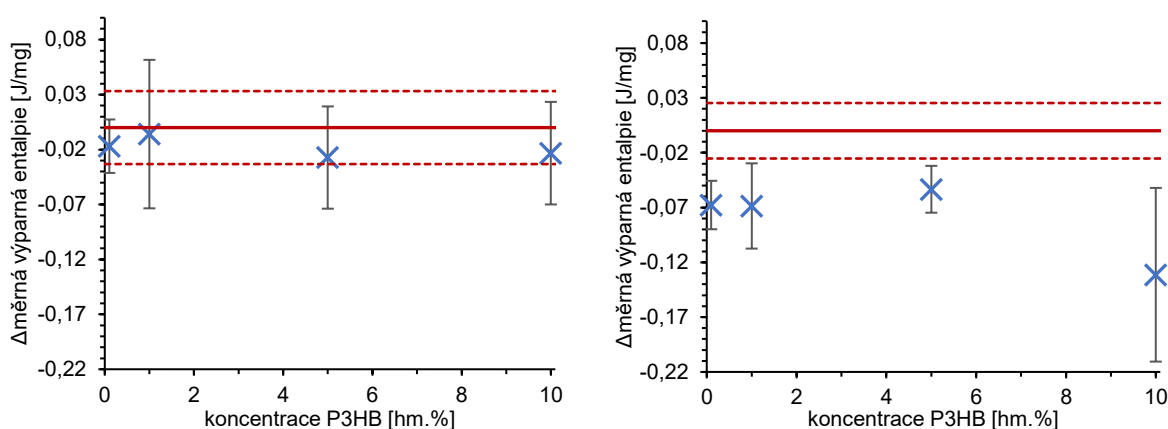
U záznamů vzorků s obsahem P3HB (Obrázek 32) je patrný endotermický pík kolem 175 stupňů, který odpovídá tání P3HB [31; 37]. Byl analyzován taktéž s využitím funkce Peak Integration a tato hodnota byla odečtena od stanovené hodnoty entalpie před normalizací na hmotnost odpařené vody.



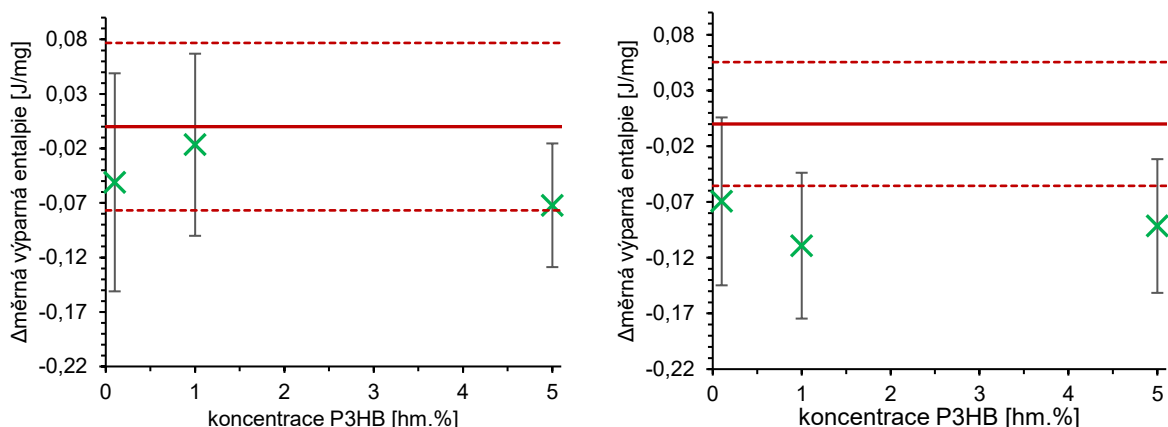
Obrázek 32: Vyhodnocený DSC záznam pro vzorek obsahující 5 hm.% P3HB (bez hnojiva, bez rostliny).

Následující grafy (Obrázek 33, Obrázek 34) popisují závislost výparné entalpie vody na koncentraci P3HB v hmotnostních procentech. Tato hodnota odpovídá energii potřebné k odstranění vody ze vzorku, která zahrnuje desorpci vody vázané na povrchu půdy, energetické nároky na difuzi vody póry půdní organické hmoty a vypaření volné vody [119]. Plná červená linie, vynesena jako linie nulová, odpovídá vzorkům, které neobsahovaly P3HB. Přerušovaná červená linie zobrazuje odchylku měření. Pro snazší orientaci jsou na ose x vyneseny hodnoty koncentrace P3HB na počátku nádobového experimentu.

Závislost výparné entalpie u vzorků, které nebyly hnojeny zachycuje Obrázek 33. V levém záznamu jsou všechna měření v rámci směrodatné odchylky blanku. Graf napravo náleží vzorkům s rostlinou, kde je zachycen pokles hodnoty výparné entalpie u všech koncentrací P3HB. Snížení hodnoty výparné entalpie poukazuje na to, že je za těchto podmínek voda v půdě slaběji vázaná. Obrázek 34 náleží vzorkům, které byly hnojeny. V těchto záznamech není pozorován vliv na hodnotu výparné entalpie. Při porovnání sérií vzorků s rostlinou lze tedy konstatovat, že přídavek živin potlačil snižování hodnoty výparné entalpie, ke kterému došlo.

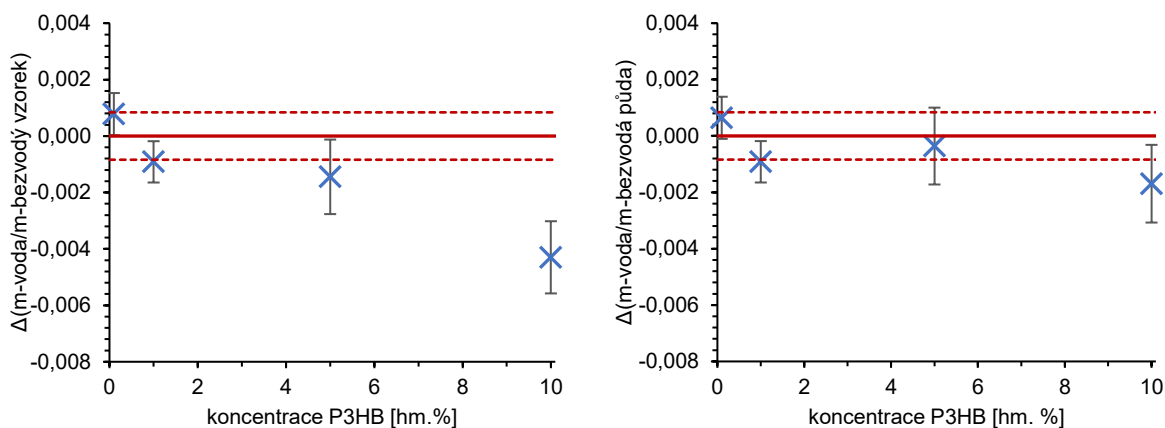


Obrázek 33: Grafy zobrazující závislost výparné entalpie vody z půdy na koncentraci P3HB pro vzorky bez hnojiva. Vlevo – bez rostliny, vpravo – s rostlinou.



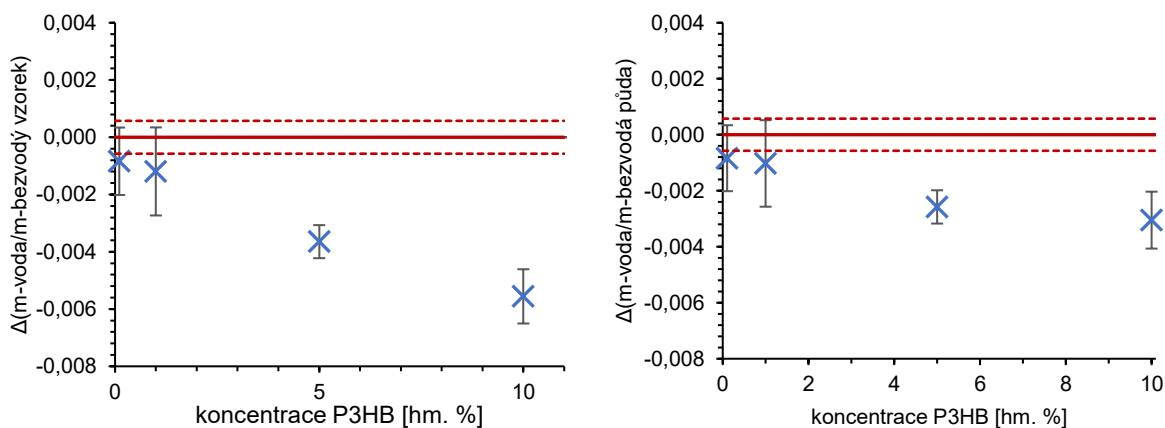
Obrázek 34: Grafy zobrazující závislost výparné entalpie vody z půdy na koncentraci P3HB pro vzorky s hnojivem. Vlevo – bez rostliny, vpravo – s rostlinou.

Množství rovnovážné (vázané) vody ve vzorku bylo zjištěno z rozdílu hmotnosti pánvičky se vzorkem před a po měření na DSC. Tato hodnota byla vztažena na suchý vzorek v závislosti na koncentraci P3HB zobrazují následující grafy. Sérii vzorků bez N-hnojiva a bez rostliny zachycuje *Obrázek 35*, kdy lze v levém grafu pozorovat pokles u 10 hm.%. Snížení této hodnoty odpovídá množství reziduálního P3HB a po vztáhnutí hodnot pouze na půdní část vzorku (graf vpravo) již není pozorovatelný pokles.

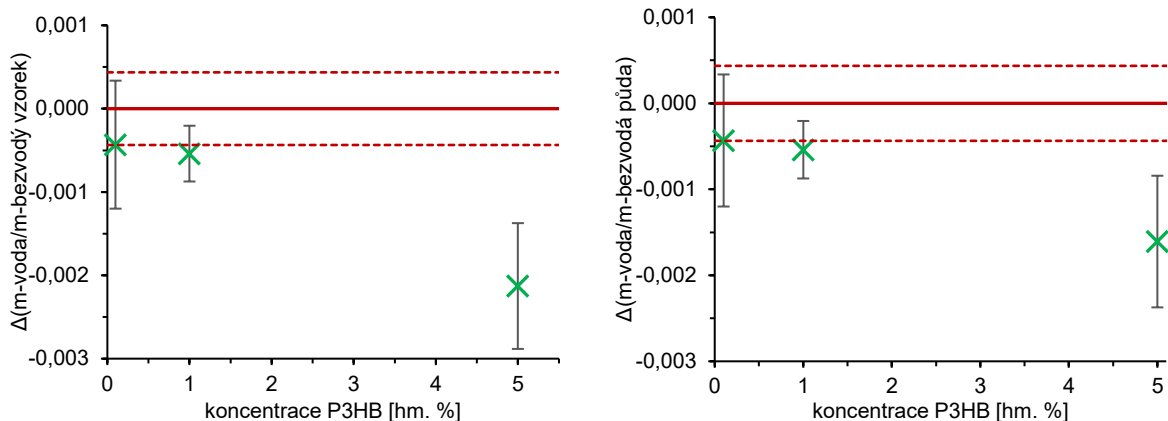


*Obrázek 35: Grafy zobrazující závislost množství vody na koncentraci P3HB pro sérii vzorků bez N-hnojiva a bez rostliny. Vlevo vztaženo na celý vzorek, vpravo vztaženo pouze na půdu.*

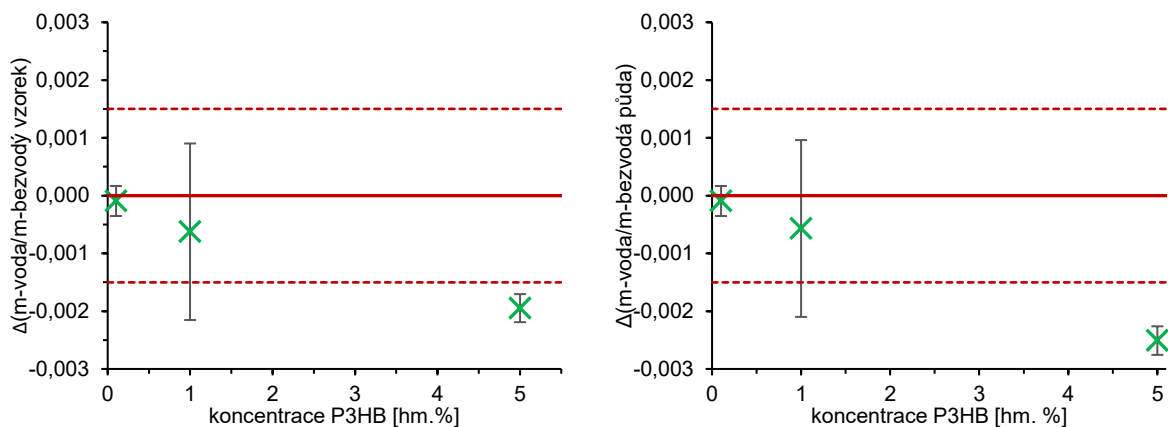
*Obrázek 36* odpovídající sérii vzorků bez N-hnojiva a s rostlinou vykazuje snížení hodnot u 5 hm.% a 10 hm.% P3HB i po přepočtu na hmotnost půdy. Obdobný efekt je pozorován i u hnojených půd – viz *Obrázek 37*, *Obrázek 38*.



*Obrázek 36: Grafy zobrazující závislost množství vody na koncentraci P3HB pro sérii vzorků bez N-hnojiva a s rostlinou. Vlevo vztaženo na celý vzorek, vpravo vztaženo pouze na půdu.*



Obrázek 37: Grafy zobrazující závislost množství vody na koncentraci P3HB pro sérii vzorků s N-hnojivem, bez rostliny. Vlevo vztaženo na celý vzorek, vpravo vztaženo pouze na půdu.

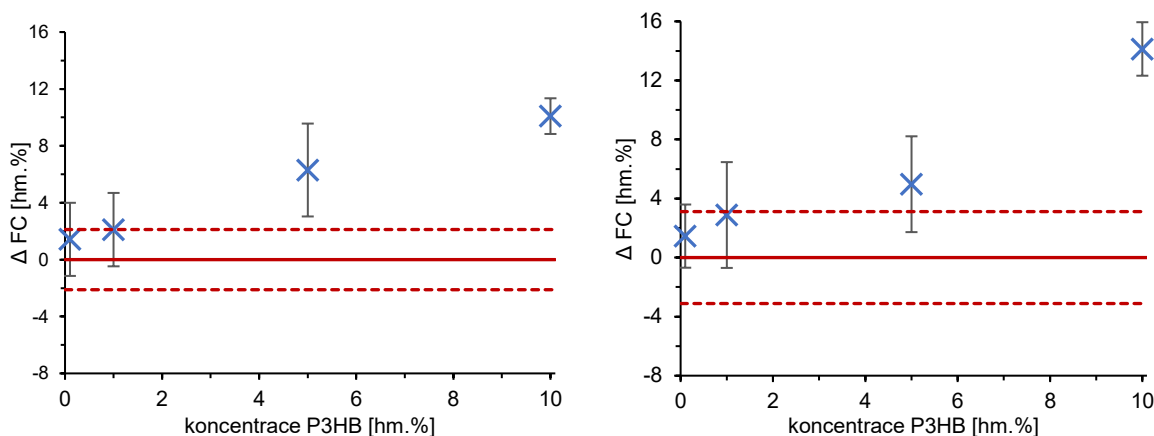


Obrázek 38: Grafy zobrazující závislost množství vody na koncentraci P3HB pro sérii vzorků s N-hnojivem, s rostlinou. Vlevo vztaženo na celý vzorek, vpravo pouze na půdu.

U série bez N-hnojiva a bez rostliny (Obrázek 35) lze pozorovat pokles množství vody způsobený pouze přítomností nezdegradovaného P3HB. Ve zbylých sériích (Obrázek 36, Obrázek 37, Obrázek 38) byl pozorován pokles množství vody nejen vlivem reziduálního P3HB, ale k ovlivnění došlo i vlivem procesu biodegradace. Pokles hodnoty měrné výparné entalpie u série vzorků bez N-hnojiva a s rostlinou (Obrázek 34) poukazuje na riziko snazšího vypařování vody z půdy v systému, který má nedostatek dusíku. V kombinaci se sníženým množstvím vázané vody za těchto podmínek může biodegradace P3HB způsobovat zvýšené vysychání půdního systému.

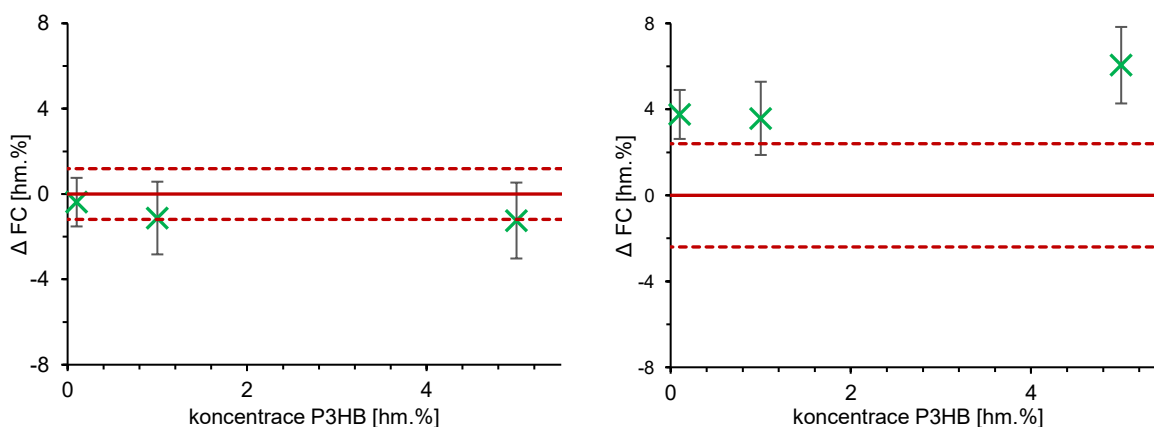
## 7.4 Ovlivnění polní vodní kapacity

Vliv biodegradace P3HB na hodnotu polní vodní kapacity je vyjádřen v následujících grafech, tento parametr je vyneseno na ose y. U nehnojených sérií (Obrázek 39) došlo k nárůstu hodnoty polní vodní kapacity v sérii bez rostliny u vzorků obsahujících 5 hm.% a 10 hm.% P3HB, v případě osázených půd byl nárůst hodnoty pozorován pouze u koncentrace 10 hm.% P3HB.



Obrázek 39: Grafy zobrazující ovlivnění polní vodní kapacity přidavkem P3HB pro vzorky bez hnojiva. Vlevo – bez rostliny, vpravo – s rostlinou.

V případě půd, kterým byly dodávány živiny hnojivem (Obrázek 40), je pozorováno ovlivnění polní vodní kapacity u koncentrací 0, 1 hm.% a 10 hm.% P3HB v přítomnosti rostliny, kdy došlo k nárůstu těchto hodnot. Vzorky vystavené totožným podmínkám s přidavkem 1 hm.% P3HB tento efekt nevykazovaly. Stejně jako nebylo sledováno ovlivnění polní vodní kapacity v případě celé série vzorků půdy, která byla hnojena, ale na níž nebyla vyseta rostlina.



Obrázek 40: Grafy zobrazující ovlivnění polní vodní kapacity přidavkem P3HB pro vzorky s hnojivem. Vlevo – bez rostliny, vpravo – s rostlinou.

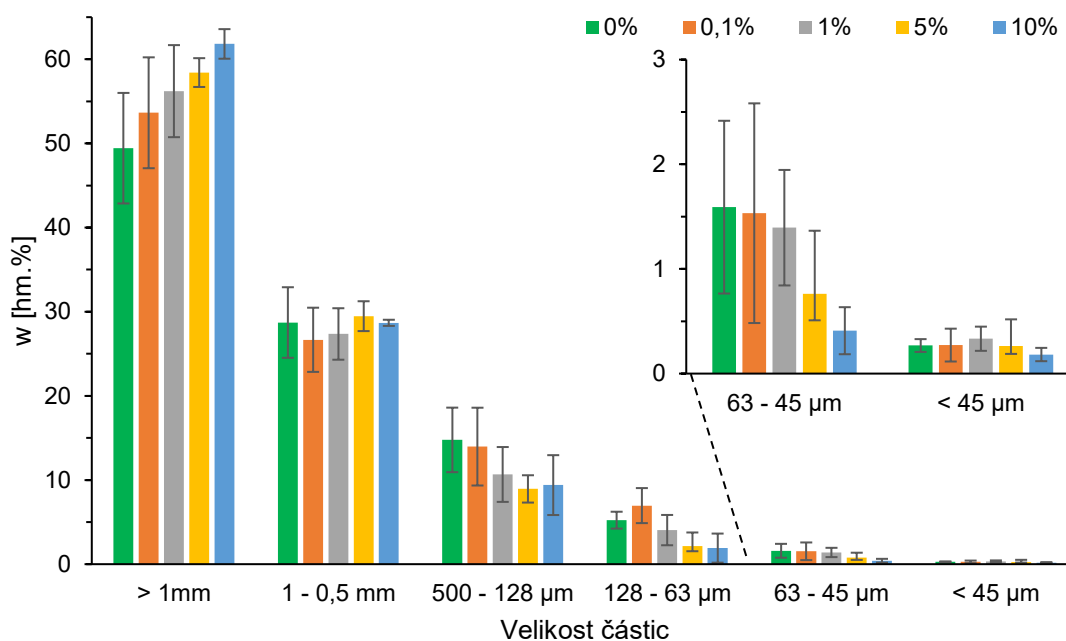
V případě nehnojených vzorků lze pozorovat lineární korelaci dat (viz Příloha 1), kdy se hodnota polní vodní kapacity zvyšuje se vzrůstající hodnotou koncentrace P3HB. Tato korelace je patrná jak v závislosti na vloženém množství P3HB, tak na koncentraci reziduálního P3HB. U hnojených vzorků nabývá korelační koeficient nižších hodnot, což odpovídá méně významné korelaci těchto dat.

## 7.5 Vliv na distribuci půdních částic

V následujících grafech je na ose y vynesena hmotnostní zlomek, jež popisuje hmotnostní zastoupení velikostních frakcí ve směsi. Velikost jednotlivých frakcí je zobrazena na ose x.

### Bez N-hnojiva, bez rostliny

Sloupcový graf poukazuje na zvyšující se zastoupení frakce > 1 mm se zvyšující se koncentrací P3HB. V případě 5 hm.% a 10 hm.% se jedná o efekt překračující směrodatnou odchylku blanku (Obrázek 41).



Obrázek 41: Distribuce částic - série bez N-hnojiva, bez rostliny.

Tabulka 5 schématicky shrnuje, zda dochází u vzorku s obsahem P3HB k nárůstu nebo poklesu hmotnostního zastoupení konkrétní frakce v porovnání s blankem. Zvýraznění zelenou barvou v tabulce naznačuje zvýšení hodnoty, které je výraznější než směrodatná odchylka blanku, obdobně s červenou barvou, která zobrazuje snížení její hodnoty. Zobrazení výsledků ve sloupcovém grafu i v tabulce poukazuje na snížené zastoupení frakcí 500 – 128 µm a 63 – 45 µm u kontaminovaných vzorků v porovnání se vzorkem, který P3HB neobsahoval.

Tabulka 5: Porovnání distribuce částic v jednotlivých frakcích s blankem. Série bez N-hnojiva, bez rostliny.

Koncentrace P3HB	Frakce					
	> 1 mm	1 – 0,5 mm	500 – 128 µm	128 - 63 µm	63 – 45 µm	< 45 µm
0,1 hm.%	↑	↓	↓	↑	↓	-
1 hm.%	↑	↓	↓	↓	↓	↑
5 hm.%	↑	↑	↓	↓	↓	-
10 hm.%	↑	↑	↓	↓	↓	↓

Koeficient polydisperzity se snižuje se zvyšujícím se obsahem P3HB, výjimku tvoří pouze vzorky s obsahem P3HB 0,1 hm.% (*Tabulka 6*). Snižování této hodnoty v daných sériích poukazuje na snížení šířky distribuce částic, což znamená, že vzniká větší množství agregátů o stejné velikosti v porovnání s blankem. Početně střední molární hmotnost se zvyšuje se vzrůstající koncentrací P3HB (s výjimkou 0,1 hm.% P3HB), obdobný efekt je patrný i v případě hmotnostně střední molární hmotnosti.

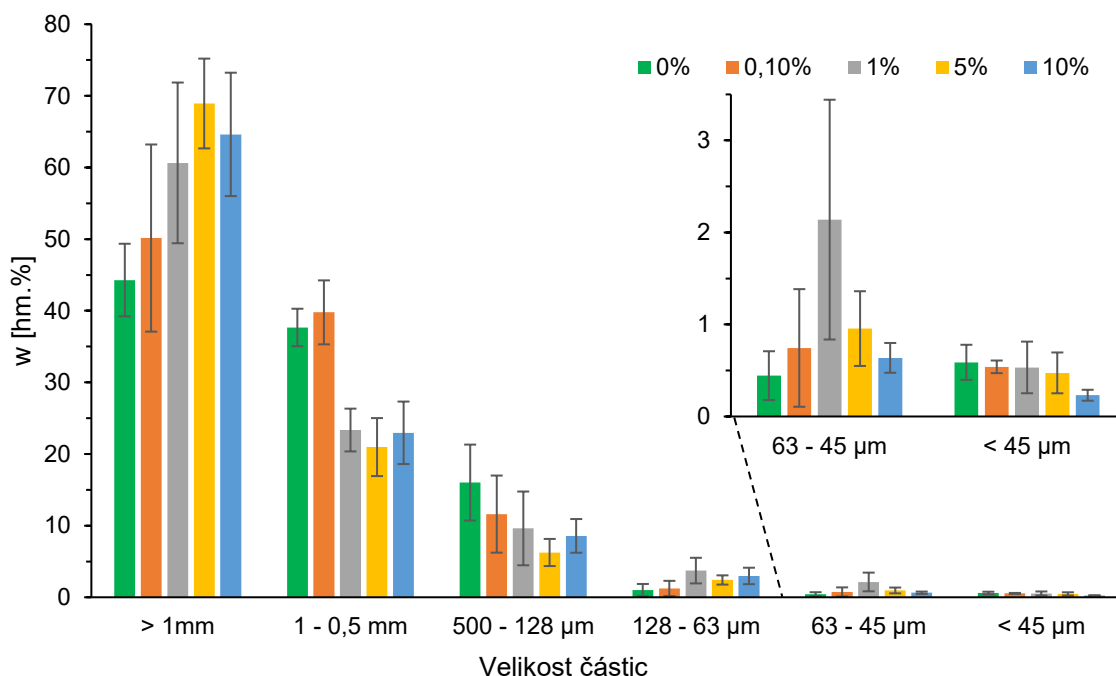
*Tabulka 6: Hodnocení distribuce částic s využitím koeficientu polydisperzity. Série bez N-hnojiva, bez rostliny.*

Koncentrace P3HB	Mn	Mw	Koeficient polydisperzity
0 hm. %	0,65	0,86	1,32
0,1 hm. %	0,64	0,87	1,35
1 hm. %	0,70	0,88	1,26
5 hm. %	0,74	0,88	1,20
10 hm. %	0,77	0,89	1,16

Korelační koeficient (viz *Příloha 1*) poukazuje na významnou lineární závislost koeficientu polydisperzity a poččetně střední molární hmotnosti na koncentraci P3HB. V případě závislosti hmotnostně středně molární hmotnosti se jedná o méně významnou korelaci dat.

## Bez N-hnojiva, s rostlinou

V sérii nehnojené půdy, na níž byla pěstována rostlina došlo k výraznému nárůstu hmotnosti ve frakci > 1 mm u vzorků s přidávkem P3HB (Obrázek 42). V této frakci je blank zastoupen v nižším hmotnostním poměru (44 %) v porovnání se sérií, kde se rostlina nenacházela a kde činila tato frakce zastoupení téměř 50 hm.%.



Obrázek 42: Distribuce částic – série bez N-hnojiva, s rostlinou.

Dále je třeba poukázat na snížení hmotnostního zastoupení ve frakci 1 – 0,5 mm u vzorků s obsahem 1 hm.%, 5 hm.% a 10 hm.%. Tabulka 7 ilustruje vliv biodegradace P3HB na distribuci částic v porovnání s blankem, z čehož lze vyvozovat odlišný průběh agregace částic vlivem přítomné rostliny v porovnání se vzorky půdy, na nichž nebyla přítomna rostlina (Tabulka 5). Statisticky významný nárůst je zobrazen zelenou barvou, statistický významný pokles barvou červenou.

Tabulka 7: Porovnání distribuce částic v jednotlivých frakcích s blankem. Série bez N-hnojiva, s rostlinou.

Koncentrace P3HB	Frakce					
	> 1 mm	1 – 0,5 mm	500 – 128 μm	128 – 63 μm	63 – 45 μm	< 45 μm
0,1 hm.%	↑	↑	↓	↑	↑	↓
1 hm.%	↑	↓	↓	↑	↑	↓
5 hm.%	↑	↓	↓	↑	↑	↓
10 hm.%	↑	↓	↓	↑	↑	↓



Tabulka 8 poukazuje na snížení koeficientu polydisperzity u všech koncentrací P3HB, z čehož vyplývá, že je zúžen rozptyl distribuce částic. Početně středně molární hmotnost i hmotnostně středně molární hmotnost narůstá se zvyšující se koncentrací P3HB.

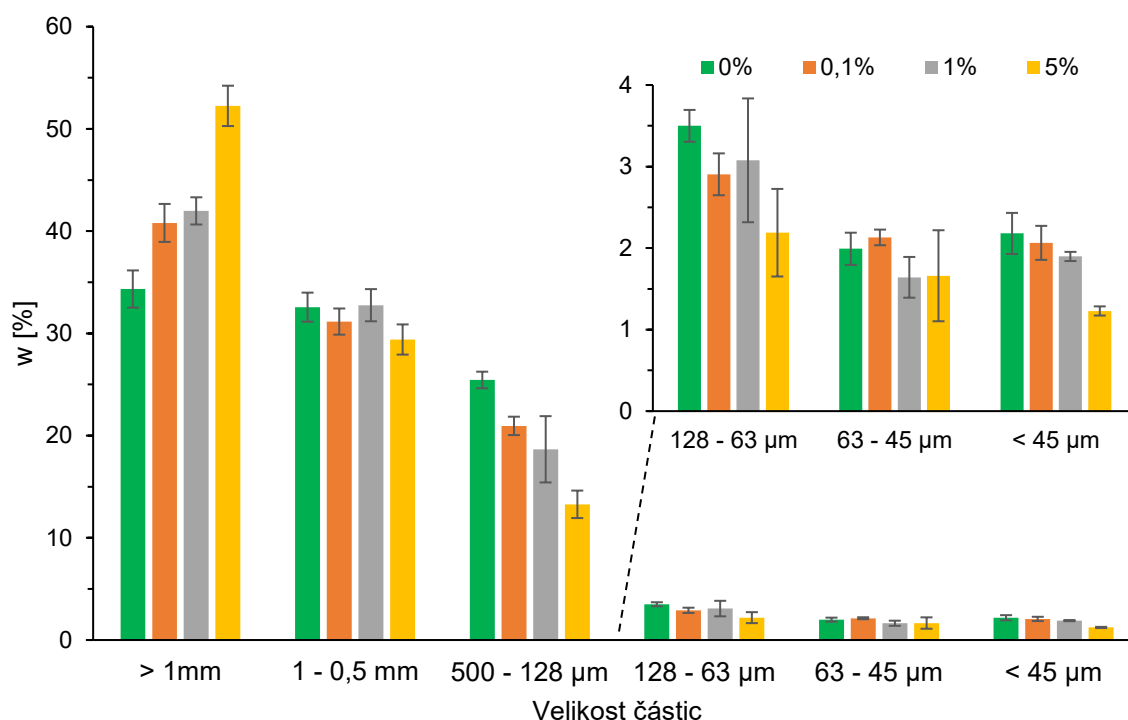
Tabulka 8: Hodnocení distribuce částic s využitím koeficientu polydisperzity. Série bez N-hnojiva, s rostlinou.

Koncentrace P3HB	Mn	Mw	Koeficient polydisperzity
0 hm. %	0,63	0,82	1,30
0,1 hm. %	0,66	0,84	1,26
1 hm. %	0,70	0,90	1,28
5 hm. %	0,81	0,92	1,15
10 hm. %	0,80	0,92	1,14

Významná korelace (viz Příloha 1) byla v této sérii potvrzena u závislosti koeficientu polydisperzity na koncentraci P3HB, ostatní parametry vykazovaly méně významnou korelační závislost.

#### S N-hnojivem, bez rostliny

Efekt zvýšeného zastoupení frakce >1 mm se zvyšující se koncentrací P3HB je patrný i za těchto podmínek. Současně dochází se zvyšujícím se obsahem P3HB ke snižování hmotnostního zastoupení ve velikostní frakci 500 – 128  $\mu\text{m}$  (Obrázek 43).



Obrázek 43: Distribuce částic – série s N-hnojivem, bez rostliny.

*Tabulka 9* ozřejmuje z jakých frakcí vznikala dominantní frakce >1 mm. K úbytku hmotnostního zastoupení došlo u všech frakcí s výjimkou frakce 1 – 0,5 mm u vzorků obsahujících 1 hm.% P3HB a frakce 63 – 45 µm u vzorků s obsahem 0,1 hm.% P3HB. Oba nárůsty spadají do intervalu směrodatné odchylky blanku, takže je nelze považovat za relevantní. Červené zvýraznění znázorňuje statisticky významný pokles a zelené zvýraznění zobrazuje statisticky významný nárůst.

*Tabulka 9: Porovnání distribuce částic v jednotlivých frakcích s blankem. Série s N-hnojivem, bez rostliny.*

Koncentrace P3HB	Frakce					
	> 1 mm	1 – 0,5 mm	500 – 128 µm	128 – 63 µm	63 – 45 µm	< 45 µm
0,1 hm.%	↑	↓	↓	↓	↑	↓
1 hm.%	↑	↑	↓	↓	↓	↓
5 hm.%	↑	↓	↓	↓	↓	↓

Zúžení šířky distribuce částic se zvyšujíc se koncentrací P3HB je patrné i za těchto podmínek, o čemž vypovídá snižující se hodnota indexu polydisperzity (*Tabulka 10*). Hodnoty hmotnostně i početně středně molární hmotnosti se zvyšují se zvyšující se koncentrací polymeru.

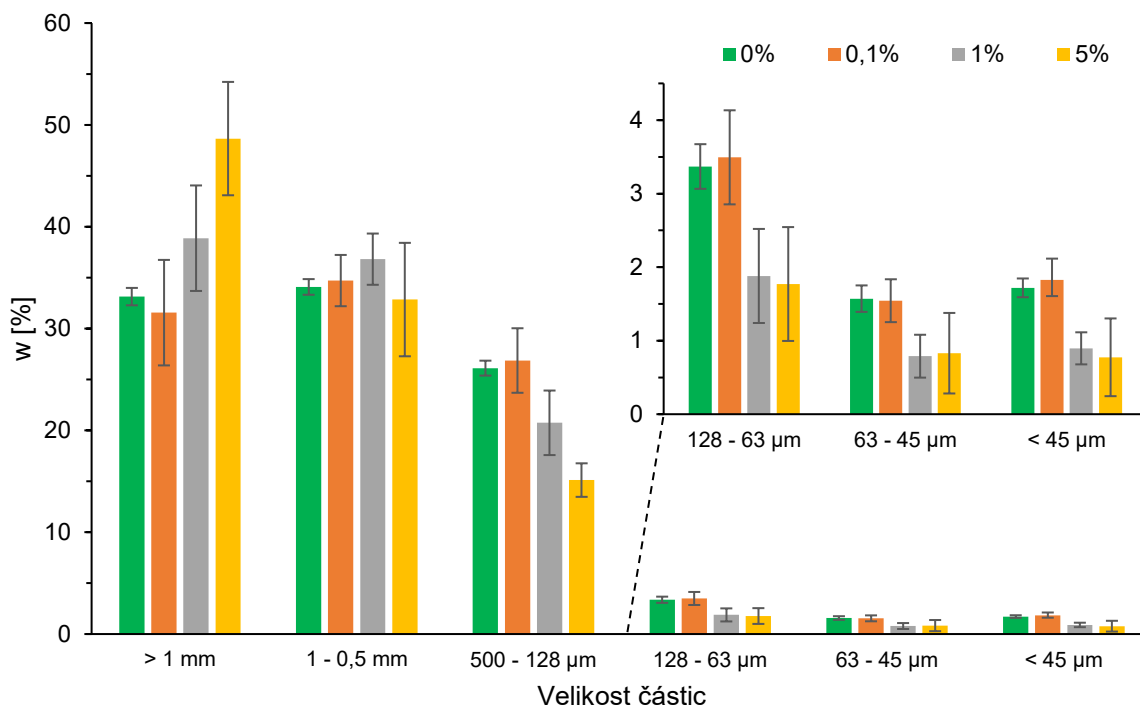
*Tabulka 10: Hodnocení distribuce částic s využitím koeficientu polydisperzity. Série s N-hnojivem, bez rostliny.*

Koncentrace P3HB	Mn	Mw	Index polydisperzity
0 hm.%	0,54	0,79	1,46
0,1 hm. %	0,59	0,82	1,39
1 hm. %	0,60	0,82	1,37
5 hm. %	0,69	0,87	1,26

Korelační koeficient (viz *Příloha 1*) poukazuje na významnou lineární závislost parametrů hodnotících distribuci částic (tj. index polydisperzity, početně střední molární hmotnost, hmotnostně střední molární hmotnost) na koncentraci P3HB.

## S N-hnojivem, s rostlinou

Sloupcový graf (Obrázek 44) poukazuje na zvýšené hmotnostní zastoupení ve frakci >1 mm u vzorků, jež obsahovaly 5 hm. % a 10 hm.% P3HB. Vzorky obsahující 0,1 hm.% tento efekt nevykazují, zjištěná data se pohybují ve všech velikostních frakcích v rámci směrodatné odchylky blanku.



Obrázek 44: Distribuce částic - série s N-hnojivem, s rostlinou.

Schématické zobrazení vlivů P3HB na velikost částic (Tabulka 11) u vzorků obsahujících 5 hm.% a 10 hm.% P3HB koresponduje se sérií půdních vzorků, jež byly taktéž hnojeny, ale nebyly osázeny (Tabulka 9). V hnojených půdách s těmito koncentracemi P3HB lze pozorovat pokles hmotnostního zastoupení ve všech frakcích, jež obsahují částice menší než 0,5 mm. Tyto částice vytvořily agregací částice větší než 1 mm. Statisticky významný pokles je zobrazen červeným zvýrazněním, nárůst zvýrazněním zeleným.

Tabulka 11: Porovnání distribuce částic v jednotlivých frakcích s blankem. Série s N-hnojivem, s rostlinou.

Koncentrace P3HB	Frakce					
	> 1 mm	1 – 0,5 mm	500 – 128 μm	128 – 63 μm	63 – 45 μm	< 45 μm
0,1 hm.%	↓	↑	↑	↑	↓	↑
1 hm.%	↑	↑	↓	↓	↓	↓
5 hm.%	↑	↓	↓	↓	↓	↓

Efekt vzniku částic o podobnější velikosti v porovnání s blankem je v tomto případě patrný u vzorků s obsahem 1 hm.% a 5 hm.% P3HB, kde došlo k poklesu hodnoty polydisperzity (*Tabulka 12*). K jejímu nárůstu došlo u série vzorků, jež obsahovala 0,1 % P3HB. Tato koncentrace tedy vykazovala opačné chování oproti vzorkům s vyšším obsahem P3HB i v případě vlivu na hodnotu hmotnostně a početně středně molární hmotnosti.

*Tabulka 12: Hodnocení distribuce částic s využitím koeficientu polydisperzity. Série s N-hnojivem, s rostlinou.*

Koncentrace P3HB	Mn	Mw	Koeficient polydisperzity
0 hm. %	0,539	0,782	1,45
0,1 hm. %	0,528	0,773	1,47
1 hm. %	0,601	0,806	1,34
5 hm. %	0,670	0,847	1,26

Významná lineární závislost výše zmíněných parametrů (Mn, Mw, koeficient polydisperzity) na koncentraci P3HB byla prokázána korelačním koeficientem (viz *Příloha 1*).

## 8 SHRUTÍ VÝSLEDKŮ

Vliv biodegradace P3HB na půdní vlastnosti je v této práci hodnocen s využitím několika parametrů. *Tabulka 13* přehledně shrnuje ovlivnění těchto parametrů v jednotlivých sériích v porovnání s blankem.

*Tabulka 13: Schématické zobrazení ovlivnění v porovnání s blankem.*

Série vzorků	Polní vodní kapacita	Množství sorbované vody		Výparná entalpie	SOM			Sítová analýza	
		celek	půda		200 – 300 °C	300 – 450 °C	450 – 550 °C	> 1mm	Koeficient polydisperzity
Bez N-hnojiva, bez rostliny	↑	↓	X	X	↑	↑	X	↑	↓
Bez N-hnojiva, s rostlinou	↑	↓	↓	↓	↑	↑	X	↑	↓
S N-hnojivem, bez rostliny	X	↓	↓	X	↑	↑	↑	↑	↓
S N-hnojivem, s rostlinou	↑	↓	↓	X	↑	↑	↑	↑	↓

Stanovení těchto parametrů umožňuje odpovědět na výzkumné otázky, které byly položeny v cíli diplomové práce:

### **Bude ovlivněna rychlost biodegradace v půdě přidavkem živin?**

Ze zjištěných množství reziduálního P3HB (*Tabulka 4*) lze konstatovat, že přidavek živin podpořil biodegradaci materiálu v porovnání s experimentem, ve kterém vzorky nebyly hnojeny. Mikroorganismy rozkládající P3HB využívají živiny z půdy pro svůj metabolismus [83; 97]. Výsledky naznačují pozitivní vliv přidavku hnojiva na rychlost biodegradace polymeru. Zároveň je třeba zmínit, že dle [4; 97] má proces biodegradace těchto materiálů přímý vliv na cyklus živin v půdě.

### **Bude mít přítomnost rostliny v systému vliv na rychlost biodegradace?**

Ve hnojených vzorcích půdy s rostlinami docházelo k menšímu úbytku P3HB v porovnání s neosazenou půdou (*Tabulka 4*). Tento jev lze vysvětlit soupeřením rostliny a mikroorganismů o živiny. V sadě vzorků, které neobsahovaly rostlinu, mohly být všechny živiny využity mikroorganismy pro svůj metabolismus, což mělo pozitivní vliv na rychlost biodegradace. U vzorků s rostlinou se o živiny dělila kukuřice s mikroorganismy. Při celistvém hodnocení je nutné zmínit i možný vliv na růst rostliny [62; 106; 107], což ale není obsahem této práce. V nehnojených sériích nedocházelo k výraznému ovlivnění rychlosti degradace v porovnání vzorků bez rostliny a s rostlinou.

### **Dojde vlivem biodegradace materiálu k ovlivnění půdní organické hmoty?**

Ovlivnění půdní organické hmoty bylo pozorováno s využitím stanovení hmotnostního úbytku v jednotlivých teplotních intervalech odpovídajících určitému typu SOM. Labilní půdní organická hmota byla pozorována v intervalu 200 – 300 °C [123], kde se zároveň projevuje tepelná degradace P3HB [31; 38]. V intervalu 300 – 450 °C se nachází tzv. aktivní organická hmota, která vzniká krátkodobou půdotvorbou. Zde lze pozorovat zároveň i degradační produkty a biomasu, jež vznikly rozkladem P3HB (*Obrázek 29, Obrázek 30*). Navýšení hodnot v těchto intervalech tedy odpovídá přídavku P3HB (*Tabulka 13*).

Pasivní půdní organickou hmotu lze detekovat v intervalu 450 – 550 °C [123]. Tento typ SOM vzniká intenzivní dlouhodobou půdotvorbou. Ke zvýšení hmotnosti v tomto intervalu došlo u sérií vzorků, které byly hnojeny a které obsahovaly vyšší množství P3HB (*Obrázek 29, Obrázek 30*). Organická hmota obsahující dusík má poměrně velkou afinitu k jílu, jež při vzájemné interakci stabilizují SOM [135]. V případě nehnojených sérií nedošlo ke zvýšené tvorbě pasivní SOM (*Tabulka 13*), což lze vysvětlit menším množstvím živin, což znemožnilo průběh procesu až do této vzniku stabilní pasivní organické hmoty.

### **Lze pozorovat změnu textury půdy?**

Textura půdy byla ovlivněna biodegradací P3HB. Ve všech sériích lze pozorovat zvyšující se zastoupení frakce větší než 1 mm se zvyšující se koncentrací polyhydroxyalkanoátu (*Obrázek 41, Obrázek 42, Obrázek 43, Obrázek 44*). Použitý polyhydroxyalkanoát obsahoval přibližně 55 hm.% částic, které byly menší než 63 µm, zbylých cca 45 hm.% bylo větších. Lze uvažovat rychlejší biodegradaci částic, které jsou menších rozměrů, protože mají větší měrný povrch, který je v kontaktu s půdou. Reziduální P3HB proto pravděpodobně obsahuje hlavně částice větších rozměrů.

Snižující se koeficient polydisperzity se vzrůstající koncentrací P3HB poukazuje na užší distribuci půdních částic. Půda s obsahem P3HB po provedení biodegradačního experimentu obsahovala částice, které měly shodnější velikost, než v případě nekontaminované půdy (*Tabulka 13*). Zvýšené zastoupení ve frakci větší než 1 mm poukazuje na to, že ke vzniku stejně velkých částic docházelo agregací menších půdních částic, nikoliv rozkladem půdy.

U sérií půdních vzorků, na nichž rostla kukuřice, je nutné uvažovat vliv kořenových exudátů, které obecně zvyšují agregaci půdy ve svém okolí [50; 136]. V sérii s rostlinou a bez dusíkatého hnojiva byl, dle diskuze s pracovníky z Mendelovy univerzity, v přítomnosti P3HB potlačen růst rostliny, z čehož lze uvažovat, že kořenový systém pravděpodobně neovlivnil půdní agregaci.

Dle [4] se na povrchu rozkládaného P3HB vytváří místa s nedostatkem dusíku, ve kterých dochází k přemnožení některých mikroorganismů. Tyto mikroorganismy mohou růst díky odčerpání dusíku z okolí degradovaného mikrobioplastu. Přemnožené organismy a jimi vytvořené biofilmy fungují jako pojivo mezi jednotlivými půdními zrny, což způsobuje zvýšenou agregaci půdních částic. Tento agregační mechanismus je předpokládán u sérií vzorků bez rostliny.

V hnojené sérii s rostlinou se mohly uplatňovat oba mechanismy – tj. agregace půdních částic mohla být zvýšena nejen přemnožením mikroorganismů na povrchu P3HB, ale i vlivem kořenových exudátů. Zároveň je vhodné zmínit, že agregace je dle [137] proces, při kterém dochází k neustálému slepování a rozpadání agregátů. Jedná se o dynamicky probíhající proces, při němž mohou být molekuly půdní organické hmoty střídavě vně i uvnitř agregátů a tím pádem na ně mohou působit rozdílné vlivy, tj. mikroorganismy i kořenové exudáty.

### **Ovlivní biodegradace polyhydroxyalkanoátů vodní režim v půdě?**

Podle získaných výsledků je vodní režim v půdě biodegradací materiálu ovlivněn. K poklesu hodnoty výparné entalpie došlo u série vzorků s rostlinou, jež nebyla hnojena (*Obrázek 33*). U této série došlo zároveň k poklesu množství vody v půdě (*Obrázek 35*). Tento efekt poukazuje na riziko snazšího výparu vody z půdy, jež byl již sledován ve vztahu k půdní organické hmotě [90]. Dle získaných výsledků dostatek živin potlačí snazší výpar vody z půdy.

Již v [90] bylo pozorováno snížení množství sorbované vody vlivem přítomnosti P3HB, v této práci byl tento efekt potvrzen u všech sérií (*Tabulka 13*). Po přepočtu množství sorbované na půdu lze stanovit vliv procesu biodegradace na množství vody v půdě. Výsledky poukazují na snížení této hodnoty vlivem biodegradace u hnojených sérií a u nehnojené série s rostlinou. Snížení množství vody v půdě v důsledku biodegradace P3HB bylo pozorováno též v práci [110].

V systému byl zároveň pozorován nárůst hodnoty polní vodní kapacity v porovnání s blankem u nehnojených sérií vzorků a u série hnojené a osazené rostlinou. Polní vodní kapacita popisuje, jaké množství vody půda zadrží proti působení gravitace. Dle získaných výsledků došlo k nárůstu této hodnoty, jež je závislá na objemu pórů a jejich distribuci, dále může být ovlivněna také obsahem půdní organické hmoty a na strukturou půdy [126; 127]. Dle velikostní distribuce částic dochází k agregaci půdy, v jejímž důsledku vznikají buď větší póry nebo je jich větší počet, takže zadrží více vody. Z tohoto důvodu hodnota polní vodní kapacity narůstá se zvyšující se koncentrací P3HB.

## ZÁVĚR

Vlivem biodegradabilních plastů na jednotlivé složky životního prostředí se zabývá celá řada studií, ale prozatím je známo málo informací o jejich vlivu na půdu. Cílem této práce bylo zjistit, zda a jakým způsobem ovlivňuje biodegradace polyhydroxyalkanoátů půdní vlastnosti. Poznatky získané touto prací by mohly napomoci k ozřejmění vlivu biodegradabilních plastů na abiotickou část půdy.

V této práci byla sledována půda po provedení květináčových experimentů za čtyřech různých podmínek:

- bez hnojiva, bez rostliny
- bez hnojiva, s rostlinou
- s hnojivem, bez rostliny
- s hnojivem, s rostlinou.

Bylo prokázáno, že má přítomnost živin (hlavně dusíku) vliv na rychlost biodegradace polyhydroxyalkanoátu. Zároveň přidavek živin potlačil negativní efekt na vodní režim v půdě, který byl pozorován u série vzorků, jež nebyla hnojena a byla osázena. Zde došlo k poklesu hodnoty výparné entalpie, což poukazuje na snazší odpar vody. Zároveň tento systém obsahoval menší množství vody, což v kombinaci se snazší výparem může vést k vysychání půdy. Negativní vliv přítomnosti mikroplastů na množství sorbované vody v půdě byl pozorován u všech sérií, zároveň byl u hnojených vzorků pozorován i vliv biodegradace na tento parametr.

Dále práce odhalila ovlivnění hodnoty polní vodní kapacity, kdy se zvyšující se koncentrací P3HB dochází k nárůstu této hodnoty. Což je způsobeno ovlivněním textury půdy, kdy docházelo ke zvyšující se agregaci půd se vzrůstající koncentrací biodegradabilního plastu. Se vznikem agregátů došlo k nárůstu velikosti nebo množství půdních pórů, které zadrželi větší množství vody.

Získané výsledky poukazují na možná rizika využívání P3HB v zemědělství jako mulčovací folie či nosiče agrochemikálií, kdy je tento materiál ponechán v půdě k přirozené biodegradaci. Je nutné zmínit, že biodegradační nádobový experiment sice napodoboval reálné podmínky, ale jednalo se o experiment laboratorní. Bylo zde například zajištěno pravidelné zalévání, a tím byl zajištěn dostatek vody v systému, což nejsou podmínky, které lze zajistit v životním prostředí.

V této práci byl pozorován vliv pouze na abiotické vlastnosti půdy. K celistvému hodnocení rizikovosti biodegradabilních plastů je nutné zhodnotit vliv na všechny části ekosystému.



## SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] VROMAN, Isabelle a Lan TIGHZERT. Biodegradable Polymers. *Materials* [online]. 2009, **2**(2), 307-344 [cit. 2022-03-11]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma2020307
- [2] TOUCHALEAUME, François, Lluís MARTIN-CLOSAS, Hélène ANGELLIER-COUSSY, Anne CHEVILLARD, Guy CESAR, Nathalie GONTARD a Emmanuelle GASTALDI. Performance and environmental impact of biodegradable polymers as agricultural mulching films. *Chemosphere* [online]. 2016, **144**, 433-439 [cit. 2022-03-11]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2015.09.006
- [3] FOJT, Jakub, Jan DAVID, Radek PŘIKRYL, Veronika ŘEZÁČOVÁ a Jiří KUČERÍK. A critical review of the overlooked challenge of determining micro-bioplastics in soil. *Science of The Total Environment* [online]. 2020, **745** [cit. 2021-10-27]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2020.140975
- [4] ZHOU, Jie, Heng GUI, Callum BANFIELD, Yuan WEN, Huadong ZANG, Michaela DIPPOLD, Adam CHARLTON a Davey JONES. The microplastisphere: Biodegradable microplastics addition alters soil microbial community structure and function. *Soil Biology and Biochemistry* [online]. 2021, **156** [cit. 2021-10-27]. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2021.108211
- [5] PANSERI, S., P.A. MARTINO, P. CAGNARDI, G. CELANO, D. TEDESCO, M. CASTRICA, C. BALZARETTI a L.M. CHIESA. Feasibility of biodegradable based packaging used for red meat storage during shelf-life: A pilot study. *Food Chemistry* [online]. 2018, **249**, 22-29 [cit. 2021-10-04]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2017.12.067
- [6] BĚHÁLEK, Luboš. *Polymery* [online]. 2016 [cit. 2019-10-12]. ISBN 978-80-88058-68-7. Dostupné z: <https://publi.cz/books/180/Cover.html>
- [7] DUCHÁČEK, Vratislav. *Polymery: výroba, vlastnosti, zpracování, použití*. Vyd. 2., přeprac. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2006. ISBN 80-708-0617-6.
- [8] DE SOUZA MACHADO, Anderson, Werner KLOAS, Christiane ZARFL, Stefan HEMPEL a Matthias RILLIG. Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems. *Global Change Biology* [online]. 2018, **24**(4), 1405-1416. ISSN 13541013. Dostupné z: doi:10.1111/gcb.14020
- [9] IWATA, Tadahisa. Biodegradable and Bio-Based Polymers: Future Prospects of Eco-Friendly Plastics. *Angewandte Chemie International Edition* [online]. 2015, **54**(11), 3210-3215 [cit. 2021-10-04]. ISSN 14337851. Dostupné z: doi:10.1002/anie.201410770
- [10] LACKNER, Maximilian. Bioplastics. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* [online]. 2015, 1-41 [cit. 2021-10-04].
- [11] Bioplastics: What are bioplastics?. In: *European Bioplastics* [online]. [cit. 2020-02-04]. Dostupné z: <https://www.european-bioplastics.org/bioplastics/>

- [12] FLURY, Markus a Ramani NARAYAN. Biodegradable plastic as an integral part of the solution to plastic waste pollution of the environment. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry* [online]. 2021, **30** [cit. 2021-10-04]. ISSN 24522236. Dostupné z: doi:10.1016/j.cogsc.2021.100490
- [13] SINTIM, Henry a Markus FLURY. *Is Biodegradable Plastic Mulch the Solution to Agriculture's Plastic Problem?* [online]. 2017, **51**(3), 1068-1069 [cit. 2021-10-04]. ISSN 0013-936X. Dostupné z: doi:10.1021/acs.est.6b06042
- [14] STEINMETZ, Zacharias, Claudia WOLLMANN, Miriam SCHAEFER et al. Plastic mulching in agriculture. Trading short-term agronomic benefits for long-term soil degradation?. *Science of The Total Environment* [online]. 2016, **550**, 690-705 [cit. 2022-04-07]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2016.01.153
- [15] ABDELMOEZ, Wael, Islam DAHAB, Esraa RAGAB, Omnia ABDELSALAM a Ahmad MUSTAFA. Bio- and oxo-degradable plastics: Insights on facts and challenges. *Polymers for Advanced Technologies* [online]. 2021, **32**(5), 1981-1996 [cit. 2021-10-11]. ISSN 1042-7147. Dostupné z: doi:10.1002/pat.5253
- [16] SMITH, Ray. *Biodegradable polymers for industrial applications: Oxo-biodegradable polyolefins*. Ilustrované vydání. CRC Press, 2005, 532 s. ISBN 0849334667.
- [17] ČSN EN ISO 14855-1. *Stanovení úplné aerobní biodegradability za řízených podmínek kompostování: Metoda stanovení uvolněného oxidu uhličitého*. 2013.
- [18] ČSN EN 13432. *Obaly - Požadavky na obaly využitelné ke kompostování a biodegradaci - Zkušební schéma a kritéria hodnocení pro konečné přijetí obalu*. 2001.
- [19] *REPORT FROM THE COMMISSION TO THE EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL on the impact of the use of oxo-degradable plastic, including oxo-degradable plastic carrier bags, on the environment*. Brusel: European commission, 2018.
- [20] EUNOMIA, a EUROPEAN COMMISSION. The impact of the use of "oxo-degradable" plastic on the environment. *European Union* [online]. 2016 [cit. 2021-10-12]. ISBN: 978-92-79-61828-4. Dostupné z: doi:10.2779/992559
- [21] REDDY, C.S.K, R GHAI, RASHMI a V.C KALIA. Polyhydroxyalkanoates: an overview. *Bioresource Technology* [online]. 2003, **87**(2), 137-146 [cit. 2021-10-04]. ISSN 09608524. Dostupné z: doi:10.1016/S0960-8524(02)00212-2
- [22] KOLLER, Martin, Anna SALERNO a Gerhart BRAUNEGG. Polyhydroxyalkanoates: Basics, Production and Applications of Microbial Biopolyesters. KABASCI, Stephan, ed., Stephan KABASCI. *Bio-Based Plastics* [online]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 2013, s. 137-170 [cit. 2021-10-05]. ISBN 9781118676646. Dostupné z: doi:10.1002/9781118676646.ch7
- [23] LU, Jingnan, Ryan TAPPEL a Christopher NOMURA. Biosynthesis of Poly(hydroxyalkanoates). *Polymer Reviews* [online]. 2009, **49**(3), 226-248 [cit. 2021-10-05]. ISSN 1558-3724. Dostupné z: doi:10.1080/15583720903048243

- [24] STEINBÜCHEL, Alexander a Tina LÜTKE-EVERSLOH. Metabolic engineering and pathway construction for biotechnological production of relevant polyhydroxyalkanoates in microorganisms. *Biochemical Engineering Journal* [online]. 2003, **16**(2), 81-96 [cit. 2021-10-05]. ISSN 1369703X. Dostupné z: doi:10.1016/S1369-703X(03)00036-6
- [25] MOŻEJKO-CIESIELSKA, Justyna a Robert KIEWISZ. Bacterial polyhydroxyalkanoates: Still fabulous?. *Microbiological Research* [online]. 2016, **192**, 271-282 [cit. 2021-10-04]. ISSN 09445013. Dostupné z: doi:10.1016/j.micres.2016.07.010
- [26] NASER, Ahmed, I. DEIAB a Basil DARRAS. Poly(lactic acid) (PLA) and polyhydroxyalkanoates (PHAs), green alternatives to petroleum-based plastics: a review. *RSC Advances* [online]. 2021, **11**(28), 17151-17196 [cit. 2021-10-05]. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/D1RA02390J
- [27] KOLLER, Martin, Rodolfo BONA, Gerhart BRAUNEGG et al. Production of Polyhydroxyalkanoates from Agricultural Waste and Surplus Materials. *Biomacromolecules* [online]. 2005, **6**(2), 561-565 [cit. 2021-10-05]. ISSN 1525-7797. Dostupné z: doi:10.1021/bm049478b
- [28] TANIGUCHI, Ikuo, Kumi KAGOTANI a Yoshiharu KIMURA. Microbial production of poly(hydroxyalkanoate)s from waste edible oils. *Green Chem* [online]. 2003, **5**(5), 545-548 [cit. 2021-10-05]. ISSN 1463-9262. Dostupné z: doi:10.1039/B304800B
- [29] A., Ishizaki, Tanaka K. a Taga N. Microbial production of poly- D- 3-hydroxybutyrate from CO<sub>2</sub>. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 2001, **57**(1-2), 6-12 [cit. 2022-04-07]. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s002530100775
- [30] PÉREZ, Rebeca, Jesús CASAL, Raúl MUÑOZ a Raquel LEBRERO. Polyhydroxyalkanoates production from methane emissions in Sphagnum mosses: Assessing the effect of temperature and phosphorus limitation. *Science of The Total Environment* [online]. 2019, **688**, 684-690 [cit. 2021-10-05]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2019.06.296
- [31] DOS SANTOS, Antonio, Luiz OLIVEIRA DALLA VALENTINA, Andrey HIDALGO SCHULZ a Márcia TOMAZ DUARTE. From Obtaining to Degradation of PHB: Material Properties. Part I. *Ingeniería y Ciencia* [online]. 2017, **13**(26), 269-298 [cit. 2021-10-18]. ISSN 17949165. Dostupné z: doi:10.17230/ingciencia.13.26.10
- [32] DAWES, E.A. Polyhydroxybutyrate: An intriguing biopolymer. *Bioscience Reports* [online]. **1988**, 537-547 [cit. 2021-10-13]. Dostupné z: doi:10.1007/bf01117332
- [33] Poly-(R)-3-hydroxybutyrat.svg. In: *Wikipedie* [online]. [cit. 2021-10-13]. Dostupné z: [https://cs.m.wikipedia.org/wiki/Soubor:Poly-\(R\)-3-hydroxybutyrat.svg](https://cs.m.wikipedia.org/wiki/Soubor:Poly-(R)-3-hydroxybutyrat.svg)
- [34] DOBROGOJSKI, Jędrzej, Maciej SPYCHALSKI, Robert LUCIŃSKI a Sławomir BOREK. Transgenic plants as a source of polyhydroxyalkanoates. *Acta Physiologiae Plantarum* [online]. 2018, **40**(9) [cit. 2021-10-13]. ISSN 0137-5881. Dostupné z: doi:10.1007/s11738-018-2742-4

- [35] HUDA, S.M.S. Anaerobic digestion of polyhydroxybutyrate accumulated in excess activated sludge. *Journal of Water and Environment Technology* [online]. 2013, 429-438 [cit. 2021-10-18].
- [36] YOKOUCHI, M, Y CHATANI, H TADOKORO, K TERANISHI a H TANI. Structural studies of polyesters: 5. Molecular and crystal structures of optically active and racemic poly ( $\beta$ -hydroxybutyrate). *Polymer* [online]. 1973, **14**(6), 267-272 [cit. 2021-10-18]. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/0032-3861(73)90087-6
- [37] AOYAGI, Yoshihiro, Koichi YAMASHITA a Yoshiharu DOI. Thermal degradation of poly[(R)-3-hydroxybutyrate], poly[ $\epsilon$ -caprolactone], and poly[(S)-lactide]. *Polymer Degradation and Stability* [online]. 2002, **76**(1), 53-59 [cit. 2021-10-18]. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/S0141-3910(01)00265-8
- [38] MOUSAVIOUN, Payam, Graeme GEORGE a William DOHERTY. Environmental degradation of lignin/poly(hydroxybutyrate) blends. *Polymer Degradation and Stability* [online]. 2012, **97**(7), 1114-1122 [cit. 2021-10-18]. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymdegradstab.2012.04.004
- [39] MCADAM, Blaithín, Margaret BRENNAN FOURNET, Paul MCDONALD a Marija MOJICEVIC. Production of Polyhydroxybutyrate (PHB) and Factors Impacting Its Chemical and Mechanical Characteristics. *Polymers* [online]. 2020, **12**(12) [cit. 2021-10-13]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym12122908
- [40] KOLLER, Martin a Anindya MUKHERJEE. A New Wave of Industrialization of PHA Biopolyesters. *Bioengineering* [online]. 2022, **9**(2) [cit. 2022-03-16]. ISSN 2306-5354. Dostupné z: doi:10.3390/bioengineering9020074
- [41] CHING YEE, Loo a Sudesh KUMAR. Polyhydroxyalkanoates: Bio-based microbial plastics and their properties. *Malaysian Polymer Journal (MPJ)* [online]. 31-57 [cit. 2022-03-16].
- [42] VASILE, Cornelia a G. ZAIKOV. *Environmentally degradable materials based on multicomponent polymeric systems*. Boston: Brill, 2009. ISBN 9004164103.
- [43] PHBV polymer structure - picture. In: *Wikipedia* [online]. [cit. 2022-03-16]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/PHBV#/media/File:PHBVpolymerstructure.svg>
- [44] Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) - picture. In: *Krackeler* [online]. [cit. 2022-03-16]. Dostupné z: <https://www.krackeler.com/catalog/sigma/ALDRICH/915890>
- [45] UTSUNOMIA, Camila, Qun REN a Manfred ZINN. Poly(4-Hydroxybutyrate): Current State and Perspectives. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* [online]. 2020, **8** [cit. 2022-03-16]. ISSN 2296-4185. Dostupné z: doi:10.3389/fbioe.2020.00257
- [46] Poly-4-hydroxybutyrat - picture. In: *Wikipedia* [online]. [cit. 2022-03-16]. Dostupné z: <https://en.m.wikipedia.org/wiki/File:Poly-4-hydroxybutyrat.svg>
- [47] WELBOURNE, Dustin. Soil and Environment. *Lupine Publishers* [online]. [cit. 2021-11-01]. ISSN 2641-6794. Dostupné z: doi:10.32474/OAJESS.2019.03.000161

- [48] ŠANTRŮČKOVÁ, Hana. *Základy ekologie půdy*. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. České Budějovice, 2014. ISBN 978-80-7394-480-3.
- [49] Soil functions. In: *Food and Agriculture organization of the United Nations* [online]. [cit. 2021-11-01]. Dostupné z: <http://www.fao.org/resources/infographics/infographics-details/en/c/284478/>
- [50] WEIL, Raymond a Nyle BRADY. *The Nature and Properties of soil*. 15th edition. Pearson Educated Limited, 2016. ISBN 978-1-292-16223-2.
- [51] MCCAULEY, Ann a Clain JONES. Basic Soil Properties. *Soil and Water: Management module I* [online]. Montana State University [cit. 2021-11-01].
- [52] KIRKBY, C.A., J.A. KIRKEGAARD, A.E. RICHARDSON, L.J. WADE, C. BLANCHARD a G. BATTEN. Stable soil organic matter: A comparison of *C. Geoderma* [online]. 2011, **163**(3-4), 197-208 [cit. 2022-03-15]. ISSN 00167061. Dostupné z: doi:10.1016/j.geoderma.2011.04.010
- [53] WANDER, M. *Soil Organic Matter Fractions and Their Relevance to Soil Function* [online]. In: . CRC Press LLC [cit. 2022-03-15]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/profile/Michelle-Wander/publication/242450025\\_3\\_Soil\\_Organic\\_Matter\\_Fractions\\_and\\_Their\\_Relevance\\_to\\_Soil\\_Function/links/5626bca608aeabddac935ff6/3-Soil-Organic-Matter-Fractions-and-Their-Relevance-to-Soil-Function.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Michelle-Wander/publication/242450025_3_Soil_Organic_Matter_Fractions_and_Their_Relevance_to_Soil_Function/links/5626bca608aeabddac935ff6/3-Soil-Organic-Matter-Fractions-and-Their-Relevance-to-Soil-Function.pdf)
- [54] Vlastnosti půdy: Klasifikace půd podle textury. In: *Český hydrometeorologický ústav* [online]. The COMET Program [cit. 2021-11-01]. Dostupné z: [https://www.chmi.cz/files/portal/docs/poboc/CB/runoff\\_cz/navmenu.php\\_tab\\_1\\_page\\_4.1.0.htm](https://www.chmi.cz/files/portal/docs/poboc/CB/runoff_cz/navmenu.php_tab_1_page_4.1.0.htm)
- [55] RAI, R.K. a V.P. SINGH. Soil Analysis. *Planning and Evaluation of Irrigation Projects* [online]. 2017, 505-523 [cit. 2021-11-01]. Dostupné z: doi:10.1016/b978-0-12-811748-4.00017-0
- [56] RAKSHIT, Amitava, Subhadip GHOSH, Somsubhra CHAKRABORTY, Varughese PHILIP a Avishek DATTA, ed. *Soil Analysis: Recent Trends and Applications* [online]. Singapore: Springer Singapore, 2020 [cit. 2021-11-01]. ISBN 978-981-15-2038-9. Dostupné z: doi:10.1007/978-981-15-2039-6
- [57] SCHAUMANN, Gabriele, Daniela GILDEMEISTER, Yamuna KUNHI MOUVENCHERY, Sandra SPIELVOGEL a Dörte DIEHL. Interactions between cations and water molecule bridges in soil organic matter. *Journal of Soils and Sediments* [online]. 2013, **13**(9), 1579-1588 [cit. 2022-04-06]. ISSN 1439-0108. Dostupné z: doi:10.1007/s11368-013-0746-7
- [58] FIEDLER, Sabine, Michael VEPRASKAS a J.L. RICHARDSON. *Soil Redox Potential: Importance, Field Measurements, and Observations* [online]. Elsevier, 2007, s. 1-54 [cit. 2022-04-07]. Advances in Agronomy. ISBN 9780123741073. Dostupné z: doi:10.1016/S0065-2113(06)94001-2

- [59] The Carbon Cycle in Agriculture. In: *BlackBoardWhiteBoard* [online]. [cit. 2021-11-18]. Dostupné z: <https://blackboardwhiteboard.wordpress.com/teaching-resources/climate-change-unit/15-the-carbon-cycle/>
- [60] Understanding the Carbon Cycle and Soil Health. In: *HMI* [online]. [cit. 2021-11-18]. Dostupné z: <https://holisticmanagement.org/blog/understanding-the-carbon-cycle-and-soil-health/>
- [61] GÓMEZ, Eddie a Frederick MICHEL. Biodegradability of conventional and bio-based plastics and natural fiber composites during composting, anaerobic digestion and long-term soil incubation. *Polymer Degradation and Stability* [online]. 2013, **98**(12), 2583-2591 [cit. 2021-10-18]. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymdegradstab.2013.09.018
- [62] QIN, Meng, Changya CHEN, Biao SONG, Maocai SHEN, Weicheng CAO, Hailan YANG, Guangming ZENG a Jilai GONG. A review of biodegradable plastics to biodegradable microplastics: Another ecological threat to soil environments?. *Journal of Cleaner Production* [online]. 2021, **312** [cit. 2021-10-26]. ISSN 09596526. Dostupné z: doi:10.1016/j.jclepro.2021.127816
- [63] TOKIWA, Yutaka, Buenaventurada CALABIA, Charles UGWU a Seiichi AIBA. Biodegradability of Plastics. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2009, **10**(9), 3722-3742 [cit. 2021-10-04]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms10093722
- [64] MATAVULJ, Milan a Hans MOLITORIS. *Biodegradation of polyhydroxyalkanoate-based plastic (BIOPOL) under different environmental conditions* [online]. Bresinsky-Festschrift: Hoppea, Denkschr. Regensb. Bot. Ges. 61, 2000, s. 735-749 [cit. 2021-10-18].
- [65] LUCAS, Nathalie, Christophe BIENAIME, Christian BELLOY, Michèle QUENEUDEC, Françoise SILVESTRE a José-Edmundo NAVA-SAUCEDO. Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques – A review. *Chemosphere* [online]. 2008, **73**(4), 429-442 [cit. 2021-10-18]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2008.06.064
- [66] ALSHEHREI, Fatimah. Biodegradation of Synthetic and Natural Plastic by Microorganisms. *Journal of Applied & Environmental Microbiology* [online]. Science and Education Publishing, 2017, (51), 8-19 [cit. 2021-10-18]. Dostupné z: doi:10.12691/jaem-5-1-2
- [67] NUMATA, Keiji, Hideki ABE a Yoshiharu DOI. Enzymatic processes for biodegradation of poly(hydroxyalkanoate)s crystals. *Canadian Journal of Chemistry* [online]. 2008, **86**(6), 471-483 [cit. 2021-10-19]. ISSN 0008-4042. Dostupné z: doi:10.1139/v08-004
- [68] WARSCHEID, Th. a J. BRAAMS. Biodeterioration of stone: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation* [online]. 2000, **46**(4), 343-368 [cit. 2021-10-18]. ISSN 09648305. Dostupné z: doi:10.1016/S0964-8305(00)00109-8

- [69] ROOHI, , Mohd ZAHEER a Mohammed KUDDUS. PHB (poly- $\beta$ -hydroxybutyrate) and its enzymatic degradation. *Polymers for Advanced Technologies* [online]. 2018, **29**(1), 30-40 [cit. 2021-10-19]. ISSN 10427147. Dostupné z: doi:10.1002/pat.4126
- [70] NAKAMURA, Hiroshi, Takashi NAKAMURA, Toru NOGUCHI a Kichiro IMAGAWA. Photodegradation of PEEK sheets under tensile stress. *Polymer Degradation and Stability* [online]. 2006, **91**(4), 740-746 [cit. 2021-10-19]. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymdegradstab.2005.06.003
- [71] BRIASSOULIS, Demetres. The effects of tensile stress and the agrochemical Vapam on the ageing of low density polyethylene (LDPE) agricultural films. Part I. Mechanical behaviour. *Polymer Degradation and Stability* [online]. 2005, **88**(3), 489-503 [cit. 2021-10-19]. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymdegradstab.2004.11.021
- [72] LAMBERT, Scott a Martin WAGNER. Formation of microscopic particles during the degradation of different polymers. *Chemosphere* [online]. (161), 510-517 [cit. 2021-10-19]. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2016.07.042.
- [73] HARTMANN, Nanna, Thorsten HÜFFER, Richard THOMPSON et al. *Are We Speaking the Same Language? Recommendations for a Definition and Categorization Framework for Plastic Debris* [online]. 2018, **53**(3), 1039-1047 [cit. 2021-10-19]. ISSN 0013-936X. Dostupné z: doi:10.1021/acs.est.8b05297
- [74] BROWNE, Mark, Phillip CRUMP, Stewart NIVEN, Emma TEUTEN, Andrew TONKIN, Tamara GALLOWAY a Richard THOMPSON. *Accumulation of Microplastic on Shorelines Worldwide: Sources and Sinks* [online]. 2011, **45**(21), 9175-9179 [cit. 2021-10-14]. ISSN 0013-936X. Dostupné z: doi:10.1021/es201811s
- [75] DA COSTA, João. Nanoplastics in the Environment. *Plastics and the Environment* [online]. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2018, 82-105 [cit. 2021-10-19]. Issues in Environmental Science and Technology. ISBN 978-1-78801-241-6. Dostupné z: doi:10.1039/9781788013314-00082
- [76] WU, Panfeng, Jinsheng HUANG, Yuling ZHENG et al. Environmental occurrences, fate, and impacts of microplastics. *Ecotoxicology and Environmental Safety* [online]. 2019, **184** [cit. 2021-10-19]. ISSN 01476513. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109612
- [77] HE, Defu, Yongming LUO, Shibo LU, Mengting LIU, Yang SONG a Lili LEI. Microplastics in soils: Analytical methods, pollution characteristics and ecological risks. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2018, **109**, 163-172 [cit. 2021-10-19]. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2018.10.006
- [78] DUIS, Karen a Anja COORS. Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. *Environmental Sciences Europe* [online]. 2016, **28**(1) [cit. 2021-10-19]. ISSN 2190-4707. Dostupné z: doi:10.1186/s12302-015-0069-y

- [79] WANG, Jiao, Xianhua LIU, Yang LI, Trevor POWELL, Xin WANG, Guangyi WANG a Pingping ZHANG. Microplastics as contaminants in the soil environment: A mini-review. *Science of The Total Environment* [online]. 2019, **691**, 848-857 [cit. 2021-10-19]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2019.07.209
- [80] ZHU, Fengxiao, Changyin ZHU, Chao WANG a Cheng GU. Occurrence and Ecological Impacts of Microplastics in Soil Systems: A Review. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* [online]. 2019, **102**(6), 741-749 [cit. 2021-10-25]. ISSN 0007-4861. Dostupné z: doi:10.1007/s00128-019-02623-z
- [81] VOLOVA, Tatiana, Svetlana PRUDNIKOVA a Anatoly BOYANDIN. Biodegradable poly-3-hydroxybutyrate as a fertiliser carrier. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online]. 2016, **96**(12), 4183-4193 [cit. 2021-10-22]. ISSN 00225142. Dostupné z: doi:10.1002/jsfa.7621
- [82] AQUINO, Adelia, Daniel TUNEGA, Hasan PAŠALIĆ, Gabriele SCHAUMANN, Georg HABERHAUER, Martin GERZABEK a Hans LISCHKA. Study of solvent effect on the stability of water bridge-linked carboxyl groups in humic acid models. *Geoderma* [online]. 2011, **169**, 20-26. ISSN 00167061. Dostupné z: doi:10.1016/j.geoderma.2010.12.006
- [83] LIWARSKA-BIZUKOJC, Ewa. Effect of (bio)plastics on soil environment: A review. *Science of The Total Environment* [online]. 2021, **795** [cit. 2021-10-26]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2021.148889
- [84] BERGMANN, Joana, Erik VERBRUGGEN, Johannes HEINZE, Dan XIANG, Baodong CHEN, Jasmin JOSHI a Matthias RILLIG. The interplay between soil structure, roots, and microbiota as a determinant of plant-soil feedback. *Ecology and Evolution* [online]. 2016, **6**(21), 7633-7644 [cit. 2021-10-22]. ISSN 20457758. Dostupné z: doi:10.1002/ece3.2456
- [85] ALI, Muhammad, Siyi LIN, Balal YOUSAF et al. Environmental emission, fate and transformation of microplastics in biotic and abiotic compartments: Global status, recent advances and future perspectives. *Science of The Total Environment* [online]. 2021, **791** [cit. 2021-10-25]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2021.148422
- [86] DE SOUZA MACHADO, Anderson, Chung LAU, Jennifer TILL, Werner KLOAS, Anika LEHMANN, Roland BECKER a Matthias RILLIG. Impacts of Microplastics on the Soil Biophysical Environment. *Environmental Science & Technology* [online]. 2018, **52**(17), 9656-9665 [cit. 2021-10-25]. ISSN 0013-936X. Dostupné z: doi:10.1021/acs.est.8b02212
- [87] DE SOUZA MACHADO, A.A., C.W. LAU, W. KLOAS, J. BERGMANN, J.B. BACHELIER, E. FALTIN a M.C. RILLING. Microplastics can change soil properties and affect plant performance. *Environmental Science & Technology* [online]. 2019 [cit. 2021-10-25]. Dostupné z: doi:10.1021/acs.est.9b01339
- [88] RILLIG, Matthias, Anika LEHMANN, A. SOUZA MACHADO a Gaowen YANG. Microplastic effects on plants. *New Phytologist* [online]. 2019, **223**(3), 1066-1070 [cit. 2021-10-25]. Dostupné z: doi:10.1111/nph.15794



- [89] BOOTS, Bas, Connor RUSSELL a Dannielle GREEN. Effects of Microplastics in Soil Ecosystems: Above and Below Ground. *Environmental Science & Technology* [online]. 2019, **53**(19), 11496-11506 [cit. 2021-10-21]. ISSN 0013-936X. Dostupné z: doi:10.1021/acs.est.9b03304
- [90] DENKOVÁ, Pavla. *Vliv mikroplastů biodegradabilních polymerů na vlastnosti půdní organické hmoty*. Brno, 2020. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická.
- [91] HALLETT, Paul, Debbie FEENEY, A. BENGOUGH, Matthias RILLIG, Charlie SCRIMGEOUR a Iain YOUNG. Disentangling the impact of AM fungi versus roots on soil structure and water transport. *Plant and Soil* [online]. 2009, **314**(1-2), 183-196 [cit. 2021-10-22]. ISSN 0032-079X. Dostupné z: doi:10.1007/s11104-008-9717-y
- [92] QI, Yueling, Xiaomei YANG, Amalia PELAEZ, Esperanza HUERTA LWANGA, Nicolas BERIOT, Henny GERTSEN, Paolina GARBEVA a Violette GEISSEN. Macro- and micro- plastics in soil-plant system: Effects of plastic mulch film residues on wheat (*Triticum aestivum*) growth. *Science of The Total Environment* [online]. 2018, **645**, 1048-1056 [cit. 2021-10-25]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2018.07.229
- [93] WANG, Fei, Kai SHIH a Xiao LI. The partition behavior of perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanesulfonamide (FOSA) on microplastics. *Chemosphere* [online]. 2015, **119**, 841-847 [cit. 2021-10-26]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2014.08.047
- [94] KLEINTEICH, Julia, Sven SEIDENSTICKER, Nikolaj MARGGRANDER a Christiane ZARFL. Microplastics Reduce Short-Term Effects of Environmental Contaminants. Part II: Polyethylene Particles Decrease the Effect of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on Microorganisms. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. 2018, **15**(2) [cit. 2021-10-25]. ISSN 1660-4601. Dostupné z: doi:10.3390/ijerph15020287
- [95] POWELL, Jeff a Matthias RILLIG. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi and ecosystem function. *New Phytologist* [online]. 2018, **220**(4), 1059-1075 [cit. 2021-10-25]. ISSN 0028-646X. Dostupné z: doi:10.1111/nph.15119
- [96] SHRUTI, V.C. a Gurusamy KUTRALAM-MUNIASAMY. Bioplastics: Missing link in the era of Microplastics. *Science of The Total Environment* [online]. 2019, **697** [cit. 2021-10-27]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2019.134139
- [97] QIAN, Haifeng, Meng ZHANG, Guangfu LIU, Tao LU, Qian QU, Benben DU a Xiangliang PAN. Effects of Soil Residual Plastic Film on Soil Microbial Community Structure and Fertility. *Water, Air, & Soil Pollution* [online]. 2018, **229**(8) [cit. 2021-10-27]. ISSN 0049-6979. Dostupné z: doi:10.1007/s11270-018-3916-9
- [98] WANG, Jun, Shenghong LV, Manyun ZHANG et al. Effects of plastic film residues on occurrence of phthalates and microbial activity in soils. *Chemosphere* [online]. 2016, **151**, 171-177 [cit. 2021-10-27]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2016.02.076

- [99] SANZ-LÁZARO, Carlos, Nuria CASADO-COY a Ana BELTRÁN-SANAHUJA. Biodegradable plastics can alter carbon and nitrogen cycles to a greater extent than conventional plastics in marine sediment. *Science of The Total Environment* [online]. 2021, **756** [cit. 2021-10-27]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2020.143978
- [100] SHEN, Maocai, Wei HUANG, Ming CHEN, Biao SONG, Guangming ZENG a Yaxin ZHANG. (Micro)plastic crisis: Un-ignorable contribution to global greenhouse gas emissions and climate change. *Journal of Cleaner Production* [online]. 2020, **254** [cit. 2021-10-27]. ISSN 09596526. Dostupné z: doi:10.1016/j.jclepro.2020.120138
- [101] SHEN, Maocai, Shujing YE, Guangming ZENG, Yaxin ZHANG, Lang XING, Wangwang TANG, Xiaofeng WEN a Shaoheng LIU. Can microplastics pose a threat to ocean carbon sequestration?. *Marine Pollution Bulletin* [online]. 2020, **150** [cit. 2021-10-27]. ISSN 0025326X. Dostupné z: doi:10.1016/j.marpolbul.2019.110712
- [102] KARAMANLIOGLU, Mehlika a Geoffrey ROBSON. The influence of biotic and abiotic factors on the rate of degradation of poly(lactic) acid (PLA) coupons buried in compost and soil. *Polymer Degradation and Stability* [online]. 2013, **98**(10), 2063-2071 [cit. 2021-10-27]. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymdegradstab.2013.07.004
- [103] QI, Yueling, Adam OSSOWICKI, Xiaomei YANG, Esperanza HUERTA LWANGA, Francisco DINI-ANDREOTE, Violette GEISSEN a Paolina GARBEVA. Effects of plastic mulch film residues on wheat rhizosphere and soil properties. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 2020, **387** [cit. 2021-10-27]. ISSN 03043894. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2019.121711
- [104] SATTI, Sadia, Aamer SHAH, Terence MARSH a Rafael AURAS. Biodegradation of Poly(lactic acid) in Soil Microcosms at Ambient Temperature: Evaluation of Natural Attenuation, Bio-augmentation and Bio-stimulation. *Journal of Polymers and the Environment* [online]. 2018, **26**(9), 3848-3857 [cit. 2021-10-27]. ISSN 1566-2543. Dostupné z: doi:10.1007/s10924-018-1264-x
- [105] ARCOS-HERNANDEZ, M.V., B. LAYCOCK, S. PRATT, B.C. DONOSE, M.A.L. NIKOLIĆ, P. LUCKMAN, A. WERKER a P.A. LANT. Biodegradation in a soil environment of activated sludge derived polyhydroxyalkanoate (PHBV). *Polymer Degradation and Stability* [online]. 2012, 2301-2312 [cit. 2021-10-27]. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymdegradstab. 2012.07.035
- [106] SERRANO-RUIZ, H., L. MARTÍN-CLOSAS a A.M. PELACHO. Application of an in vitro plant ecotoxicity test to unused biodegradable mulches. *Polymer Degradation and Stability* [online]. 2018, **158**, 102-110 [cit. 2021-10-27]. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymdegradstab.2018.10.016
- [107] WANG, Fayuan, Xiaoqing ZHANG, Shuqi ZHANG, Shuwu ZHANG a Yuhuan SUN. Interactions of microplastics and cadmium on plant growth and arbuscular mycorrhizal fungal communities in an agricultural soil. *Chemosphere* [online]. 2020, **254** [cit. 2021-10-27]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2020.126791

- [108] HARTMANN, Nanna, Sinja RIST, Julia BODIN, Louise JENSEN, Stine SCHMIDT, Philipp MAYER, Anders MEIBOM a Anders BAUN. Microplastics as vectors for environmental contaminants: Exploring sorption, desorption, and transfer to biota. *Integrated Environmental Assessment and Management* [online]. 2017, **13**(3), 488-493 [cit. 2021-10-27]. ISSN 15513777. Dostupné z: doi:10.1002/ieam.1904
- [109] SHEN, Maocai, Biao SONG, Guangming ZENG, Yaxin ZHANG, Fengyun TENG a Chengyun ZHOU. Surfactant changes lead adsorption behaviors and mechanisms on microplastics. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2021, **405** [cit. 2021-10-27]. ISSN 13858947. Dostupné z: doi:10.1016/j.cej.2020.126989
- [110] PALUCHOVÁ, Natálie. *Influence of bioplastics' biodegradation on soil quality*. Brno, 2021, 108 s. Dostupné také z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/131508>. Master's thesis. Brno University of Technology, Faculty of Chemistry.
- [111] Základní metodika přesných polních a nádobových zkoušek: Metodický pokyn č. 01/VR. In: *Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský* [online]. 2020 [cit. 2021-11-18]. Dostupné z: [https://eagri.cz/public/web/file/269389/MP\\_01\\_VR\\_1vyd..pdf](https://eagri.cz/public/web/file/269389/MP_01_VR_1vyd..pdf)
- [112] HÖHNE, Günther, Wolfgang HEMMINGER a H.-J. FLAMMERSHEIM. *Differential Scanning Calorimetry. 2*, ilustrované vydání. Springer Science & Business Media, 2013. ISBN 9783662067109.
- [113] MENCZEL, Joseph a R. PRIME. *Thermal analysis of polymers: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons, 2009, 709 s. ISBN 9780471769170.
- [114] YU, Shifeng, Shuyu WANG, Ming LU a Lei ZUO. Review of MEMS differential scanning calorimetry for biomolecular study. *Frontiers of Mechanical Engineering* [online]. 2017, **12**(4), 526-538 [cit. 2021-11-18]. ISSN 2095-0233. Dostupné z: doi:10.1007/s11465-017-0451-0
- [115] NOLLET, Leo a Fidel TOLDRA, ed. *Handbook of Food Analysis - Two Volume Set: Differential Scanning Calorimetry* [online]. CRC Press, 2015 [cit. 2021-11-18]. ISBN 9780429153747. Dostupné z: doi:10.1201/b18668
- [116] EHRENSTEIN, Gottfried, Gabriela RIEDEL a Pia TRAWIEL. *Thermal analysis of plastics: theory and practice*. Munich: Hanser, 2004, 368 s. ISBN 3-446-22673-7.
- [117] SENESI, N., Baoshan XING a P. HUANG. *Biophysico-chemical processes involving natural nonliving organic matter in environmental systems*. Hoboken, N.J.: Wiley, 2009. Wiley-IUPAC series on biophysico-chemical processes in environmental systems. ISBN 04-704-1300-X.
- [118] SCHAUMANN, Gabriele. Soil organic matter beyond molecular structure Part II: Amorphous nature and physical aging. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* [online]. 2006, **169**(2), 157-167 [cit. 2021-11-19]. ISSN 1436-8730. Dostupné z: doi:10.1002/jpln.200521791

- [119] KOMENDOVÁ, Renata, Jan ŽÍDEK, Michal BERKA, Marta JEMELKOVÁ, Veronika ŘEZÁČOVÁ, Pellegrino CONTE a Jiří KUČERÍK. Small-sized platinum nanoparticles in soil organic matter: Influence on water holding capacity, evaporation and structural rigidity. *Science of The Total Environment* [online]. 2019, **694** [cit. 2021-11-18]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2019.133822
- [120] COATS, A. a J. REDFERN. Thermogravimetric analysis. A review. *The Analyst* [online]. 1963, **88**(1053) [cit. 2021-11-18]. ISSN 0003-2654. Dostupné z: doi:10.1039/an9638800906
- [121] GALLAGHER, P.K. Thermogravimetry and Thermomagnetometry. *Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry* [online]. 1998, 225–278 [cit. 2021-11-18]. Dostupné z: doi:10.1016/s1573-4374(98)80007-1
- [122] KUČERÍK, Jiří a Christian SIEWERT. Practical application of thermogravimetry in soil science. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* [online]. 2014, **116**(2), 563-570 [cit. 2021-11-18]. ISSN 1388-6150. Dostupné z: doi:10.1007/s10973-013-3609-y
- [123] TOKARSKI, David, Martin WIESMEIER, Helena DOLEŽALOVÁ WEISSMANNOVÁ, Karsten KALBITZ, Michael SCOTT DEMYAN, Jiří KUČERÍK a Christian SIEWERT. Linking thermogravimetric data with soil organic carbon fractions. *Geoderma* [online]. 2020, **362** [cit. 2022-03-15]. ISSN 00167061. Dostupné z: doi:10.1016/j.geoderma.2019.114124
- [124] DA COSTA, J. a J. ALVES. The determination of the moisture equivalent by the silt-suction method and the shifting of the pF curve of stored soil samples. *The Journal of Agricultural Science* [online]. 1942, **32**(3), 294-297 [cit. 2021-11-26]. ISSN 0021-8596. Dostupné z: doi:10.1017/S0021859600048073
- [125] SCHANZ, Tom. *Unsaturated Soils: Experimental studies*. Springer, 2003. ISBN 3-540-21121-7. ISSN: 0930-8989.
- [126] BOGAARD, Thom. *Hydrological Measurements* [online]. In: . [cit. 2021-11-26]. Dostupné z: [https://ocw.tudelft.nl/wp-content/uploads/Soil\\_Hydrology4.pdf](https://ocw.tudelft.nl/wp-content/uploads/Soil_Hydrology4.pdf)
- [127] Soil Water Retention Parameters. In: *Geoportál de GfD* [online]. [cit. 2021-11-26]. Dostupné z: [https://geoportal.bafg.de/dokumente/had/42\\_43\\_44SoilWaterRetentionParameters.pdf](https://geoportal.bafg.de/dokumente/had/42_43_44SoilWaterRetentionParameters.pdf)
- [128] ISO 11274. *Soil quality - Determination of the water-retention characteristic - Laboratory methods*. Second edition. 2019.
- [129] ZOUBKOVÁ, Lenka. *Návody k laboratorním cvičením z pedologie*. Ústí nad Labem: Univerzita Jana Evangelisty Purkyně, Fakulta životního prostředí, 2014. ISBN 978-80-7414-842-2.

- [130] PARMAR, Jash. *Interrelation between indicators of soil organic matter composition and water storing capacity measured under laboratory conditions*. 2020. Faculty of Civil Engineering/ Architecture University of Applied Sciences – Hochschule für Technik und Wirtschaft Dresden.
- [131] DOLNÍČEK, Zdeněk. *Laboratorní metody výzkumu*. Olomouc: Katedra geologie, Přírodovědecká fakulta univerzity Palackého, 2005.
- [132] Polymer Molecular Weight Distribution and Definitions of MW Averages. *Agilent Technologies* [online]. [cit. 2022-03-14]. 5990-7890EN. Dostupné z: <https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/Public/5990-7890EN.pdf>
- [133] Střední molární hmotnost. In: *Vydavatelství VŠCHT* [online]. [cit. 2022-03-14]. Dostupné z: [https://vydavatelstvi-old.vscht.cz/knihy/uid\\_es-001/hesla/stredni\\_molarni\\_hmotnost.html](https://vydavatelstvi-old.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/stredni_molarni_hmotnost.html)
- [134] KUČERÍK, Jiří, David TOKARSKI, Michael DEMYAN, Ines MERBACH a Christian SIEWERT. Linking soil organic matter thermal stability with contents of clay, bound water, organic carbon and nitrogen. *Geoderma* [online]. 2018, **316**, 38-46 [cit. 2022-04-19]. ISSN 00167061. Dostupné z: doi:10.1016/j.geoderma.2017.12.001
- [135] KLEBER, M., P. SOLLINS a R. SUTTON. A conceptual model of organo-mineral interactions in soils: self-assembly of organic molecular fragments into zonal structures on mineral surfaces. *Biogeochemistry* [online]. 2007, **85**(1), 9-24 [cit. 2022-04-06]. ISSN 0168-2563. Dostupné z: doi:10.1007/s10533-007-9103-5
- [136] TRAORÉ, O., V. GROLEAU-RENAUD, S. PLANTUREUX, A. TUBEILEH a V. BOEUF-TREMBLAY. Effect of root mucilage and modelled root exudates on soil structure. *European Journal of Soil Science* [online]. 2000, **51**(4), 575-581 [cit. 2022-04-06]. ISSN 13510754. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2389.2000.00348.x
- [137] RILLIG, Matthias C, Ludo AH MULLER a Anika LEHMANN. Soil aggregates as massively concurrent evolutionary incubators. *The ISME Journal* [online]. 2017, **11**(9), 1943-1948 [cit. 2022-04-21]. ISSN 1751-7362. Dostupné z: doi:10.1038/ismej.2017.56

## SEZNAM ZKRATEK

AEC	aniontová výměnná kapacita (angl. anion exchange capacity)
ATP	adenosintrifosfát
ATR	zeslabený úplný odraz (angl. attenuated total reflection)
CEC	kationtová výměnná kapacita (angl. cation exchange capacity)
DOC	rozpuštěný organický uhlík (angl. dissolved organic carbon)
DOM	rozpuštěná organická hmota (angl. dissolved organic matter)
DSC	diferenční kompenzační kalorimetrie (angl. differential scanning calorimetry)
FC	polní vodní kapacita (angl. field capacity)
MPs	mikroplasty (angl. microplastics)
NIR	blízká infračervená oblast (angl. near infrared)
NY 11	nylon11
P(3HB-co-3HHx)	poly(3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyhexanoát)
P(3HB-co-4HB)	poly(3-hydroxybutyrát-co-4-hydroxybutyrát)
P3HB	poly(R-3-hydroxybutyrát)
P4HB	poly(4-hydroxybutyrát)
PA	polyamid
PBAT	polybutylen tereftalátadipát
PBS	polybutylensukcinát
PBSA	Polybutylensukcinát-adipát
PCL	polykaprolakton
PE	polyethylen
PES	polyethersulfon
PHA	polyhydroxyalkanoáty
PHBV, P(3HB-co-3HV)	poly(3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyvalerát)
PLA	polymléčná kyseliny
PWP	bod trvalého vadnutí (angl. permanent wilting point)
SO	půdní organismy (z angl. soil organisms)
SOM	půdní organická hmota (angl. soil organic matter)
TG, TGA	termogravimetrie
WaMB	vodní molekulový můstek (angl. water molecule bridge)
WHC	kapacita zadržování vody (angl. water holding capacity)

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Rozdělení bioplastů.....	10
Obrázek 2: Obecná struktura polyhydroxyalkanoátu.....	11
Obrázek 3: Schéma výroby polyhydroxyalkanoátu .....	12
Obrázek 4: Chemická struktura poly(R-3-hydroxybutyrátu) .....	12
Obrázek 5: Schéma syntézy P3HB.....	13
Obrázek 6: Chemická struktura poly(3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyvalerátu .....	14
Obrázek 7: Chemická struktura poly(3-hydroxybutyrát-co-4-hydroxybutyrátu).....	14
Obrázek 8: Chemická struktura poly(3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyhexanoát) .....	14
Obrázek 9: Chemická struktura poly(4-hydroxybutyrátu).....	14
Obrázek 10: Složky půdy a jejich typický poměr (v hmotnostních procentech). .....	15
Obrázek 11: Zobrazení frakcí jemnozeme.....	16
Obrázek 12: Znázornění struktury písčité a jílovité půdy.....	17
Obrázek 13: Schématické znázornění zádrže vody v půdě .....	18
Obrázek 14: Schématické znázornění sorpce kationtů na povrch koloidu.....	21
Obrázek 15: Koloběh uhlíku .....	24
Obrázek 16: Cyklus dusíku.....	25
Obrázek 17: Schéma degradace syntetických a biodegradabilních polymerů.....	27
Obrázek 18: Schématické znázornění biotické degradace .....	28
Obrázek 19: Vybrané efekty různých velikostí mikroplastů .....	30
Obrázek 20: Schématické znázornění vlivu mikroplastů na terestrický systém .....	32
Obrázek 21: Schématické znázornění květináčového experimentu. ....	35
Obrázek 22: DSC záznam.....	36
Obrázek 23: Schéma zobrazující DSC s tepelným tokem a DSC s kompenzací výkonu. ....	36
Obrázek 24: Ukázka termogravimetrického záznamu pro oxalát. ....	37
Obrázek 25: Retenční pF křivky pro jednotlivé typy půd .....	38
Obrázek 26: Schématické znázornění systému pro měření polní vodní kapacity.....	39
Obrázek 27: Schématické znázornění síťové analýzy.....	39
Obrázek 28: Ukázka termogravimetrického záznamu zobrazující změnu hmotnosti v závislosti na teplotě pro vzorky bez dusíku a bez rostliny. ....	44
Obrázek 29: Grafy zobrazující změnu hmotnosti v jednotlivých teplotních intervalech pro vzorky bez rostliny. Vlevo – bez N-hnojiva, vpravo – s N-hnojivem.....	46
Obrázek 30: Grafy zobrazující změnu hmotnosti v jednotlivých teplotních intervalech pro vzorky s rostlinou. Vlevo – bez N-hnojiva, vpravo – s N-hnojivem. ....	47
Obrázek 31: Vyhodnocený DSC záznam pro vzorek bez obsahu P3HB (bez hnojiva, bez rostliny).....	48
Obrázek 32: Vyhodnocený DSC záznam pro vzorek obsahující 5 hm.% P3HB (bez hnojiva, bez rostliny).....	48
Obrázek 33: Grafy zobrazující závislost výparné entalpie vody z půdy na koncentraci P3HB pro vzorky bez hnojiva. Vlevo – bez rostliny, vpravo – s rostlinou.....	49
Obrázek 34: Grafy zobrazující závislost výparné entalpie vody z půdy na koncentraci P3HB pro vzorky s hnojivem. Vlevo – bez rostliny, vpravo – s rostlinou.....	49
Obrázek 35: Grafy zobrazující závislost množství vody na koncentraci P3HB pro sérii vzorků bez N-hnojiva a bez rostliny. Vlevo vztaženo na celý vzorek, vpravo vztaženo pouze na půdu. ....	50
Obrázek 36: Grafy zobrazující závislost množství vody na koncentraci P3HB pro sérii vzorků bez N-hnojiva a s rostlinou. Vlevo vztaženo na celý vzorek, vpravo vztaženo pouze na půdu. ....	50
Obrázek 37: Grafy zobrazující závislost množství vody na koncentraci P3HB pro sérii vzorků s N-hnojivem, bez rostliny. Vlevo vztaženo na celý vzorek, vpravo vztaženo pouze na půdu. ....	51

Obrázek 38: Grafy zobrazující závislost množství vody na koncentraci P3HB pro sérii vzorků s N-hnojivem, s rostlinou. Vlevo vztaženo na celý vzorek, vpravo pouze na půdu. ....	51
Obrázek 39: Grafy zobrazující ovlivnění polní vodní kapacity přidavkem P3HB pro vzorky bez hnojiva. Vlevo – bez rostliny, vpravo – s rostlinou.....	52
Obrázek 40: Grafy zobrazující ovlivnění polní vodní kapacity přidavkem P3HB pro vzorky s hnojivem. Vlevo – bez rostliny, vpravo – s rostlinou. ....	52
Obrázek 41: Distribuce částic - série bez N-hnojiva, bez rostliny. ....	53
Obrázek 42: Distribuce částic – série bez N-hnojiva, s rostlinou.....	55
Obrázek 43: Distribuce částic – série s N-hnojivem, bez rostliny. ....	56
Obrázek 44: Distribuce částic - série s N-hnojivem, s rostlinou.....	58



## SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Schématické znázornění vybraných půdních redoxních procesů .....	20
Tabulka 2: Rozdělení půdního edafonu dle velikosti .....	22
Tabulka 3: Parametry retence vody .....	38
Tabulka 4: Průměrný obsah reziduálního P3HB ve vzorcích .....	44
Tabulka 5: Porovnání distribuce částic v jednotlivých frakcích s blankem. Série bez N-hnojiva, bez rostliny .....	53
Tabulka 6: Hodnocení distribuce částic s využitím koeficientu polydisperzity. Série bez N-hnojiva, bez rostliny .....	54
Tabulka 7: Porovnání distribuce částic v jednotlivých frakcích s blankem. Série bez N-hnojiva, s rostlinou .....	55
Tabulka 8: Hodnocení distribuce částic s využitím koeficientu polydisperzity. Série bez N-hnojiva, s rostlinou .....	56
Tabulka 9: Porovnání distribuce částic v jednotlivých frakcích s blankem. Série s N-hnojivem, bez rostliny .....	57
Tabulka 10: Hodnocení distribuce částic s využitím koeficientu polydisperzity. Série s N-hnojivem, bez rostliny .....	57
Tabulka 11: Porovnání distribuce částic v jednotlivých frakcích s blankem. Série s N-hnojivem, s rostlinou .....	58
Tabulka 12: Hodnocení distribuce částic s využitím koeficientu polydisperzity. Série s N-hnojivem, s rostlinou .....	59
Tabulka 13: Schématické zobrazení ovlivnění v porovnání s blankem. ....	60

## PŘÍLOHY

*Příloha 1: Korelační koeficienty pro závislost sledovaného parametru na množství P3HB.*

	Sledovaný parametr	Množství P3HB	Bez N-hnojiva, bez rostliny	Bez N-hnojiva, s rostlinou	S N-hnojivem, bez rostliny	S N-hnojivem, s rostlinou
Korelační koeficient	FC	c – P3HB vložené	0,988	0,974	- 0,754	0,779
		c – P3HB reziduální	0,977	0,982	- 0,621	0,743
	Mn	c – P3HB vložené	0,932	0,878	0,944	0,945
		c – P3HB reziduální	0,906	0,839	0,908	0,904
	Mw	c – P3HB vložené	0,853	0,754	0,914	0,966
		c – P3HB reziduální	0,820	0,707	0,890	0,936
	Koeficient polydisperzity	c – P3HB vložené	- 0,916	- 0,902	- 0,932	- 0,906
		c – P3HB reziduální	- 0,890	- 0,871	- 0,881	- 0,852