

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
Katedra ekologie a životního prostředí



Mikrobiální biofilmy na plastových materiálech ve vodním prostředí

Michael Cabejšek

Bakalářská práce

předložená

na Katedře ekologie a životního prostředí

Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

jako součást požadavků

na získání titulu Bc. v oboru

Ekologie a ochrana životního prostředí

Vedoucí práce: Doc. RNDr. Martin Rulík, Ph.D.

Olomouc 2021

Cabejšek M. 2021. Mikrobiální biofilmy na plastových materiálech ve vodním prostředí [bakalářská práce]. Olomouc: Katedra ekologie a ŽP PřF UP v Olomouci. 41s. Česky.

Abstrakt

Žijeme ve světě, kde jsou postupně tradiční materiály nahrazovány nejrůznějšími plasty, ať už kvůli nižší ceně či vyšší odolnosti. Za rok 2019 vyprodukoval svět 368 milionů tun plastů a jejich produkce bude v dalších letech ještě stoupat. Samozřejmě, tyto nové materiály mají své velké přínosy, ale zároveň i velká negativa. Nejoblíbenější vlastnosti plastů, jejich pevnost a odolnost, se staly jedním z největších environmentálních problémů současnosti. Plastový odpad se hromadí v životním prostředí, kde představuje celou řadu rizik. Jedním z nich je například jejich degradace na mikroplasty. V boji s nimi by nám mohla pomoci biofilmová společenstva, která mají v přírodě nezastupitelnou roli. Zatím ještě není příliš jasné, jak biofilmy ovlivňují plasty, ale přinejmenším je mohou kolonizovat jako zcela nový druh substrátu. Přestože mají plasty i biofilmy opravdu velký význam, vzniká na studium jejich interakcí jen malé množství prací, z nichž se drtivá většina věnuje pouze marinním ekosystémům. V experimentální části této práce jsme do Bystřice umístili plastové proužky pěti druhů plastů (PET, PE, PP, PS a PVC) uložené ve sklovláknových pytlících. Abychom zjistili, jak velké množství biofilmů se vyskytuje na kterém plastovém povrchu, zvolili jsme nepřímou kolorimetrickou Duboisovu metodu, která spočívá ve stanovování množství cukrů ve vzorku na základě rozdílné absorbance oproti kalibračním roztokům. Z našich výsledků vyplývá, že 1) rychlost růstu biofilmů na plastových substrátech nebyla v průběhu času na námi sledované lokalitě konstantní, 2) rychlost růstu se lišila mezi jednotlivými druhy plastů a 3) Duboisova metoda není nejvhodnější metodou pro studium této problematiky.

Klíčová slova: biofilm, plasty, mikroplasty, degradace, Duboisova metoda

Cabejšek M. 2021. Microbial biofilms on plastic debris in aquatic environment [bachelor's thesis]. Olomouc: Department of Ecology and Environmental Science, Palacky University of Olomouc.. 41pp. Czech.

Abstract

We live in a world where traditional materials are being gradually replaced by various plastics, either due to lower prices or higher durability. In 2019, the world produced 368 million tons of plastics and this production will in upcoming years even increase. Plastics of course have their great benefits, but there are great negative too. The most popular properties of plastics, their strength and durability, have become one of the biggest environmental problems of present days. Plastic waste accumulates in the environment, where it has many harmful effects. One of them is, for example, degradation to microplastics. Biofilm communities, which have an irreplaceable role in nature, could help us in the fight against plastics. It is not very clear yet, how biofilms affect plastics, but certainly they can colonize them as completely new kind of substrate. Although both plastics and biofilms are of great importance, only a small amount of works are developed to study their interactions. Vast majority of these studies are focused only on marine ecosystems. In the experimental part of this work, we placed plastic strips of five types of plastics (PET, PE, PP, PS and PVC) stored in fiberglass bags into river Bystrice. To find out how many biofilms occur on which plastic surface, we used indirect colorimetric Dubois's method, which is based on determining the amount of sugars in samples thanks to differences in absorbance between sample and calibration solutions. The results show that 1) the growth rate of biofilms on plastic substrates was not constant over time at our locality, 2) growth rate varied between different types of plastic materials and 3) Dubois's method is not much suitable method for studying this topic.

Key words: biofilm, plastics, microplastics, degradation, Dubois method

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením Doc. RNDr. Martina Rulíka, Ph.D. a jen s použitím citovaných literárních pramenů.

V Olomouci 10. května 2021

.....

Michael Cebejšek

OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ	vii
PODĚKOVÁNÍ	viii
1 ÚVOD.....	9
2 CÍLE PRÁCE	10
3 CO JSOU PLASTY?	11
3.1 STRUČNÁ HISTORIE	11
3.2 SPOTŘEBA PLASTŮ	12
3.3 ČLENĚNÍ PLASTŮ A HLAVNÍ ZÁSTUPCI	13
3.3.1 POLYMERY VZNIKLÉ ADICÍ.....	13
3.3.2 KONDENZAČNÍ POLYMERY.....	15
3.3.3 SPECIÁLNÍ POLYMERY	19
4 MOŽNOSTI DEGRADACE	20
4.1 ČLENĚNÍ DEGRADACE.....	20
4.2 ABIOTICKÁ DEGRADACE.....	21
4.3 BIOTICKÁ DEGRADACE	22
4.4 DEGRADACE NEJUŽÍVANĚJŠÍCH PLASTŮ	23
4.4.1 PLASTY S C-C VAZBAMI V HLAVNÍM ŘETĚZCI.....	23
4.4.2 PLASTY S HETEROATOMY V HLAVNÍM ŘETĚZCI	26
4.5 DOBA TRVÁNÍ DEGRADACE.....	27
5 BIOFILMY.....	29
6 MATERIÁL A METODY	31
6.1 LOKALITA.....	31
6.2 INSTALACE A ODBĚR VZORKŮ.....	31
6.3 KVANTITATIVNÍ STANOVENÍ VÝVOJE BIOFILMŮ.....	32
7 VÝSLEDKY	33
7.1 VLIV DUBOISOVY METODY NA VÝSLEDKY.....	33
7.2 VÝVOJ BIOFILMŮ V PRŮBĚHU ČASU	33
7.3 VÝVOJ BIOFILMŮ NA RŮZNÝCH TYPECH PLASTŮ.....	35
8 DISKUZE.....	36
9 ZÁVĚR.....	38
10 LITERATURA.....	39

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 Lokalita, kde probíhal experiment	31
Obr. 2 Vývoj biofilmů v čase	33
Obr. 3 Vývoj teploty od 27. 7. do 9. 10.	34
Obr. 4 Rozdílné množství biofilmů na jednotlivých plastech.....	35

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěl poděkovat Doc. RNDr. Martinu Rulíkovi, Ph.D., za odborné vedení mé práce, veškerou pomoc v průběhu experimentu a v neposlední řadě i za ochotu, trpělivost a vstřícnost. Poděkování patří též Ing. Janu Černoorskému, za odbornou pomoc při práci v laboratoři. Děkuji i kolegyni Magdaleně Firlové, která mi poskytla data k sestavení kalibrační křivky.

1 ÚVOD

Za posledních 50 let jsou tradiční materiály, jako například kov, dřevo či kůže, ve velké míře nahrazovány nejrůznějšími plasty. Nejvíce oblíbená vlastnost u plastů, jejich odolnost, je ale zároveň jedním z hlavních environmentálních rizik současnosti (Sivan A., 2011). Velká část plastového odpadu totiž končí jako prakticky nerozložitelný materiál v řekách a dále pak v mořích a oceánech, kde se do něj mohou živočichové nejen zamotat, ale i jej pozřít, čímž plasty vstupují do potravního řetězce (Kühn et al., 2015). Jedním z dalších rizik je možnost plastových částic sloužit jako vektor pro nepůvodní či patogenní organismy (Zettler et al., 2013). V závislosti na použitých modelech se odhaduje, že počet částic mikroplastů vznášejících se na mořské hladině je 15-51 bilionů (van Sebille et al., 2015).

Syntetické polymery jsou fyzikálně a chemicky odlišné od přírodně se vyskytujících habitatů, tudíž nabízejí nový typ substrátu, který mohou mikrobiální společenstva kolonizovat (Kirstein et al., 2018). Společenstva vyskytující se v biofilmech na plastových substrátech, se značně liší od společenstev okolní vody (Zettler et al., 2013).

Biofilmy hrají v ekosystémech tekoucích vod nemalou roli. V současné době jsou považovány za významného přispěvatele do globálního koloběhu uhlíku, jelikož rozkládají organickou hmotu a emitují velké množství oxidu uhličitého do atmosféry. Tím, že biofilmy patří k primárním producentům, jsou součástí koloběhu organické hmoty a přispívají k ekosystémové respiraci, tvoří základ potravní sítě (Battin et al., 2016). Rovněž se v biofilmech rozkládají polutanty, čehož lze využít při bioremediaci nejrůznějších látek, od xenobiotik, přes aromatické uhlovodíky, těkavé organické sloučeniny a ropné produkty, až po pesticidy, herbicidy a těžké kovy, ale třeba i radionuklidy a výbušniny (Mitra & Mukhopadhyay, 2016).

Přestože plasty i biofilmy mají velký význam, pouze málo studií se dosud zabývalo jejich vzájemným vztahem ve sladkovodním prostředí, jelikož většina výzkumu týkající se této problematiky je směřována na mořské ekosystémy.

Tato práce bude mít dvě části. V první, teoretické části, se budeme nejprve věnovat plastům, jejich vlastnostem a členění, poté si rozebereme možnosti degradace a nakonec si povíme něco o biofilmech. V následující praktické části budeme formou experimentu studovat vztah mezi biofilmy a plastovými substráty.

2 CÍLE PRÁCE

- 1) Stanovit, zda je Duboisova metoda vhodná pro studium biofilmů na plastových površích
- 2) Sledovat rychlost růstu biofilmů na plastových substrátech v čase
- 3) Zjistit, zda má typ plastového substrátu vliv na rychlost růstu biofilmů

3 CO JSOU PLASTY?

Pojem „plasty“ zahrnuje všechny komerční materiály vyrobené z polymerů, tedy makromolekul čítající tisíce až miliony atomů. Rozdíl mezi polymery a běžnými organickými sloučeninami je především ve velikosti a tvaru. Pro polymery je typická podoba dlouhých řetězců s molární hmotností mezi dvaceti až stovkami tisíc, kdežto běžné organické látky nemívají tvar dlouhých řetězců a jejich molární hmotnost je menší než tisíc.

Základními stavebními kameny těchto obrovských molekul jsou monomery, obvykle malé organické molekuly buď s dvojnou vazbou, nebo se dvěma funkčními skupinami. Právě přítomnost dvojně vazby či funkčních skupin nám umožňuje monomery spojit za sebe, do dlouhého řetězce, v procesu zvaném polymerace. Stupeň polymerace (DP) nám pak udává počet monomerních jednotek v polymerovém řetězci. S jeho rostoucí délkou se postupně mění vlastnosti, a to včetně změny skupenství - od kapalin, přes vosky až k pryskyřicím.

Relativně malé molekuly, z například 3 monomerních jednotek, jsou také polymery, ale protože se tento pojem obvykle vztahuje k makromolekulám, látky s nižší molekulovou hmotností s nízkým stupněm polymerace by měly být nazývány oligomery (Chanda, 2018).

3.1 STRUČNÁ HISTORIE

Již roku 1833 spatřil světlo světa první plast, když H. Braconnot připravil nitrát celulózy, umělou slonovinu. Trvalo však ještě dalších 70 let, než byl roku 1909 vyroben první plně syntetický plast - fenol formaldehyd, též známý jako bakelit, po svém objeviteli Leo Hednriku Baekelandovi. O dva roky později Baekeland poprvé použil pojem „plastové materiály“ jako označení produktů vyrobených z makromolekul.

Po bakelitu přichází objevy dalších plastových materiálů v poměrně rychlém sledu: r. 1912 je objeven polyvinylchlorid (PVC), následuje r. 1913 celofán, 1924 plexisklo, 1933 polyethylen (PE), 1937 polyuretan (PUR), 1938 nylon, 1940 polyethylentereftalát (PET) a 1944 polystyren (PS). Deset let po polystyrenu je roku 1954 objeven polypropylen (PP), poslední z řady hlavních plastových materiálů. Po válce dochází k velkému rozmachu plastů, jejich produkce se mezi léty 1950 až 1970

zdvacetinásobila. Od r. 1950 bylo celosvětově vyrobeno přibližně 8,3 miliard tun plastů, přičemž průměrný růst roční produkce činí 8,5%, až na současných 368 milionů tun plastů v roce 2019 (Chalmin, 2019; Plastics Europe, 2020; The Editors of Encyclopaedia Britannica, n. d.).

3.2 SPOTŘEBA PLASTŮ

Jak už bylo zmíněno, poslední data o celosvětové produkci plastů jsou za rok 2019, kdy svět vyprodukoval neuvěřitelných 368 milionů tun plastů. K čemu ale všechen ten plast vlastně potřebujeme? Podařilo se mi dohledat pouze evropská data, ale lze očekávat, že budou podobná těm celosvětovým.

Nejvíce plastů, 39,6% z celkového množství, bylo užito pro výrobu balení a obalů, 20,4% našlo upotřebení ve stavebnictví, 9,6% využil automobilový průmysl, 6,2% se použilo v elektrotechnice a 4,1% v domácnostech, pro volný čas a pro sport, a 3,4% se upotřebilo v zemědělství. Zbýlých 16,7% bylo využito v ostatních odvětvích, například ve strojírenství, v lékařství, při výrobě nábytku či různých spotřebičů, apod. (Plastics Europe, 2020)

Nejvyužívanějším plastem je PE, jeho 4 základní varianty tvoří 29,8% všech plastů, přičemž na PE-LD (light density) a PE-LLD (linear light density) připadá 17,4% a na PE-HD (high density) s PE-MD (medium density) 12,4% evropské spotřeby. Z nízkohustotního PE se vyrábějí obaly potravin, sáčky, pytlíky, fólie, krabičky, nebo třeba i zemědělské plachty a fólie, zatímco z PE o středních či vyšších hustotách se vyrábějí hračky, lahve na mléko, obaly šamponů, trubky a různé domácí potřeby.

Na druhé příčce se umístil PP s 19,4%. Vyrábí se z něj potravinová balení a obaly, sklápěcí víčka, krabičky, trubky, automobilové díly, ale i bankovky.

Třetím nepoužívanějším plastem je se svými 10% PVC. Vyrábí se z něj například okenní rámy, lišty, obklady, trubky, izolace kabelů, zahradní hadice, či nafukovací bazény.

Na čtvrtém místě jsou shodně se 7,9% PUR a PET. PUR se používá na výrobu např. polštářů, matrací, izolační pěny do ledniček, izolací staveb. Nejznámější uplatnění

PET je jako lahve na různé tekutiny, například na vodu, limonády, džusy, ale i čisticí prostředky.

Z hlavních plastových materiálů je nejméně využívaným polystyren, který se na celkové produkci všech plastů podílí pouze se 6,2%. PS a jeho pěnová forma (EPS) se používají například k výrobě potravinových obalů ryb a mlékárenských produktů, využívají se jako stavební izolace, izolační vrstva uvnitř ledniček, používá se v elektrotechnickém vybavení, nebo třeba i k výrobě obrouček brýlí.

Kromě těchto 6 hlavních plastových materiálů se na spotřebě plastů podílí i další, blíže nespecifikované termoplasty (11,3%) a různé další plasty (7,5%), z nich jmenovitě například akrylonitrilbutadienstyren (ABS) na výrobu poklic na pneumatiky, polybutyltereftalát (PBT) na výrobu optických vláken, polykarbonát (PC) na výrobu čoček brýlí a střešních krytin, polymethylmethakrylát (PMMA) na výrobu dotykových displejů, polytetrafluorethylen (PTFE) na ochranné pláště telekomunikačních kabelů. Další plasty se využívají v nejrůznějších odvětvích včetně letectví, lékařských implantátů a chirurgických zařízení, v inženýrství, v elektrotechnice (Plastics Europe, 2020).

3.3 ČLENĚNÍ PLASTŮ A HLAVNÍ ZÁSTUPCI

Polymery lze rozdělit do tří základních skupin – polymery vzniklé adicí, polykondenzační polymery a speciální polymery. Polymery vzniklé adicí jsou polymery, jejichž hlavní řetězec se skládá zcela z C-C vazeb, hlavní řetězec polykondenzačních polymerů se skládá z vazeb C-heteroatom a speciální polymery mají speciální vlastnosti, např. vysokou odolnost vůči teplotě a ohni, fotosensitivitu či vysokou elektrickou vodivost. Následné členění plastů a jejich hlavní zástupce jsou převzaty z práce Chanda, (2018), pokud není uvedeno jinak.

3.3.1 POLYMERY VZNIKLÉ ADICÍ

Jsou nejvíce vyráběnou skupinou polymerů. Řadíme do nich polyalkeny, alkenové kopolymery, akryláty a vinylové polymery.

Polyalkeny

Polyalkeny jsou nejvýznamnější skupinou polymerů vzniklých adicí. Hlavními zástupci jsou PE, PP, PVC a PS, nejlevnější průmyslové polymery dostupné na trhu. Největší množství PE je použito na výrobu fólií, obalů a lahví, třetina produkce PP je spotřebována na výrobky z vláken, více než třetina PVC jde na výrobu trubek, armatur a tvarovek, a největším podílem výrobků z PS jsou obaly, různá balení a krabičky. K dalším významným polyalkenům náleží například:

- *polyvinylidenchlorid* - příbuzný polyvinylchloridu, pro svoji značnou pevnost a velkou odolnost vůči vodě a kyslíku se používá především k výrobě potravinářských fólií a obalů

- *polytetrafluorethylen* (známý jako teflon) a *další fluoropolymery* - vykazují vysokou chemickou odolnost a odolnost k vysokým teplotám. Vyrábějí se z nich například ochranné vrstvy chemického vybavení izolace vodičů, elektrické součástky a nepřilnavé povrchy kuchyňského nádobí.

- syntetické kaučuky *polybutadien* a *polyisopren* - zatímco polybutadien nachází největší uplatnění při výrobě pneumatik, polyisopren se používá i na výrobu obuvi, tmelů a gumových součástek ve strojírenství

- *polychloropren* (známý jako neopren) – používá se především k výrobě dopravních pásů, hadic, těsnění a používá se i jako pláště drátů a kabelů

K zajímavým polyalkenům patří i *polyallomer*, který je složený z kopolymerů ethylenu a propylenu. Díky své snadné tvarovatelnosti a nízké váze se používá např. k výrobě boxů na rybářské náčiní, tašek na bowlingové koule nebo kufříků na psací stroje.

Alkenové kopolymery

Nejvýznamnějšími alkenovými kopolymery jsou:

- *ethylen-propylenová pryž* - protože je velmi odolná vůči vnějším podmínkám, vyrábějí se z ní různé automobilové části, například nárazníky, části podvozku a ochranné lišty proti povětrnostním vlivům

- *butylová pryž* - díky své velmi nízké propustnosti pro vzduch se používá především k výrobě vnitřních částí pneumatik, například duší, ale používá se i k výrobě sportovního náčiní, jako jsou třeba fotbalové míče

- *nitrilová pryž* – je významným akrylonitrilovým kopolymerem, který se používá na výrobu těsnění, lepidel, obuvi a pro svoji chemickou odolnost rovněž i benzinových hadic.

- *akrylonitril-butadien-styren* – vyrábí se z něj především potrubí, tvarovky a automobilové spotřebiče

Akryláty

Akryláty jsou deriváty odvozené od kyseliny akrylové. Nejznámějším užitím akrylátů je výroba akrylátových vláken a akrylonitrilových kopolymerů, k nimž se řadí například výše zmíněné nitrilová pryž a akrylonitri-butadien-styren. Vyrábí se z nich i silná akrylátová lepidla. Nejvýznamnější akryláty jsou:

- *polyakrylonitril* – polyakrylonitrilová vlákna jsou pevnější než vlákna bavlny. Současně jsou nejlepší alternativou vlny do svetrů. Uplatňují se hlavně jako oděvní vlákna, dále v domácnosti jako příkrývky, koberce a závěsy.

- *polyakrylamidy* – ve vodě je lze použít jako flokulanty či koagulanty, při zpracování papíru se používají jako pomocné látky

Vinylové polymery

Vinylové polymery nacházejí uplatnění jako lepidla, ve zpracování papíru a textilu a ve speciálních použitích. Význačnými zástupci jsou *polyvinyl acetát* (emulzní barvy a lepidla) a *polyvinyl alkohol* (papírenství, textilní průmysl, kosmetika).

3.3.2 KONDENZAČNÍ POLYMERY

Kondenzační polymery jsou tvořeny ze dvou či více druhů monomerů, přičemž kvůli reakcím při polymeraci monomery ztrácí některé atomy, které jsou přítomny ve výchozích molekulách. V hlavním řetězci jsou přítomny heteroatomy (O, N, S, Si).

Polyestery

Prvními objevenými kondenzačními polymery byly polyestery. Našly široké využití ve výrobě syntetických vláken – výroba polyesterových vláken zahrnuje téměř 30% celkového počtu všech vyráběných syntetických vláken. Hlavními polyestery jsou:

- *polyethylentereftalát* – hlavní využití PET je ve výrobě oblečení (více než 60% z jeho produkce), dále ve výrobcích pro domácnost, ve výrobě pneumatik a v potravinářství v obalech, včetně lahví
- *polykarbonáty* – díky jejich vysoké mechanické odolnosti se z polykarbonátů vyrábějí především neprůstředná skla
- *aromatické kopolyestery* – jsou teplotně velmi odolné, slouží tedy hlavně jako technické plasty v místech, kde je potřeba velká tepelná odolnost

Polyamidy

Polyamidy lze rozdělit do tří skupin. První skupinou jsou *alifatické polyamidy*, z nichž nejznámější je polyamid-6,6, vedený pod obchodním názvem jako nylon. Alifatické polyamidy se používají především na výrobu vláken do vybavení domácnosti, jako jsou koberce, závěsy a deky, a na výrobu vláken do oblečení. Druhou skupinou jsou *aromatické polyamidy*, z jejichž vláken se vyrábí kevlar. Třetí skupinou jsou *polyimidy*, které se využívají například jako těsnění kompresorů v proudových motorech, ložiska, ventily, díly v pájecích a svařovacích zařízeních.

Formaldehydové polymery

Z formaldehydů se vyrábějí dva nejvíce používané reaktoplasty. Reaktoplasty jsou plasty, které není možné po ztuhnutí opět roztavit a přetvarovat, protože po ztuhnutí vytvářejí trojrozměrnou síť (Plastics Europe, 2020). Prvním z těchto formaldehydových reaktoplastů jsou *fenolformaldehydové pryskyřice*, ze kterých se vyrábí lepidla na překližky a sklovláknové izolace. Druhým jsou *močovinoformaldehydové pryskyřice*, které se používají hlavně jako pojivová pryskyřice a jako povrchová vrstva materiálů.

Polyuretany

Mezi hlavní polyuretanové výrobky patří *polyuretanová vlákna*, jejichž hlavní použití je v oblečení, *polyuretanové povlaky povrchů* a foukaná a stříkaná izolace. Kromě izolačních materiálů se *polyuretanové pěny* využívají k balení snadno rozbitného zboží, jako jsou například přístroje, dále v nábytkářství a k výrobě matrací a kobereců. Široké využití mají i *polyuretanové gummy*, ze kterých se dělají izolace drátů, hadice, pásy pro terénní vozidla, pneumatiky, kolečka kolečkových bruslí a těsnění, ložiska a malá ozubená kola pro aplikace s vysokým zatížením.

Polyethery

K nejvýznamnějším polyetherům náleží:

- *polyacetal* - nachází uplatnění v inženýrství na výrobu ozubených kol, řetězů, ventilů a dalších součástek

- *polyethylenoxid* – při nízké molekulární hmotnosti, kdy je v tekutém skupenství, se používá jako povrchově aktivní látka a zvlhčovač, při střední molekulární hmotnosti se ve voskovitém polopevném skupenství používá na výrobu maziv a při vyšší molekulární hmotnosti se ve voskovitém pevném skupenství využívá jeho rozpustnosti ve vodě na výrobu kapslí prášků a rozpustných zemědělských fólií a obalů

- *epoxydové pryskyřice* – využívají se především při výrobě laminátů a kompozitních materiálů, podlahových krytin a lepidel

Významným polyetherem je i *polypropylenoxid*, jehož hlavní využití je při výrobě polyuretanových pěn.

Polymery celulózy

Celulóza obsahuje četné vodíkové vazby mezi hydroxylovými skupinami, díky čemuž je nerozpustná a netavitelná, proto ji nelze zpracovávat v tavenině či v roztoku. Umožňují to až její deriváty, ve kterých je méně vodíkových můstků. Nejčastější úpravou celulózy je esterifikace a etherifikace. Nejdůležitějšími polymery celulózy jsou regenerovaná celulóza, nitrát celulózy a acetát celulózy.

Regenerovaná celulóza, je celulóza, jež byla převedena na derivát, uvedena do požadovaného tvaru a následně zpět navracena do původní, nemodifikované celulózy. Nejznámější regenerovanou celulózou je celofán, který se ve velké míře užíval v potravinářství, ale od 60. let je mu velkým konkurentem polypropylen.

Nitrát celulózy je sám o sobě silnou výbušninou, tudíž se používají zejména jeho produkty s nižším stupněm nitrace. Jeho největší uplatnění je jako základ pro laky a cement. Reakcí nitrocelulózy s kafrem se připravuje celuloid, ze kterého se vyrábí například míčky na stolní tenis.

Acetát celulózy se používá především k výrobě acetátových vláken, fólií a laků.

Dalšími významnými estery celulózy jsou *propionát celulózy*, ze kterého se vyrábějí třeba plastová těla per a telefonů či volanty, a *acetát-propionát celulózy*, který se používá například na výrobu bezpečnostních brýlí, obličejových štítů, displeje a blistr (typické balení prášků v platech).

Polymery sulfidů

Nejznámějšími polymery sulfidů jsou *polysulfid*, z něhož se vyrábí těsnění a tmely, a *polyfenylsulfid*, který se jako technický plast používá na výrobu elektrických a mechanických součástí.

Polysulfony

Polysulfony se uplatňují tam, kde je potřeba dobrá stabilita za zvýšených teplot. Vyrábí se z nich například elektrické součástky, relé a cívky, které můžeme najít ve féních, mikrovlnných troubách a podobných spotřebičích.

Polyetherketony

Polyetherketony se díky své vysoké tepelné odolnosti používají například jako opláštění drátů, k výrobě pokročilých kompozitních materiálů, i ve vojenském vybavení a v jaderných elektrárnách.

Polybenzimidazol

Zvláštním polymerem je polybenzimidazol. Který se díky své vysoké tepelné odolnosti používá hlavně pro výrobu vláken, například do padáků nebo oblečení pilotů, ale používá se i jako ablativní tepelný štít.

Silikony a další anorganické polymery

Silikony se používají hlavně na výrobu elastomer a tmelů, využívají se ale i v lékařství. Dalšími významnými anorganickými polymery jsou *polyfosfozany*, které díky svým vysokým odolnostem vůči olejům a chemikáliím nacházejí uplatnění v leteckém, kosmickém a vojenském průmyslu a při těžbě ropy, a *polythiazyl*, ze kterého se pro jeho vysokou elektrickou vodivost vyrábějí polovodivé polymery.

3.3.3 SPECIÁLNÍ POLYMERY

Speciální polymery jsou třetí skupinou polymerů. Zahrnují velké množství plastů, které se od ostatních liší vysokou cenou, silně specifickým použitím a zvláštními vlastnostmi. Patří sem polymery odolné vůči vysokým teplotám a ohni, polymery tekutých krystalů, vodivé a elektroaktivní polymery, polymerová optická vlákna, fotorezistentní polymery a další.

4 MOŽNOSTI DEGRADACE

Do životního prostředí každoročně vstupuje velké množství plastů, z nichž většina končí v mořích a oceánech (Kühn et al., 2015). Plastový odpad za přírodních podmínek postupně degraduje na menší fragmenty (Wagner et al., 2014). Degradací se myslí každá změna fyzikálních či chemických vlastností polymerů, která je způsobena přírodními faktory, jako jsou světlo, teplo, vlhkost, chemické podmínky či biologická aktivita (Shah et al., 2008). Jak postupuje degradace, rozpadají se plasty až na fragmenty menší než 5 mm (Wagner et al., 2014). Pro takto malé fragmenty bylo zavedeno označení *mikroplasty* (Arthur et al., 2009). Mikroplasty vzniklé degradačními procesy se nazývají *sekundární mikroplasty*. Kromě nich do životního prostředí vstupují i *primární mikroplasty*, což mohou být například pelety nebo ingredience přípravků osobní hygieny (peelingy, sprchové gely) (Wagner et al., 2014). Odstranit mikroplasty z životního prostředí není možné, kvůli jejich malé velikosti, a tak je nejefektivnějším způsobem omezit jejich vstupy. Bohužel, i kdybychom je dokázali zastavit úplně, množství mikroplastů v prostředí bude dál stoupat, kvůli těm plastům, které se zde již nacházejí. I přes velký význam stále zvyšujícího se množství plastového odpadu, máme o jeho fragmentaci a době degradace jen málo vědomostí (Erkes Medrano et al., 2015).

V této kapitole si nejprve obecněji popíšeme možnosti degradace a následně se podrobněji podíváme na degradační procesy u nejvyužívanějších druhů plastů.

4.1 ČLENĚNÍ DEGRADACE

Jak už bylo zmíněno, plasty podléhají degradaci. Během degradačních procesů se polymery postupně rozpadají na menší molekulární jednotky, např. oligomery, monomery nebo chemicky modifikované verze, a případně jsou zcela mineralizovány (Klein et al., 2018). Z tohoto hlediska lze polymery rozdělit na dva druhy.

První druh je za vhodných podmínek v podstatě převeden na oxid uhličitý a vodu, například celulóza, škrob a alifatické polyestery, druhý zahrnuje oxo-rozložitelné plasty (Eubeler et al., 2009).

Oxo-rozložitelné plasty, jako je přírodní kaučuk, lignocelulóza a některé oxo-rozložitelné polyalkeny, se rozpadnou na menší části, ale nejsou mineralizovány (Eubeler et al., 2009). Pod pojmem oxo-rozložitelné plasty se schovávají výrobky z tradičních

plastových materiálů, ke kterým byla přidána aditiva umožňující rychlý rozpad na malé části, které však v prostředí zůstávají. Než oxo-rozložitelné, bylo by tedy vhodnější používat spíše výraz oxo-fragmentovatelné (Oxo-Degradables, n.d.).

Degradační procesy syntetických polymerů lze rozdělit na abiotické a biotické. Abiotické jsou procesy mechanické degradace (mechanické rozrušování, ohřívání/chlazení, mrznutí/rozmrzání, smáčení/vysychání), fotodegradace (obvykle UV zářením) a chemické degradace (oxidace nebo hydrolýza). Biotické jsou procesy degradace způsobené organismy (bakterie, houby, řasy) (Klein et al., 2018).

4.2 ABIOTICKÁ DEGRADACE

Abiotická degradace obvykle předchází biotickou (Gewert et al., 2015). Na molekulární úrovni je iniciována nejčastěji UV zářením (fotooxidace), ale i hydrolyticky nebo termicky, a je eventuálně následována chemickou oxidací. Převládající mechanismus silně závisí jak na typu polymeru (polyalkeny, polyestery, polyamidy), jehož struktura například předurčuje možnost hydrolýzy, tak na přírodních podmínkách. Přírodní podmínky mohou omezovat pouze jednu cestu degradace, například termální degradaci, která je ve vodních ekosystémech nevýznamná, protože zde teploty nedosahují takové výše, aby docházelo ke změnám na syntetických polymerech, ale také mohou omezovat všechny cesty degradace, jako je tomu v případě přítomnosti plastů v sedimentech - jelikož většina degradačních procesů potřebuje buď světlo, kyslík nebo tření, jakmile jsou plasty pohřbeny v sedimentech, mohou zde setrvat přinejmenším celá desetiletí (Gewert et al., 2015; Klein et al., 2018; Kooi et al., 2018).

Většina plastů degraduje nejprve od svého povrchu, který je přímo vystaven vnějším vlivům. Prvními známkami degradace polymerů jsou praskání povrchu a změny v barvě. Praskliny jsou důležité, protože umožňují probíhání procesů degradace i ve vnitřních částech plastů. Jak se snižuje molekulární hmotnost, materiál křehne a je náchylný k fragmentaci. Na čím menší fragmenty se plasty rozpadají, tím je degradace vyšší, protože mohou degradační procesy probíhat na větší ploše - čím jsou plasty menší, tím mají větší povrch vzhledem ke svému objemu (Gewert et al., 2015). Rozpad obvykle vede k malým částčkám, mikroplastům. Nicméně, degradace zde nekončí a je tak pravděpodobné, že pokračuje vznikem nanoplastů, které by mohly mít rozdílné vlastnosti v porovnání s původními makroplasty nebo mikroplasty (Klein et al., 2018).

Rozdíly v degradaci plastů mezi sladkovodními a mořskými ekosystémy nejsou z důvodu nedostatku studií známy (Eerkes-Medrano et al., 2015). Je pravděpodobné, že ke křehnutí a fragmentaci polymerů dochází i ve sladkovodních ekosystémech, ale jelikož je tento proces velmi pomalý, nejspíše vyžaduje více času, než jak dlouho se v nich obvykle plasty zdržují (Kooi et al., 2018).

Jedním z rozdílů, který lze mezi vodními ekosystémy očekávat, je v intenzitě mechanického rozrušování. Plasty v mořích by mohly být z důvodu mořských vln a bouří vystaveny mnohem větší mechanické energii, než jaká působí na plasty ve sladkých vodách. Nicméně, sladkovodní studie, které zkoumaly povrch mikroplastů elektronovým mikroskopem, našly podobné degradační vzory, jako se nacházejí na plastech z mořských pobřeží (Eerkes-Medrano et al., 2015).

Jiný rozdíl by mohl být v intenzitě UV záření. V jedné studii autoři uvažují, že na jednu stranu by se plasty v oligotrofních horských jezerech mohly rychle rozpadat kvůli vyšší intenzitě záření, ale na druhou stranu by si zde plasty naopak mohly udržovat svoji integritu, kvůli přítomnosti ledové pokrývky, která způsobuje nižší teploty a nižší intenzitu dopadajícího UV záření (Free et al., 2014).

4.3 BIOTICKÁ DEGRADACE

Po počátečních reakcích abiotické degradace se polymer stává přístupným mikrobiální degradaci. Rozsah degradace polymerů na CO_2 , H_2O , N_2 , H_2 , CH_4 , soli, minerály a biomasu (mineralizace) může být úplný či částečný. Pro biodegradaci jsou důležitá tři kritéria. Prvním jsou přírodní charakteristiky, jako je teplota, pH, vlhkost a salinita, které musí poskytovat podmínky nezbytné pro biodegradaci. Dalším je morfologie a struktura polymeru. Morfologie musí umožňovat přisedání mikroorganismů a vznik biofilmů, zatímco struktura, jako jsou například chemické vazby, stupeň polymerace, stupeň větvení, hydrofobicita či krystalinita, nesmí bránit působení mikroorganismů. Třetím důležitým kritériem je přítomnost mikroorganismů, které dovedou depolymerizovat cílovou látku a mineralizovat monomerické jednotky enzymy příslušných metabolických cest (Klein et al., 2018).

První krok biotické degradace je odebrání vedlejších řetězců a vytvoření menších polymerových jednotek extracelulárními enzymy. Ve většině případů je prvním krokem

depolymerace enzymatická katalýza hydrolýzy amidů, esterů nebo uretanových vazeb (Klein et al., 2018). Když jsou polymerové fragmenty dostatečně malé (oligomery, dimery, monomery), mohou pak projít buněčnou membránou a být zde zpracovány nitrobuněčnými enzymy. Pokud jsou použity jako zdroj uhlíku a energie, jedná se o depolymerizaci. Pokud je konečným produktem oxid uhličitý, voda a metan, jde o proces mineralizace (Shah et al., 2008).

4.4 DEGRADACE NEJUŽÍVANĚJŠÍCH PLASTŮ

Jelikož jsou degradační procesy ovlivněny i typem plastu, je vhodné si nejužívanější syntetické polymery, kterými jsou PE, PP, PS, PVC, PET a PU, rozdělit na dvě skupiny. První skupinou jsou plasty s hlavním řetězcem tvořeným výhradně z atomů uhlíku. Patří sem PE, PP, PS a PVC. Zbývající dva plasty, PET a PU, spadají do druhé skupiny, která má v hlavním řetězci kromě uhlíku i heteroatomy; zdrojem pro celou tuto podkapitulu mi byla práce Gewert et al., (2015).

4.4.1 PLASTY S C-C VAZBAMI V HLAVNÍM ŘETĚZCI

Plasty s C-C hlavním řetězcem zahrnují PE, PP, PS a PVC. Jsou náchylné k oxidativní degradaci iniciované světelným zářením, což je pravděpodobně jejich nejdůležitější abiotická cesta degradace v přírodních aerobních podmínkách. Lze ji rozdělit na tři kroky: iniciace, propagace, terminace.

Během iniciace se C-H vazby v hlavním řetězci rozštěpí UV zářením (nebo teplem v případě termální iniciace) za vzniku volného radikálu. Předpokladem světelné iniciace je přítomnost nenasycených chromoforických skupin, které jsou schopny pohlcovat energii světelného záření. PE, PP a PVC žádné nenasycené dvojně vazby neobsahují, takže by se dalo očekávat, že budou ke světlem iniciované degradaci imunní, nicméně malé množství nečistot nebo strukturálních abnormalit do určité míry mohou světlem iniciovanou degradaci umožňovat.

Během propagace reagují volné radikály s kyslíkem a vznikají peroxylové radikály. V navazujících reakcích vznikají hydrogenperoxydy, ale také probíhají i

složitější reakce, které vedou k autooxidaci. Na konci propagace dochází buď k rozštěpení řetězce, nebo k síťování polymeru.

K terminaci dochází, když spolu zreagují dva radikály za vzniku produktu. Očekávanými produkty terminačních reakcí polymerových radikálů jsou alkeny, aldehydy a ketony.

V souhrnu jsou možnými konečnými důsledky oxidace: náhodné štěpení či štěpení na konci řetězce, větvení, síťování, vytvoření funkčních skupin obsahujících kyslík. Tyto funkční skupiny s kyslíkem jsou náchylné k další světlem iniciované degradaci, protože obsahují nenasycené dvojně vazby.

Kvůli vysoké molekulové hmotnosti a nedostatku volných skupin je biodegradace dlouhých polyalkenových řetězců omezená. Proto musí PE, PP a PS nejdříve podléhat abiotické degradaci, protože pokud jsou polymery moc velké, nemohou projít buněčnou stěnou mikroorganismů. Navíc, abiotická degradace produkuje karbonylové skupiny, které zvyšují hydrofilii polymerů a tím zvyšují dostupnost pro biodegradaci. Během biodegradace jsou polymery následně rozloženy na monomery, načež jsou následně mineralizovány.

Polyethylen

Abiotická degradace PE začíná vystavením UV záření. Během propagace se odehrávají komplexní autooxidační radikálové reakce, které vedou ke vzniku okysličených fragmentů s nízkou molekulovou hmotností, jako jsou alifatické karboxylové kyseliny, alkoholy, aldehydy a ketony. Produkty náhodného štěpení PE řetězce zahrnují propan a propen, ethan a ethen, buten a hexen.

Mikroorganismy mohou cílit na jakoukoliv koncovou methylovou skupinu PE. Menší polymerové fragmenty vzniklé abiotickými reakcemi mohou být biodegradovány na kratší sloučeniny, jako jsou estery a kyseliny. Konečnými produkty enzymatických reakcí jsou CO_2 a H_2O .

Polypropylen

PP má nižší stabilitu než PE, protože obsahuje terciární uhlíky, které jsou oproti sekundárním uhlíkům PE více náchylné k abiotické degradaci. Reakční mechanismy jsou podobné jako u PE – nečistoty umožňují světlem iniciovanou degradaci a vzniká PP radikál, který reaguje s kyslíkem. Radikálové reakce umožňují síťování, ale dominantní jsou ty reakce, které vedou ke fragmentům s nižší molekulární hmotností a ke vzniku nových funkčních skupin, především karbonylů a hydroperoxidů. Mezi známé konečné produkty patří penten, 2-methyl-1-penten a 2,4-dimethyl-1-hepten.

Biodegradabilitu snižují jak terciální uhlíky, tak vedlejší řetězce produktů.

Polystyren

PS je k povětrnostnímu zvětrávání náchylnější než předchozí dva uvedené plasty. Když je vystaven světlu, UV záření excituje fenyl, v důsledku čehož se z něj odštěpí vodík a vznikne peroxylový radikál. Následnými reakcemi dochází k síťování a štěpení řetězce. Převládajícím typem štěpením je štěpení na konci řetězce, tudíž jsou hlavním produktem monomery styrenu. Známými produkty z termálně iniciované degradace jsou oligomery styrenu (dimery, trimery,...), benzen, ethylbenzen, α -methylstyren, fenol, benzylalkohol, benzaldehyd, ketony a kyselina benzoová, ale jelikož si jsou termálně a světelně iniciované degradace podobné, předpokládá se, že tyto produkty vznikají i v mořském prostředí.

Co se týče biodegradace, je PS ze všech termoplastů nejodolnější.

Polyvinylchlorid

PVC je z nejužívanějších plastů nejvíce citlivý k UV záření, což znamená, že je i nejméně stabilní. Stejně jako PE a PP, i PVC potřebuje k iniciaci degradace světelným zářením nečistoty. Nejprve se odštěpí atomy chloru, čímž vzniká polyen, kyselina chlorovodíková a několik dalších méně významných produktů. Protože je dechlorace autokatalytická, může pokračovat, až dokud v řetězci nezbydou pouze zbytky chloru. Vzniklé nenasycené dvojné vazby $C=C$ jsou náchylné k fotodegradaci, v důsledku čehož dochází k rozpadu řetězce na menší fragmenty.

PVC má vysokou odolnost k biodegradaci, kterou způsobují atomy chloru (a halogeny obecně). Biodegradaci tedy musí předcházet degradace abiotická.

4.4.2 PLASTY S HETEROATOMY V HLAVNÍM ŘETĚZCI

Plasty s heteroatomy v hlavním řetězci mají vyšší teplotní stabilitu, ale jsou náchylné k hydrolytickému štěpení, například esterových nebo amidových vazeb.

Polyethyltereftalát

PET v mořském prostředí podléhá degradaci třemi možnými způsoby. Prvním z nich je fotodegradace, která může vést buď ke štěpení esterové vazby za vzniku karboxylové skupiny a vinylové skupiny, nebo ke tvorbě radikálů a vzniku karboxylové skupiny. Autooxidace, druhý způsob, probíhá radikálovými reakcemi přes vznik hydroperoxidu až k rozštěpení řetězce. Třetí cestou degradace je hydrolýza. Přestože při pokojové teplotě probíhá extrémně pomalu, je za nízkých teplot tím nejdůležitějším způsobem degradace PET materiálů. Během hydrolýzy vznikají karboxylová a alkoholová funkční skupina. Čím je v PET více karboxylových skupin, tím rychleji hydrolýza probíhá – jedná se o autokatalytickou reakci.

PET je vysoce odolný k biodegradaci, kvůli jeho kompaktní struktuře.

Polyuretan

PU plasty jsou složeny z extrémně velkých a komplexních polymerů, které ve svém hlavním řetězci obsahují uhlík, kyslík a dusík. Nejnáchylnější k degradaci je zde esterová vazba, kterou štěpí hydrolytická reakce. Hydrolýze podléhá i močovinová a uretanová vazba, ale v mnohem menší míře. Významnou cestou degradace je i degradace iniciovaná světlem, kdy po radikálových reakcích a vzniku hydrogenperoxidů nastávají reakce, které končí rozštěpením řetězce. Čím více karboxylových skupin se v plastu nachází, tím rychleji hydrolýza probíhá – stejně jako hydrolýza u PET, i PU hydrolýza je autokatalytická.

Biotickými cestami degradace PU je degradace houbami, degradace bakteriemi a degradace bakteriálními polyuretanázovými enzymy. Mikroorganismy jsou schopny štěpit uretanové vazby a degradovat polyolové, polyesterové a polyetherové segmenty, přičemž polyetherové segmenty jsou vůči mikrobiální degradaci odolnější, než předchozí zmíněné.

V procesu biodegradace se uplatňují bakterie i houby. Mikroorganismy jsou schopny degradovat uretanové vazby a polyolové segmenty. Zatímco polyetherové segmenty jsou mikrobiální činnosti více odolné, polyesterové segmenty podléhají degradaci poměrně snadno.

Biodegradace PU je možná třemi způsoby. Prvním je houbová a druhým bakteriální degradace. Tyto mikroorganismy jsou schopny degradovat uretanové vazby a polyolové segmenty. Zatímco polyetherové segmenty jsou mikrobiální činnosti více odolné, polyesterové segmenty podléhají degradaci poměrně snadno. Třetím způsobem je degradace polyuretanázovými enzymy, které rozštěpují PU řetězce.

4.5 DOBA TRVÁNÍ DEGRADACE

Jak dlouho se bude polymer rozkládat, záleží primárně na dvou faktorech: na jeho chemické stavbě a na jeho tvaru. Chemická stavba určuje, jaké typy degradace budou u daného plastu převládat a jak moc je k těmto procesům rezistentní. Neméně důležitý je tvar plastu, protože velmi záleží, jak velký povrch bude degradačním procesům vystaven. Například, HDPE fólie se bude rozkládat 260 krát rychleji, než vlákno o stejné hmotnosti a krystalinitě (Chamas et al., 2020).

Chamas a jeho kolegové se ve své práci z r. 2020 snažili na základě dat ze starších analýz určit, jak dlouho který plast degraduje. Používají pojem, který by se dal přeložit jako poločas rozpadu. Říká nám, za jak dlouho ztratí výchozí polymer právě polovinu ze svojí hmotnosti. Bohužel zjistili, že jen málokterá data týkající se degradace splňují potřebné požadavky, aby byla v jejich metaanalýze použitelná, přičemž nejvýznamnější jsou data pro PET, PP a PS (Chamas et al., 2020).

Nejrychleji probíhá degradace plastů při působení biologických činitelů za laboratorních podmínek (enzymy, mikroorganismy), pomaleji při vystavení účinkům světelného záření, ještě pomaleji v mořském prostředí a nejpomaleji probíhá degradace

plastů na skládkách, v půdě a v kompostu. Pokud jde o mořské ekosystémy, nejkratší poločas rozpadu mají PET lahve za účinku UV záření (2,3 roku), dále HDPE lahve (až 58 let) a PP krabičky (až 87 let). LDPE plastové sáčky mohou mít za doprovodu vlivu UV záření poločas rozpadu jen pár let, ale v případě méně příznivých podmínek může jít až do tisíců. Nejdelší poločasy rozpadu mají HDPE trubky, konkrétně jsou v rozmezí od 230 let za doprovodu působení UV záření až 2500 let v pro degradaci méně příznivých prostředích (Chamas et al., 2020). Sladkovodní data chybějí.

Na dobu degradace plastů může mít vliv i jejich porůstání biofilmy, a to jak pozitivní (urychlení degradace), tak negativní (ochrana před UV zářením, snížení vznášivosti (Silva et al., 2019).

5 BIOFILMY

Biofilm je podle jedné z prvních definic „...aktivní biologická vrstva složená z mikroorganismů (bakterií, řas, hub, prvoků, mnohobuněčných) a jejich extracelulárních polymerních produktů, která je přichycena na povrchu nejrůznějších podkladů, které jsou v kontaktu s vodou...“ Novější definice odrážejí nové poznatky různých vědních oborů, avšak základ zůstává stejný, tedy že jsou biofilmy přisedlá mikrobiální společenstva a jejich extracelulární produkty (Rulík et al., 2011)..

Růst v biofilmech je pro bakterie a další mikroorganismy výhodný, protože je biofilmová vrstva izoluje od okolního prostředí, udržuje určitý stupeň homeostázy a poskytuje jim ochranu před predátory a škodlivými vnějšími vlivy, jako je nejen mechanické poškozování a škodlivé UV záření, ale v případě člověka i antibiotika a činnost imunitního systému. Kromě této ochranné výhody patří k možným příčinám vzniku biofilmů i kolonizace na živiny bohatého prostředí a možnost požívání výhod kooperace v rámci společenstva. Prozatím je stále otevřenou otázkou, zda je pro bakterie primární fáze planktonní, která po přisednutí přechází do fáze biofilmové, či jestli je tomu přesně naopak (Rulík et al., 2011)..

Vývoj biofilmu probíhá v několika krocích. Nejprve musí organické molekuly substrátu najít cestu na povrch nosiče a adsorbovat na něm, čímž se postupně vytváří organický film. V dalším kroku na povrch nosiče přisedají mikrobiální buňky. Některé se mohou od povrchu odpojit a přejít tak znovu do planktonní fáze. Pro biofilm jsou klíčové ty buňky, které přisednou a transformují se z reverzibilních na ireverzibilní adsorpci. Na povrchu se zachytávají další mikroorganismy (v první fázi především bakterie) a trvale přisedlé buňky se dělí, produkují extracelulární matrix a další enzymy. Tím vzniká biofilm, který se pozvolna na povrchu nosiče vyvíjí. Ze zralého biofilmu se nakonec některé biofilmové buňky odtrhávají zpět do prostředí, nejspíše aby unikly zvyšujícímu se konkurenčnímu tlaku (Rulík et al., 2011).

Biofilmy mají ve sladkovodních ekosystémech významnou ekologickou roli. Představují biologické vrstvy, které jsou v kontaktu s okolní vodou a které se vyskytují na nejrůznějších površích. Jsou místem retence a uložení DOC (rozpuštěný organický uhlík), přičemž se předpokládá, že příjem DOM (rozpuštěné organické látky) a jejich transformace do partikulované podoby (POM) je jednou z jejich nejdůležitějších funkcí ve vodách. O významu biofilmů v tomto procesu svědčí i skutečnost, že podle současných

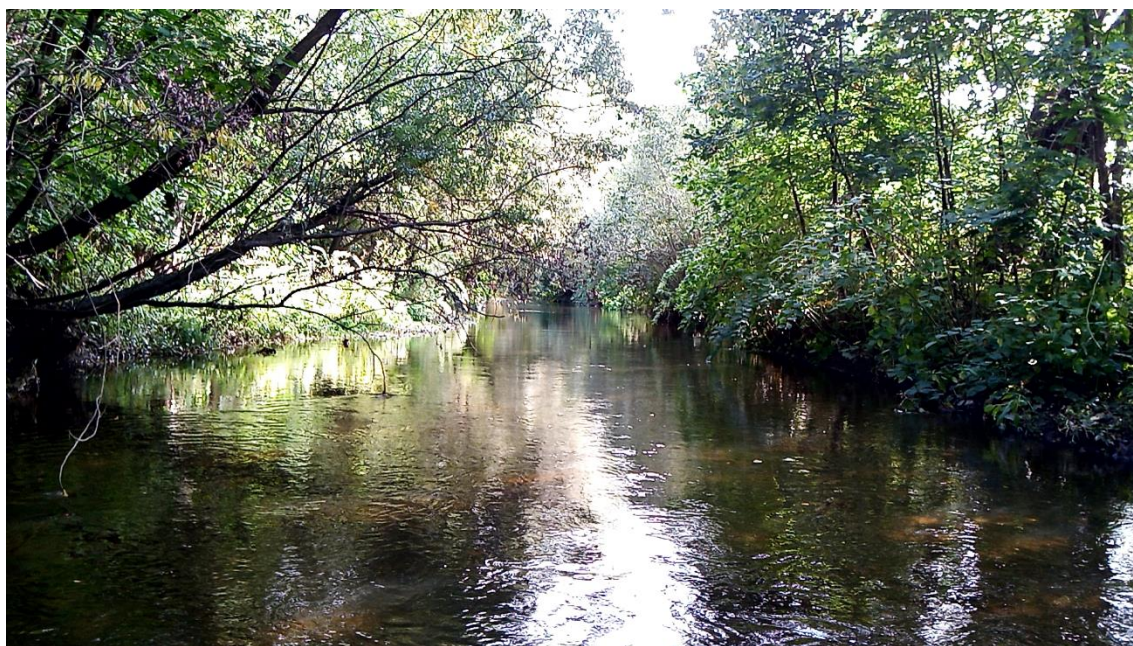
odhadů jsou bentické biofilmové bakterie v menších i větších tocích odpovědné i za více než 90% metabolismu celého říčního systému. V souvislosti s uhlíkem nelze opomenout, že biofilmy hrají velkou roli při přesunu uhlíku do vyšších trofických úrovní, jelikož je mohou spásat vodní bezobratlí. Jejich další významnou funkcí je zachytávání těžkých kovů, herbicidů a dalších škodlivých látek, čímž přispívají k procesu samočištění vody (Rulík et al., 2011).

Kromě zmíněných pozitivních účinků mají biofilmy i negativní účinky, a to hlavně vzhledem k zájmům člověka. Účastní se totiž biodeteriorizace, což je proces rozrušování či poškozování materiálu vlivem biologických činitelů. Nejvýznamnějšími příklady jsou snižování trvanlivosti konstrukčních materiálů, porůstání trupu lodí a tím zvýšené tření, ucpávání potrubí a omezování jejich účinnosti v nejrůznějších průmyslových odvětvích, účast na korozních dějích a jejich podpora, rozklad emulzí, kazivost a pokles kvality potravinářských a papírenských výrobků, a v neposlední řadě i poškozování polymerních materiálů (Rulík et al., 2011).

6 MATERIÁL A METODY

6.1 LOKALITA

Výzkum probíhal formou experimentu v Bystřici v úseku mezi Olomoucí a Bystrovany. Tok vody je zde poměrně klidný, průměrný roční stav činí 99 cm a šířka koryta zde dosahuje přibližně 8 metrů (ČHMÚ). Dno je pokryté hrubými sedimenty (obr. 1).



Obr. 1 Lokalita, kde probíhal experiment

6.2 INSTALACE A ODBĚR VZORKŮ

Nejprve jsme vybrali 5 nejužívanějších plastů – PET, PE, PP, PS a PVC. Zdrojovým materiálem pro tyto plasty byla PET lahev, neprodyšně uzavíratelný pytlík (PE), termokelímek (PS), balení sніdaňových cereálií (PP) a látka určená k výrobě pláštěnky (PVC). Z těchto materiálů jsme nastříhali dohromady 180 proužků, tedy 36 od každého druhu plastu. Všechny proužky měly shodnou velikost povrchu 800 mm². Následně jsme ze sklovláknové síťoviny ušili 60 pytlíků a do každého vložili 3 proužky od jednoho druhu plastu. 5 pytlíků, každý s jiným druhem plastu, jsme k sobě spojili železným kroužkem. Pomocí zeleného kroužku jsme pytlíky posléze připevnili k odolné prádelní šňůře. Těchto šňůr po 5 pytlících jsme měli celkem 12. V dalším kroku jsme do dna řeky zapustili dvě zelené tyče, jednu do proudnice a druhou blíže ke břehu, a ke každé přivázali

6 prádelních šňůr. Nakonec jsme k železným tyčím přidali datalogery, které v pravidelných intervalech měřily teplotu vody.

Prádelní šňůry s pytlíky jsme do Bystřice umístili 27. 7. a od tohoto data jsme vždy přibližně po měsíci vytáhli jednu šňůru od tyče v proudnici a jednu od příbřežní tyče. Celkem bylo plánováno 6 odběrů z každé podlokality, v důsledku vysokých průtoků Bystřicí během povodňového stavu ve 14. 10. však došlo k výrazným změnám v morfologii dna, jejímž výsledkem byla ztráta dvou datalogerů a poloviny exponovaných vzorků. Finálně jsme tedy měli k dispozici 30 pytlíků z původních 60. Bezprostředně po vytáhnutí z vody jsme vzorky vložili do PE sáčků a co nejrychleji uložili do mrazícího boxu.

6.3 KVANTITATIVNÍ STANOVENÍ VÝVOJE BIOFILMŮ

Po skončení terénní části experimentu jsme pomocí Duboisovy metody provedli laboratorní analýzu. Duboisova kolorimetrická metoda pro zjištění neutrálních sacharidů (Dubois et al., 1957) je založená na dehydrataci cukrů kyselinou sírovou a následní kondenzaci vzniklého furfuralu či 5-hydroxyfurfuralu s fenolem za vzniku barevných kondenzačních produktů (Valasová, 2017). Prvním krokem je vytvoření kalibrační křivky, v našem případě pro D-glukózu. V druhém kroku jsme plastové proužky nejprve důsledně opláchli proudem destilované vody, abychom z nich odstranili veškeré nečistoty a zůstal nám na nich pouze biofilm. Omyté proužky jsme následně opatrně vkládali do připravených zkumavek. Do zkumavek jsme nalili 1 ml 5% roztoku fenolu a 5 ml koncentrované kyseliny sírové, protřepali je a nechali 20-30 minut odstát. Nakonec jsme část jejich obsahu nalili do skleněných kyvet a proti blanku změřili absorbanci. Absorbanci jsme měřili při 490 nm pomocí dvoupaprskového spektrofotometru Cecil z řady Aquarius. Kromě vzorků z Bystřice jsme stejným způsobem pro kontrolu, zda je Duboisova metoda vhodná též pro biofilmy na plastových substrátech, analyzovali i vzorky, ve kterých byly pouze samotné proužky zdrojových materiálů, bez přítomnosti biofilmů. Naměřené absorbance jsme pomocí kalibrační křivky převedli na koncentrace sacharidů a koncentrace sacharidů jsme nakonec převedli na jednotku plochy ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$).

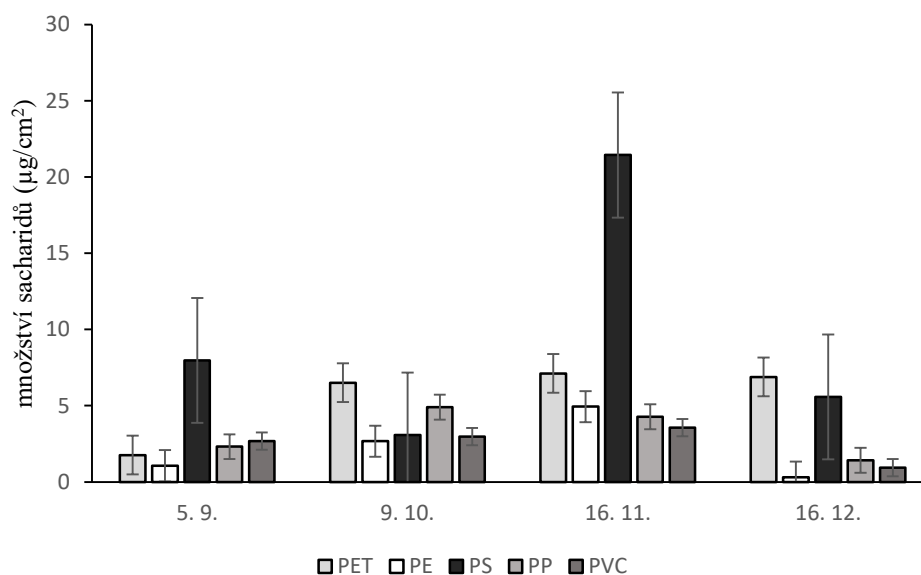
7 VÝSLEDKY

7.1 VLIV DUBOISOVY METODY NA VÝSLEDKY

Během reakcí mezi 5 % fenolem, koncentrovanou kyselinou sírovou a plastovými proužky docházelo k částečnému či úplnému rozpouštění těchto plastových substrátů. Ať už během degradačních procesů vznikaly jakékoli produkty, na absorbanci jednoznačně vliv měly. Po změření absorbance vzorků, ve kterých byly pouze plasty bez biofilmů, jsme po přepočtu zjistili, že PS přidává k výsledkům 8,12, PET 4,09, PP 4,03, PVC 3,90 a PE 2,20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Abychom měli výsledky měření vzorků přesné a bez ovlivnění, je od nich potřeba tyto hodnoty odečíst.

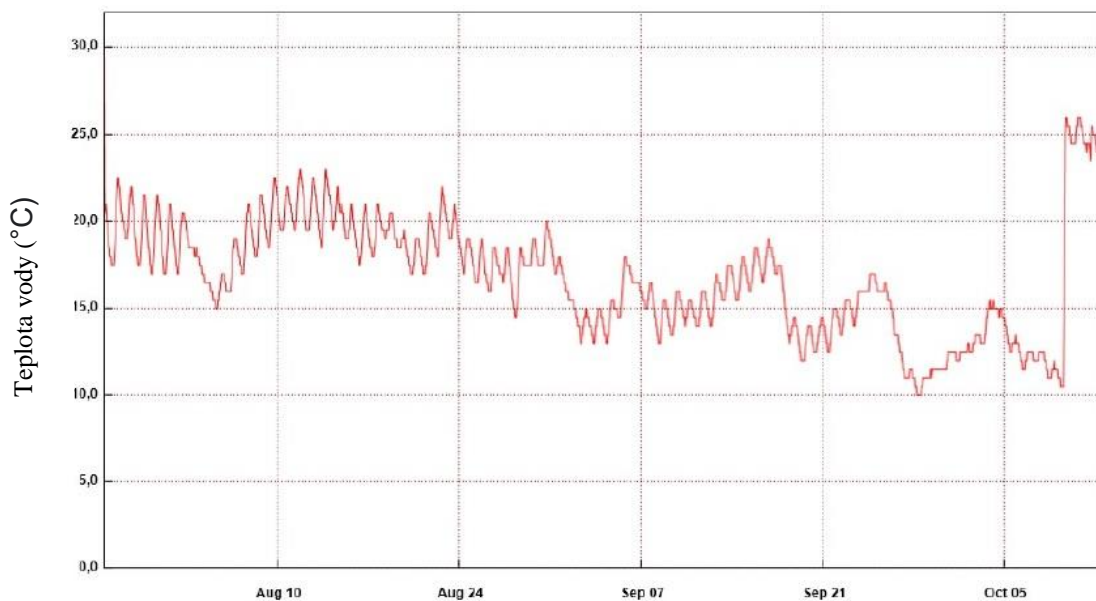
7.2 VÝVOJ BIOFILMŮ V PRŮBĚHU ČASU

Jak již bylo zmíněno, do Bystřice jsme plasty umístili na konci července a již v průběhu srpna se na nich vytvořily biofilmy. Během září došlo k největšímu biofilmovému nárůstu, množství přítomných cukrů se za tento měsíc více než zdvojnásobilo. V srpnu se množství cukrů i nadále zvyšovalo, ale už jen velmi zpozdvolna. Od listopadu do prosince se množství biofilmů naopak snížilo (obr. 2).



Obr. 2 Vývoj biofilmů v čase. Rychlost růstu biofilmů nebyla konstantní. Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku (SD).

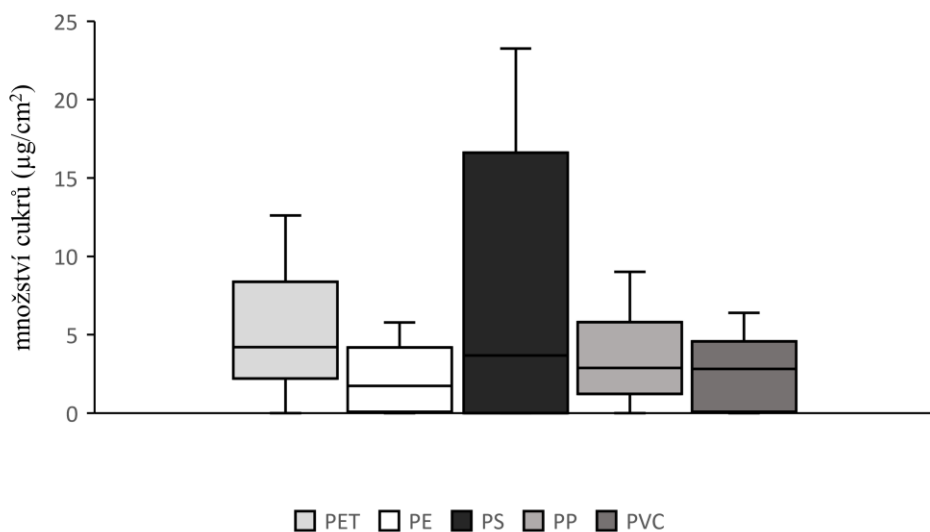
Údaje z dataloggerů ukazují, že teplota vody postupně klesala od červencových 20 stupňů až ke 12 stupňům na začátku října (obr. 3). Další data o teplotě vody chybějí z výše uvedených důvodů ztráty dataloggerů. Průměrná teplota vzduchu byla v červenci na území Olomouckého kraje 16,9, v srpnu 16,5, v září 13, v říjnu 8,2, v listopadu 2,7 a v prosinci -1,3°C. Lze očekávat, že teplota vody tento klesající trend sledovala.



Obr. 3 Vývoj teploty vody od 27. 7. do 9. 10. Mezi červencem a říjnem teplota znatelně poklesla. Prudký nárůst teploty na konci grafu je okamžikem, kdy jsme datalogger z vody vytáhli.

7.3 VÝVOJ BIOFILMŮ NA RŮZNÝCH TYPECH PLASTŮ

Nejvíce neutrálních sacharidů jsme zaznamenali u PS. Podstatně menší množství cukrů odhalila laboratorní analýza u PET, jediného z námi studovaných plastů, který nemá v hlavním řetězci výhradně C-C vazby. Přibližně stejně velké množství biofilmů se nacházelo u PE, PP a PVC. Nejvíce variabilní výsledky (směrodatnou odchylku) měl PS, naopak nejkonzistentnější výsledky jsme získali u PE (obr. 4).



Obr. 4 Rozdílné množství biofilmů na jednotlivých plastech. Množství biofilmů se odvíjí od typu plastového substrátu. Vousy boxplotu označují maxima a minima naměřených hodnot. Horizontální čáry představují aritmetický průměr.

8 DISKUZE

V interakcích mezi plasty a biofilmy je stále mnoho otazníků, především co se týče sladkovodních prostředí. V této práci jsme zjistili, že rychlost růstu biofilmů na plastových substrátech nebyla v průběhu času na námi sledované lokalitě konstantní, že se rychlost růstu lišila mezi jednotlivými druhy plastů a že Duboisova metoda není nejvhodnější metodou pro studium této problematiky.

Rychlost růstu

Rychlost přírůstku biofilmů nebyla každý měsíc stejná. Faktorem, který zde hrál významnou roli, byla nejspíše teplota vodního prostředí.

Teplota patří mezi nejdůležitější charakteristiky vody, neboť jako základní fyzikální veličina přímo i nepřímo ovlivňuje další fyzikální a chemické vlastnosti vody, například rozpustnost kyslíku (Chaloupková, 2016).

Během měsíce srpna se teplota vody pohybovala kolem 18°C. Kombinace menšího množství rozpuštěného kyslíku, podstavu vody a malého množství transportovaných organických látek, mohla výrazně omezit rozvoj biofilmových společenstev. V září se hladina vody zvýšila na běžnější úroveň a její teplota klesla na 15°C, v důsledku čehož se množství biofilmů více než zdvojnásobilo. Za jen malý přírůstek z období mezi 9. 10. a 16. 11. může nejspíše říjnová povodeň. Během velkých průtoků mohou být bakterie společně s polysacharidovou maticí zcela odstraněny až na substrát (Rulík et al., 2011). Prosincová průměrná teplota vzduchu byla níže než stupeň pod nulou (ČHMÚ), s čímž souvisí i nízká teplota vody. Je pravděpodobné, že mohla za značný úbytek biofilmů, který jsme zaznamenali.

Biofilmové rozdíly mezi plasty

Naměřená množství neutrálních sacharidů se na jednotlivých plastových materiálech lišila. Nejvíce cukrů jsme naměřili na PS, méně na PET a ještě méně na PP, PVC a nejméně na PE. Je zajímavé, že toto pořadí zároveň odpovídá i pořadí jejich rychlosti degradace. Nejrychleji degraduje PS, konkrétně PS pěna, která podle studie (Meekum & Kenharaj, 2002) již za 6 měsíců zdegraduje z původní molekulové hmotnosti 140 000 na pouhých 20 000. Rychle degradují i PET lahve, jejich poločas rozpadu je v mořském prostředí za vhodných podmínek pouze 2,3 roku. PP krabičky mají poločas rozpadu v řádu několika desítek let. Výrobky z nízkohustotního PE (LDPE) obvykle degradují jen

pomalou. Za vhodných podmínek mají poločas rozpadu nanejvýš 5,5 roku, ale pokud jsou mimo účinky UV záření, může se vyšplhat až k tisícům let. Nejhůře rozložitelným je PVC, který je sice velmi citlivý k UV záření, ale podle studie zmíněné v metaanalýze (Chamas et al., 2020) na něm nebyly patrné žádné známky degradace ani po 32 letech. Zároveň je PVC velmi odolné účinkům biodegradace, protože obsahuje atomy chloru.

Duboisova metoda

Duboisova metoda se ukázala jako nepříliš vhodná pro studium biofilmů na plastových materiálech, jelikož během jejího použití dochází k rozpouštění plastového substrátu a ovlivnění absorbance při potřebné vlnové délce 490 nm. Toto ovlivnění jde sice odstranit změřením vzorků bez biofilmů a odečtením těchto hodnot od hodnot naměřených při měření vzorků s biofilmy, ale je otázkou, zda je dostačující a nedochází zde i k jinému, doposud neodhalenému ovlivnění.

Výhled do budoucna

Budoucí výzkumy by měly zaměřit svoji pozornost na možnou souvislost mezi trváním doby degradace syntetických polymerů a množstvím přítomného biofilmu. Zajímavým výzkumem by mohlo být i porovnávání množství biofilmů na plastových substrátech v sedimentech a volně ve vodním sloupci. Duboisova metoda je sice poměrně rychlá, levná a nenáročná, ale přesto kvůli určitému zkreslení absorbancí není pro měření biofilmů na plastech nejvhodnější a mělo by se tedy její použití na studium této problematiky zvážít.

9 ZÁVĚR

V teoretické části této práce jsme si nejprve charakterizovali plasty a seznámili jsme se s jejich členěním a hlavními zástupci, následně jsme se věnovali možnostem degradace a nakonec jsme se dozvěděli něco o biofilmech.

Náplní druhé poloviny práce byl terénní experiment, ve kterém jsme měřili množství cukrů na plastech inkubovaných v říčním korytě. Zjistili jsme, že biofilmy neporůstají plastové substráty konstantní rychlostí, že různé plasty porůstají různě rychle a že Duboisova metoda, kterou jsme použili, není pro studium biofilmů na plastech nejvhodnější metodou.

10 LITERATURA

Arthur, C., J. Baker and H. Bamford (eds). 2009. Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects and Fate of Microplastic Marine Debris. Sept 9-11, 2008. NOAA Technical Memorandum NOS-OR&R-30.

Battin TJ, Besemer K, Bengtsson MM, Romani AM, Packmann AI. The ecology and biogeochemistry of stream biofilms. *Nat Rev Microbiol*. 2016 Apr;14(4):251-63. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.15>.

ČHMÚ, retrieved in 2021, <https://www.chmi.cz>

DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>

Eerkes-Medrano, D., Thompson, R. C., & Aldridge, D. C. (2015). Microplastics in freshwater systems: A review of the emerging threats, identification of knowledge gaps and prioritisation of research needs. *Water Research*, 75, 63–82. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.02.012>

Eubeler, J. P., Zok, S., Bernhard, M., & Knepper, T. P. (2009). Environmental biodegradation of synthetic polymers I. Test methodologies and procedures. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 28(9), 1057–1072. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.06.007>

Free, C. M., Jensen, O. P., Mason, S. A., Eriksen, M., Williamson, N. J., & Boldgiv, B. (2014). High-levels of microplastic pollution in a large, remote, mountain lake. *Marine Pollution Bulletin*, 85(1), 156–163. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.001>

Gewert, B., Plassmann, M. M., & MacLeod, M. (2015). Pathways for degradation of plastic polymers floating in the marine environment. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 17(9), 1513–1521. <https://doi.org/10.1039/c5em00207a>

Chalmin, P. 2019. The history of plastics: from the Capitol to the Tarpeian Rock. *Field actions Science Reports* 19:6-11

Chamas, A., Moon, H., Zheng, J., Qiu, Y., Tabassum, T., Jang, J. H., Abu-Omar, M., Scott, S. L., & Suh, S. (2020). Degradation Rates of Plastics in the Environment. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(9), 3494–3511. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b06635>

Chanda, M. (2018). *Plastics Technology Handbook, Fifth Edition*. Taylor & Francis.

Chloupková, R. Analýza teplotního režimu vodních toků a jeho vlivu na společenstva makrozoobentosu. Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, 2016. 57 s. Vedoucím diplomové práce Mgr. Karel Brabec, Ph.D.

Klein S., Dimzon I.K., Eubeler J., Knepper T.P. (2018) Analysis, Occurrence, and Degradation of Microplastics in the Aqueous Environment. In: Wagner M., Lambert S. (eds) Freshwater Microplastics. The Handbook of Environmental Chemistry, vol 58. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-61615-5_3

Kooi M., Besseling E., Kroeze C., van Wezel A.P., Koelmans A.A. (2018) Modeling the Fate and Transport of Plastic Debris in Freshwaters: Review and Guidance. In: Wagner M., Lambert S. (eds) Freshwater Microplastics. The Handbook of Environmental Chemistry, vol 58. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-61615-5_7

Kühn S., Bravo Rebolledo E.L., van Franeker J.A. (2015) Deleterious Effects of Litter on Marine Life. In: Bergmann M., Gutow L., Klages M. (eds) Marine Anthropogenic Litter. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_4

Meekum, U.& Kenharaj, R.. 2002. Comparative study of polystyrene foam degradation in the open-air and artificial weathering exposure. *The Arabian Journal for Science and Engineering. Section C, Theme issues* □ Vol. 27, no. 1C(s), pp.25-32.

Mitra, A., & Mukhopadhyay, S. (2016). Biofilm mediated decontamination of pollutants from the environment. *AIMS Bioengineering*, 3(1), 44–59. <https://doi.org/10.3934/bioeng.2016.1.44>

Oxo-Degradables. (n.d.). European Bioplastics e.V. Retrieved April 6, 2021, from <https://www.european-bioplastics.org/bioplastics/standards/oxo-degradables/>

Plastics Europe (2020). *Plastics – the Facts 2020*. Available at: www.plasticseurope.org, retrieved in 2021

RULÍK, Martin. *Mikrobiální biofilmy*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2011. ISBN 978-80-244-2747-8.

Sivan A. New perspectives in plastic biodegradation. *Curr Opin Biotechnol*. 2011 Jun;22(3):422-6. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.01.013>

Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., & Ahmed, S. (2008). Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*, 26(3), 246–265. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.12.005>

The Editors of Encyclopaedia Britannica. (n.d.-b). *polyethylene terephthalate* / *Structure, Properties, & Uses*. Encyclopedia Britannica. Retrieved March 24, 2021, from <https://www.britannica.com/science/polyethylene-terephthalate>

Valasová, D. Analýza biologicky aktivních látek v oleji z meruňkových jader. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 67 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Andrea Hároniková, Ph.D..

van Sebille, E., Wilcox, C., Lebreton, L., Maximenko, N., Hardesty, B. D., van Franeker, J. A., Eriksen, M., Siegel, D., Galgani, F., & Law, K. L. (2015). A global inventory of small floating plastic debris. *Environmental Research Letters*, *10*(12), 124006. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/10/12/124006>

Wagner, M., Scherer, C., Alvarez-Muñoz, D. et al. Microplastics in freshwater ecosystems: what we know and what we need to know. *Environ Sci Eur* **26**, 12 (2014). <https://doi.org/10.1186/s12302-014-0012-7>

Zettler, E. R., Mincer, T. J., & Amaral-Zettler, L. A. (2013). Life in the “Plastisphere”: Microbial Communities on Plastic Marine Debris. *Environmental Science & Technology*, *47*(13), 7137–7146. <https://doi.org/10.1021/es401288x>