

Mladi za napredek Maribora 2016

33. srečanje

BIOPLASTIKA IZ ŠKROBA KOT OPTIČNI SENZOR ZA PRISOTNOST AMONIJAKA V MESU

Raziskovalno področje: BIOTEHNOLOGIJA, KMETIJSTVO, ŽIVILSTVO

INOVACIJSKI PREDLOG

Prostor za nalepko

Avtor: STAŠA GEJO
Mentor: ZDENKA KEUC
Šola: II. GIMNAZIJA MARIBOR

Maribor, Januar 2016

POVZETEK

Cilj inovacijskega predloga je bil razviti optični senzor, ki bi lahko bil uporaben pri kontroli prisotnosti amonijaka v (predelanem) mesu. Prototip senzorja, ki je bil razvit je biorazgradljiv, enostaven za uporabo in dober pripomoček za interpretacijo rezultatov meritev. S pomočjo poskusov je bila identificirana škrobna bioplastika, ki je, glede na trdoto, elastičnost in prozornost, najbolj primerna za vgradnjo kislinsko baznega indikatorja. To je bila bioplastika, pripravljena iz krompirja (ročna ekstrakcija škroba) plastificirana z ureo (sečnino). Razlike med plastifikatorji niso bile tako odločilne za oceno kakovosti plastike, kot izvorom škroba. Poprečna hitrost razpada plastike (kislina hidroliza je bila med 2,46% /h (CG) do 0,8% na uro (AG). Vključitev bromtimol modrega (indikatorja) v polimerno strukturo škrobne bioplastike, se je izkazala kot uspešna pri vseh treh koncentracijah indikatorja (0,4%, 0,2% in 0,1%), ter pri vseh koncentracijah amonijaka (1,0%, 0,50%, 0,05% in 0,01%). Odzivni čas (sprememba barve) je v izdelanem prototipu 1 min. Senzor je reverzibilen in omogoča večkratno uporabo. Potrebna je še njegova kalibracija ter določitev najnižje detekcijske koncentracije.

VSEBINA

POVZETEK	2
KAZALO GRAFOV	4
KAZALO PREGLEDNIC	4
KAZALO SLIK.....	5
OKRAJŠAVE UPORABLJENE V NALOGI	5
1 UVOD	7
1.1 CILJI INOVACIJSKEGA PREDLOGA	9
1.2 RAZISKOVALNO VPRAŠANJE	9
1.3 HIPOTEZE	10
2 TEORETIČNO OZADJE	11
2.1 ŠKROB	11
2.1.1 KEMIJSKI TEST ZA ŠKROB	12
2.2 UPORABA ŠKROBA ZA PROIZVODNJO BIOPLASTIKE.....	12
2.3 PLASTIFIKATORJI.....	13
2.4 DOVOLJENE VREDNOSTI AMONIJAKA V ŽIVILIH.....	13
2.5 OPTIČNI SENZORJI RAZVITI ZA NADZOR KVALITETE HRANE	14
2.5.1 OSNOVE ZA RAZVOJ ENOSTAVNEGA, PRENOSLJIVEGA OPTIČNEGA SENZORJA	15
3 PRAKTIČNI DEL.....	17
3.1 IZDELAVA BIOPLASTIKE IZ ŠKROBA IN RAZVOJ KVALITATIVNIH KRITERIJEV ZA OCENJEVANJE NJENIH FIZIKALNIH LASTNOSTI.....	17
3.2 OPIS DELA.....	17
3.2.1 EKSTRAKCIJA ŠKROBA IZ SUROVEGA KROMPIRJA.....	17
3.2.2 SINTEZA BIOPLASTIKE NA OSNOVI ŠKROBA	18
3.2.3 KRITERIJ ZA OCENJEVANJE KAKOVOSTI PRIDOBLENE BIOPLASTIKE	19
3.3 HIDROLIZA BIOPLASTIKE TER VKLJUČITEV KISLINSKO-BAZNEGA INDIKATORJA	20
3.3.1 HIDROLIZA BIOPLASTIKE	20
3.4 IZDELAVA OPTIČNEGA SENZORJA ZA AMONIYAK	21
3.4.1 PRIPRAVA BIOPLASTIKE Z VKLJUČENIM INDIKATORJEM	22
3.4.2 PREISKAVA ODZIVA IN MOŽNOSTI PONOVNE UPORABE (REVERZIBILNOSTI) SENZORJA.....	22
4 REZULTATI.....	23
4.1 MEHANSKE LASTNOSTI SINTEZIRANE ŠKROBNE BIOPLASTIKE	23
4.2 HITROST HIDROLIZE	25
4.2. 1 IZRAČUN NAPAK.....	30
4.3 ODZIVNOST BIOPLASTIKE Z VKLJUČENIM INDIKATORJEM	31

5 TESTIRANJE OPTIČNIH (BIOPLASTIČNIH) SENZORJEV NA REALNIH VZORCIH	32
5.1 REVERZIBILNOST OPTIČNIH SENZORJEV IN MOŽNOST NJIHOVE VEČKRATNE UPORABE	33
6 RAZPRAVA.....	34
ZAKLJUČKI	37
DRUŽBENA ODGOVORNOST	39
UPORABLJENA LITERATURA.....	40
ČLANKI	40
KNJIGE, PUBLIKACIJE	41
INTERNETNI VIRI.....	41
PRILOGA 1.....	43
PRILOGA 2.....	44
PRILOGA 3.....	45

KAZALO GRAFOV

GRAF 1 – VZORCI BIOPLASTIKE RAZVRŠČENI GLEDE NA VIŠINO OCENE PO KRITERIJSKEM KLJUČU	24
GRAF 2 – PRIMERJAVA BIOPLASTIK GLEDE NA VRSTO UPORABLJENGA ŠKROBA.....	25
GRAF 3- PRIMERJAVA BIOPLASTIK GLEDE NA VRSTO UPORABLJENGA PLASTIFIKATORJA.....	25
GRAF 4 – UMERITVENA PREMICA ZA ŠKROB.....	26
GRAF 5 – SPREMINJANJE ABSORBNACE (PRI 410.4 NM) PO ČASU ZA »AG BIOPLASTIKO«	27
GRAF 6- SPREMINJANJE KONCENTRACIJA ŠKROBA PO ČASU (KISLINSKA HIDROLIZA) ZA »AG« BIOPLASTIKO.....	28
GRAF 7 – PRIMERJAVA HITROSTI KISLINSKE HIDROLIZE.....	30

KAZALO PREGLEDNIC

PREGLEDNICA 1 - MEJNE VREDNOSTI AMONIJSKIH SPOJIN V SPECIFIČNIH PREHRAMBENIH IZDELKIH (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, CDC, TP126-AMMONIA, 2005; FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA), 2015).....	14
PREGLEDNICA 2- SPREMINJANJE BARV BROMTIMOL MODREGA PRI RAZLIČNIH PH VREDNOSTIH.....	16
PREGLEDNICA 3 – RAZMERJA DODANIH PLASTIFIKATROV, VODE IN HCL.....	18
PREGLEDNICA 4 - KISLINSKA HIDROLZA BIOPLASTIKE (OZNAČITEV EPRUVET).....	20
PREGLEDNICA 5– BIOPLASTIKA Z VKLJUČENIM INDIKATORJEM.....	22
PREGLEDNICA 6 – OCENA MEHANSKIH LASTNOSTI SINTEZIRANE BIOPLASTIKE	23
PREGLEDNICA 7 – PODATKI ZA UMERITVENO PREMICO	26
PREGLEDNICA 8 – KISLINSKA HIDROLIZA »AG« BIOPLASTIKE	27
PREGLEDNICA 9 - KISLINSKA HIDROLIZA »CG« BIOPLASTIKE	28
PREGLEDNICA 10 - KISLINSKA HIDROLIZA »AU« BIOPLASTIKE.....	28
PREGLEDNICA 11- KISLINSKA HIDROLIZA »CU« BIOPLASTIKE.....	29

PREGLEDNICA 12 – PRIMERJAVA HITROSTI KISLINSKE HIDROLIZE RAZLIČNIH TIPOV ŠKROBNE BIOPLASTIKE	29
PREGLEDNICA 13 – OCENA NAPAK MERITEV	30
PREGLEDNICA 14– ČAS, KI JE POTREBEN ZA SPREMEMBO BARVE INDIKATORJA	31
PREGLEDNICA 15 – ČAS POTREBEN ZA POVRNITEV BARVE OPTIČNEGA SENZORJA (UPORABA 9% KISA)	34
PREGLEDNICA 16 - ČAS POTREBEN ZA POVRNITEV BARVE OPTIČNEGA SENZORJA (NA ZRAKU)	34

KAZALO SLIK

SLIKA 1 - AMILOZA (LEVO) IN AMILOPEKTIN (DESNO) (Wikipedia, 2015).....	11
SLIKA 2 - ENCIMSKA HIDROLIZA ŠKROBA (Chandra, Rustgi, 1998).....	12
SLIKA 3 - IODO-ŠKROBOV KOMPLEKS (WIKIPEDIA, 2015	12
SLIKA 5 – POZITIVEN FEHLING TEST (DESNO) ZA ENCIMSKO HIDROLIZO BIOPLASTIKE	30
SLIKA 6 – VZORCI MESA (JETRA, MLETA GOVEDINA IN MLETO SVINJSKO MESO (OD LEVE PROTI DESNI))	32
SLIKA 7 – BARVNA SPREMEBA »AG« OPTIČNEGA SENZORJA	32
SLIKA 8 – »AG« SENZOR (LEVO V SVINJSKEM MESU, TRETIRANEM Z AMONIJAKOM IN DESNO V SVINJSKEM MESU, KI NI BIL IZPOSTAVLJEN AMONIJAKU)	33
SLIKA 9 – »CG« SENZOR (LEVO V JETRIH, IZPOSTAVLJENIH AMONIJAKU IN DESNO V JETRIH, KI NISO BILA IZPOSTAVLJENA AMONIJAKU)	33
SLIKA 10 - (LEVO GOVEDINA, TRETIRANA Z AMONIJAKOM IN DESNO GOVEDINA, KI NI BILA IZPOSTAVLJENA AMONIJAKU)	33

OKRAJŠAVE UPORABLJENE V NALOGI

A – ČISTI ŠKROB – SIGMA ALDRICH

B – COMERCIALNI KROMPIRJEV ŠKROB - GUSTIN®

C – EKSTRAHIRANI ŠKROB IZ SUROVEGA KROMPIRJA

AG – ČISTI ŠKROB Z GLICEROLOM

AU – ČISTI ŠKROB Z UREO

AA – ČISTI ŠKROB Z ASKORBINSKO KISLINO

BG – COMERCIALNI ŠKROB Z GLICEROLOM

BU – COMERCIALNI ŠKROB Z UREO

BA – COMERCIALNI ŠKROB Z ASKORBINSKO KISLINO

CG – EKSTRAHIRANI ŠKROB Z GLICEROLOM

CU – EKSTRAHIRANI ŠKROB Z UREO

CA – EKSTRAHIRANI ŠKROB Z ASKORBINSKO KISLINO

H – TRDOTA BIOPLASTIKE

E – ELASTIČNOST BIOPLASTIKE

T – TRANSPARENTNOST BIOPLASTIKE

BTB – BROMTIMOL MODRO INDIKATOR

1 UVOD

Živimo času, ko znanstveniki vse pogosteje opozarjajo, da smo dosegli robne zmožnosti planeta na katerem živimo. Nevzdržno izkoriščanje naravnih virov in grobi posegi v naravno okolje, se nam vračajo v obliki »100-letnih vod«, suše, podnebnih sprememb in odražajo na zdravju prebivalstva. V nalogi bo predstavljen en vidik tega problema, ki zajema tudi živilsko industrijo, to je embalažo za hrano ter procesiranje manj kakovostne hrane.

Samo v letu 2013 smo na svetu pridelali 300.000.000 ton plastike (pretežno iz neobnovljivih virov); od leta 2008 dalje se letna proizvodnja povečuje za skoraj 10.000.000 ton/leto (Statista, 2015)¹. V takem tempu bomo na Zemlji do leta 2030 pridelali 6.460.000.000 ton plastike. Od te plastike 19% pripada embalaži (večinoma za enkratno uporabo) (Eurostat, 2015), za kar trenutno porabimo 50 milijon ton nafte (Statista, 2015).

Danes je večina embalaže za živila še vedno izdelana iz sintetičnih polimerov materialov, ki jih mikroorganizmi ne morejo razgraditi² (Ransford, 2008). Poleg tega del takšne plastike lahko predstavlja vir sproščanja organskih onesnažil v okolje in vstopanje slednjih v prehranjevalno verigo. Ker plastiko uporabljamo v tako velikih količinah »še« v zadnjih desetletjih, nam vsi vplivi ter potencialne nevarnosti niti še niso znani. Vendar je dejstvo, da v naše okolje vstopa velika količina snovi, ki jih v osnovi tam nikdar ni bilo in nanje skozi evolucijo nismo bili prilagojeni (Šprajcar s sod., 2012). Zato je ena od možnih alternativ uporaba t.i. biorazgradljive plastike, ki je narejena iz obnovljivih (naravnih) surovin, kot so različni tipi ogljikovih hidratov (škrob, celuloza, polihidroksi alkanoati, itd.), rastlinskih olj (Šprajcar s sod., 2012) ali polimlečne kisline (polilaktidi). Ta alternativa ni novost na trgu, saj se biorazgradljive nakupovalne vrečke (npr. iz krompirja) že nekaj časa uporabljajo, kot tudi embalaža za pakiranje biološko pridelane hrane.³

¹ Več informacij v Prilogi 2.

² Biorazgradljivost pomeni, da pri razgradnji takšne plastike nastaneta le CO₂ in H₂O. Proces razgradnje se meri s standardiziranimi testi (Vaverkova et al., 2011).

³ Vendar s tem primerom ne želimo povedati, da podpiramo razvoj v smeri, da bi vso plastiko naredili iz obnovljivih virov. S tem bi nam zagotovo zmanjkalo obdelovalnih površin in verjetno tudi hrane. Zato je primarne vire, kot so škrob, sladkor in olja, bolje nadomestiti sekundarnimi, kot so les ali odpadni biološki materiali (npr. kostno-mesna moka, industrijski odpadki iz živilskopredelovalne industrije in podobno). Taka uporaba bi pomenila tudi zmanjšanje obremenitve okolja (avtor).

Izziv za pripravo inovacijskega predloga je bila novica, da se tako v ZDA kot v Evropi prodaja t.i. goveja masa za mletje, ki predstavlja mešanico govejih ostankov, kravjih vezivnih tkiv in drugih odpadnih materialov pri predelavi mesa, ki jih nato obdelajo z raztopino amonijaka, zato, da uničujejo potencialno škodljive mikroorganizme (npr. Salmonelo ali E. coli). Ta zmes se nato primeša v tradicionalne mesne proizvode, kot je mleto meso in prodaja kot običajni mesni izdelek. Mesni produkt je znan pod imenom »*Pink Slime*« ali »*rožnata sluz*« (Guardian, 2012; Avila, 2012; Geller, 2012).⁴ Od leta 2012 dalje se tako v ZDA kot v Veliki Britaniji med strokovnjaki in javnostjo bijejo bitke ali je »*pink slime*« škodljiv ali ne. Morda je bolj na mestu vprašanje ali je primeren za prehrano ljudi in seveda ali se mu ne bi dalo izogniti vsaj v prehrani otrok.

V Sloveniji je z namenom zagotavljanja uravnoteženih jedilnikov Ministrstvo za zdravje že leta 2005 sprejelo Smernice zdravega prehranjevanja v vzgojno-izobraževalnih ustanovah. V letu 2008 pa tudi Praktikum zdravega prehranjevanja z jedilniki. Oba dokumenta sta namenjena zagotavljanju celovitega in zdravega prehranjevanja šolajoče mladine, s poudarkom na upoštevanju kakovosti živil tako pri nabavi kot tudi njihovi pripravi. Na tej osnovi je bil izdan tudi Priročnik z merili kakovosti za živila v VIZ ustanovah (2008). Priročnik žal ne vključuje meril kakovosti za živila, ki vsebujejo visoke deleže maščob, sladkorja, soli in aditivov, kamor »*rožnata sluz*« zagotovo sodi. Ker ima pri nakupu hrane tudi za potrebe šol. kuhinj še vedno glavna vloga cena živil, bi bilo povsem mogoče, da se »*rožnata sluz*« pojavi tudi v naših šol. kuhinjah. Ker je amonijak sredstvo za predelavo mesa, ni nujno, da je naveden na etiketi o pakiranem mesu (Pravilnik o splošnem označevanju predpakiranih živil, Ur.l.71/2000, člen.11).

Zato je bila **osnovna ideja tega inovacijskega predloga kreirati bioplastiko** iz krompirjevega škroba, ki bi:

- lahko bila indikator za prisotnost amonijaka v »svežem« mesu,
- biorazgradljiva,
- za večkratno uporabo.
- cenovno ugodna ter enostavna za interpretacijo rezultatov meritev.

⁴ Ministrstvo za kmetijstvo v ZDA dovoljuje nakup 3 milijonov kilogramov "sluza", ki je namenjen izključno za šolske malice in kosila (Knowles, 2013).

1.1 CILJI INOVACIJSKEGA PREDLOGA

Postavljeni so bili naslednji cilji:

1. S pomočjo poskusov izbrati najbolj ustrezno škrobno bioplastiko, ki bo primerna za razvoj optičnega⁵ senzorja za amonijak. V ta namen bo potrebno določiti kriterije primernosti (trdota, elastičnost in prozornost plastike).
2. Z uporabo amilaze iz slin in 1.0 M HCl preučiti hitrost kislinske hidrolize pridobljene bioplastike, z namenom določiti hitrost njene (naravne) razgradnje.
3. Razviti enostavni prototip »pametne bioplastike« (senzorja), ki bi lahko bila uporabljena za kontrolo prisotnosti amonijaka v (predelanem) mesu.

1.2 RAZISKOVALNO VPRAŠANJE

Ali lahko škrobna bioplastika deluje kot učinkovit indikatorski sistem za določanje amonijaka v (predelanem) mesu?

Da bi odgovorili na zgornje vprašanje moramo najprej ugotoviti:

1. Kako plastifikatorji, kot so glicerol, urea in askorbinska kislina vplivajo na zamreženost škroba?
2. Kako vir škroba (škrob iz surovega krompirja, čisti škrob (Sigma Aldrich) in komercialni škrob iz Gustin-a) vpliva na mehanske lastnosti bioplastike, kot so trdota, elastičnost in prozornost?
3. Kako hitro poteka hidroliza tako pridobljene plastike s pomočjo encimov (encimska hidroliza) in klorovodikove kisline (kislinska hidroliza)?
4. Ali je bromtimol modro, kot indikator, mogoče homogeno vključiti v sintetizirano bioplastiko?
5. Kako različne koncentracije amonijaka in bromtimol modrega vplivajo na čas barvne spremembe in senzorične lastnosti plastike?
6. Kakšna je natančnost in reverzibilnost tako pripravljenega senzorja?

⁵ Vidna sprememba barve senzorja,

1.3 HIPOTEZE

Hipoteza 1. Da bi dobili bioplastiko z optimalno trdoto, elastičnostjo in prozornostjo, potrebujemo močno zamrežen sistem, torej močne vezi med molekulami. Zato bomo za plastifikatorje izbrali glicerol, ureo in askorbinsko kislino, ki lahko s škrobom tvorijo vodikove vezi. Predvidevamo, da bo zaradi velikosti molekule in njene polarnosti, najboljši plastifikator glicerol.

Hipoteza 2. Izvor škroba in morebitna prisotnost nečistoč bodo vplivale na fizikalne lastnosti bioplastike. Zato Gustin, kot vir komercialnega škroba, ki vsebuje aditive, ne najboljše osnova za pripravo primerne polimernega nosilca za indikator. Ekstrahiran škrob iz krompirja in čisti krompirjev škrob predstavljata boljšo osnovo.⁶

Hipoteza 3. Bioplastika z najslabše povezanimi makromolekulami bo najlažje in najhitreje hidrolizirala.

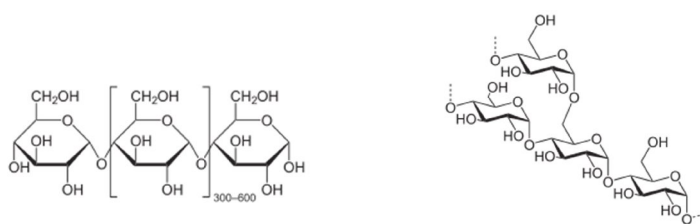
Hipoteza 4. Bromtimol modro (indikator) se bo z barvno spremembo, iz rumene v zeleno in nato v modro, odzval že pri zelo nizkih koncentracijah amonijaka, vendar ne bo reagiral z organskimi amini. Z višanjem koncentracija indikatorja ali škroba bo čas barvne spremembe bioplastičnega sensorja skrajšan.

⁶ Gustin smo izbrali zaradi njegove lahke dostopnosti (ni potrebna predpriprava) in cenovne dosegljivosti (opomba avtorja).

2 TEORETIČNO OZADJE

2.1 ŠKROB

Škrob je glukozni polimer, ki ga lahko dobimo iz različnih rastlin, recimo iz krompirja, riža ali koruze. Čisti škrob je bel prah, netopen v hladni vodi in alkoholu. Sestavljen je iz linearne amiloze in razvejanega amilopektina. Odvisno od rastline, škrob lahko vsebuje okrog 25% amiloze in 75% amilopektina (Brown in Poon, 2005)⁷. Osnovna gradbena enota je glukoza.



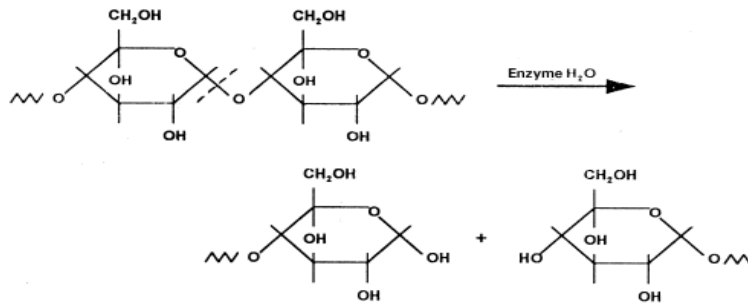
SLIKA 1 - AMILOZA (LEVO) IN AMILOPEKTIN (DESNO) (WIKIPEDIA, 2015).

Odvisno od položaja $-OH$ skupine na prvem ogljikovem atomu glukozne verige, je lahko konfiguracija vezave α ali β . α -1,4 glikozidno vez najdemo v škrobu, β -1,4 glikozidna vez v celulozi. Amiloza vsebuje α -1,4 glikozidne vezi, amilopektin pa α -1,6 glikozidne vezi (Stryer, Berg, Tymoczko, 2002).

Pri segrevanju škrob postane v vodi topen. Zrnca namreč pri tem nabreknejo in počijo, manjše molekule amiloze se izlužijo in tvorijo mrežo, ki ujame molekule vode. S tem se viskoznost poveča. Segrevanje škroba povzroča razpad vodikovih vezi in nastanek želatine.

Z uporabo ustreznega plastifikatorja se glukozne verige lahko še podaljšajo in močnejše povežejo, in s tem tvorijo trdni polimer (Šprajcar s sod., 2012). Pri razgradnji škrobnega polimera nastanejo okolju prijazne komponente, to so molekule glukoze (Chandra, Rustgi, 1998).

⁷Glikogen, rezerva glukoze pri živalih, je bolj razvejana varianta amilopektina (avtor)



SLIKA 2 - ENCIMSKA HIDROLIZA ŠKROBA (CHANDRA, RUSTGI, 1998)

Razpad glikozidnih vezi v škrobu se začne pri temperaturi 150°C, popoln razpad pa pri 250°C (Chandra, Rustgi, 1998). Hitrost hidrolize je višja, če so v raztopini prisotne kisline ali ustrezni encimi (amilaze).⁸

2.1.1 KEMIJSKI TEST ZA ŠKROB

Ko škrobu dodamo raztopino KI_3 , veriga amiloze tvori kompleks z jodidnimi ioni, ki so brezbarvni. Vijačnica amiloze obda I_3^- ione (slika 3) in nastane kompleks, ki absorbira svetlobo pri drugi valovni dolžini. Posledica tega je, da se barva raztopine spremeni iz brezbarvne v temno modro/vijolično (Brilliant Biology Student, 2014).



SLIKA 3 - IODO-ŠKROBOV KOMPLEKS (WIKIPEDIA, 2015)

2.2 UPORABA ŠKROBA ZA PROIZVODNJO BIOPLASTIKE

Segrevanje v vodi poruši kristalno škrobnato zgradbo in oblikuje amorfni amilopektin. Za popolno želatiniranje je potreben presežek vode, ki uničuje vijačno kristalno strukturo (Wen s sod., 1990). Voda ima dvojno vlogo pri želiranju škroba: poruši njegovo zrnato strukturo in deluje kot plastifikator (Vilpoux, Averous, 2004). Vendar to običajno ni dovolj. Da iz škroba dobimo termoplastični material, so potrebni dodatni plastifikatorji in dodatno segrevanje.

⁸ Kislinska hidroliza pomeni, da kislina napade glikozidni kisikov atom in razgradi glikozidno vezi. Takšen škrob se v prehrabni industriji lahko uporabi v povsod, kjer pričakujemo hitro želiranje, s kontrolirano strukturo in ohranjenimi elastičnimi lastnostmi (Lawal, 2005).

Plastifikatorji z hidrofilnimi lastnosti morajo biti prisotni v velikih količinah (Lourdin s sodel., 1999).

2.3 PLASTIFIKATORJI

Plastifikatorji so običajno nehlapne snovi, z nizko molekulsko maso, ki izboljšujejo fleksibilnost in uporabnost polimerov (Adeodato s sodel., 2011). Zunanji plastifikatorji vplivajo na polimerne verige, vendar niso vključeni v strukturo mreže niti vezani za polimer, tako da se pri izparevanju, migraciji in ekstrakciji lahko izgubijo. Notranji plastifikatorji pa so sestavni del polimerne strukture oz reagirajo s polimerom (Ma, Yu, 2004). Strokovna literatura navaja različne plastifikatorje, ki so imajo takšne lastnosti. To so glicerol, urea, formamid (Ma, Yu, 2004), sorbitol, citronska kislina, glikol in amino kisline (Smits s sodel., 2003). Najpogosteje uporabljen od naštetih je glicerol, saj prenese visoke temperature, je lahko dostopen in cenovno dosegljiv širšemu krogu upravnikov (Kaseem s sodel., 2012).

2.4 DOVOLJENE VREDNOSTI AMONIJAKA V ŽIVILIH

Amonijak in amonijevi ioni so znani kot naravne snovi, ki nastajajo v presnovnih procesih živih organizmov. Vendar seveda ne v neomejenih količinah, zato obstajajo omejitve vnosa amonijaka in amonijevih soli v predelani hrani. Nekatere mejne vrednosti so podane v Preglednici 1.

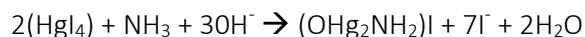
PREGLEDNICA 1 - MEJNE VREDNOSTI AMONIJSKIH SPOJIN V SPECIFIČNIH PREHRAMBENIH IZDELKIH (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, CDC, TP126-AMMONIA, 2005; FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA), 2015)

Hrana	Vir amonijevih soli (dovoljena delež; %)				
	NH ₄ Cl	(NH ₄) ₂ CO ₃	NH ₄ HCO ₃	NH ₃	NH ₄ H ₂ PO ₄
Slaščice	0,001	2,0	0,04 – 3,2	0,6 – 0,8	1,1
Oreščki in semena			0,04 – 3,2		
Začimbe	0,8				0,012
Želatina/pudingi		2,0		0,6 – 0,8	
Siri				0,6 – 0,8	
Prigrizki			0,04 – 3,2	ND*	
Predelana zelenjava			0,04 – 3,2		
Ostala predelana hrana			0,04 – 3,2		

*ND – Mejna vrednost ni določena

2.5 OPTIČNI SENZORJI RAZVITI ZA NADZOR KVALITETE HRANE

Nesslerjev reagent je snov, ki se še vedno uporablja za določitev majhnih količin amonijaka (1ppm) v hrani (Guček, 2015). V prisotnosti NH₃ se reagent obarva iz rumene v rjavordečo. Reagent ima nekaj pomanjkljivosti; barvna sprememba je odvisna od stopnje disperzije in reagent predstavlja sol živega srebra. Reakcijo Nesslerjevega reagenta z amonijakom predstavlja spodnja enačba kem. reakcije:



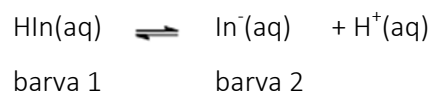
Da bi odstranili te pomanjkljivosti, sta Van Slyke in Hiller že leta 1933 razvila metodo z uporabo zmesi fenola in hipoklorita. Test je se je izkazal kot zelo občutljiv, vendar je z vidika

zdravju škodljivih snovi neprimeren za senzor, ki bi lahko imel potencial širše uporabe (Guček, 2015).

Vanderroost (2014) poroča o razvoju optičnega senzorja, ki je bil razvit z namenom, da se odzove na hlapne razgradne produkte, ki nastajajo pri mikrobiološkem in kemijskem kvarjenju hrane. Senzor, vključen v notranjost embalažnega materiala, nenehno meri stanje kakovosti zapakiranega proizvoda, od samega procesa pakiranja do skladiščenja v trgovini. Senzor je zaradi svoje cene in kompleksnosti posebej primeren za (vele)trgovce, vendar ni prenosljiv in zahteva optični čitalec ter zato usposobljenega tehnika.

2.5.1 OSNOVE ZA RAZVOJ ENOSTAVNEGA, PREOSLJIVEGA OPTIČNEGA SENZORJA

Ideja je bila ustvariti poceni in prenosljiv senzor, ki bo enostaven za uporabo in nedvoumen ter zanesljiv v svoji sporočilni vrednosti. Optični senzori običajno delujejo na podlagi kislinsko-baznih indikatorjev, ki zaradi disociacije, spremenijo barvo (spodnja enačba).



$$K_a = \frac{[\text{In}^-][\text{H}^+]}{[\text{HIn}]}$$

Osnovna ideja je kovalentno vezati primeren indikator v polimerno strukturo škroba, ki bi se barvno odzval na prisotnost amonijaka v preučevanem okolju. Pri izboru indikatorja smo upoštevali dejstvo, da se indikatorjeva ravnotežna konstanta mora ujemati s konstanto baze za amonijak, $pK_b = 4,74$ (IB Chemistry Data Booklet, 2015) ter, da je sprememba barve v območju, ki omogoča že zaznavo nizkih količin amonijaka.

Guček (2015) navaja, da so normalne pH vrednosti mesa klavnih živali med 5,4 – 5,8 in piščančjega mesa med 5,6 do 6,5. Pri ribah je pH nad 6,5. Zaradi teh vrednosti v ožji izbor

pride več indikatorjev⁹, izbran je pa bil bromtimol modro (pKa = 7,30). S pred-poskusi je bilo namreč ugotovljeno, da indikator spreminja barve v naslednjih območjih pH:

PREGLEDNICA 2- SPREMINJANJE BARV BROMTIMOL MODREGA PRI RAZLIČNIH pH VREDNOSTIH

pH	Barva indikatorja
0-1.2	brezbarvno
1.3 – 6.0	rumeno
6.1 – 6.6	(rumeno)zeleno
6.7 – 7.1	zeleno
7.2 – 14.0	modro

Iz Preglednice 2 vidimo, da bi senzor moral ločevati med svežim (neoporečnim) mesom klavnih živali in bi lahko bil uporaben tudi za piščančje meso (perutnino). Ni pa primeren za ugotavljanje kvalitete rib in ribjih izdelkov.

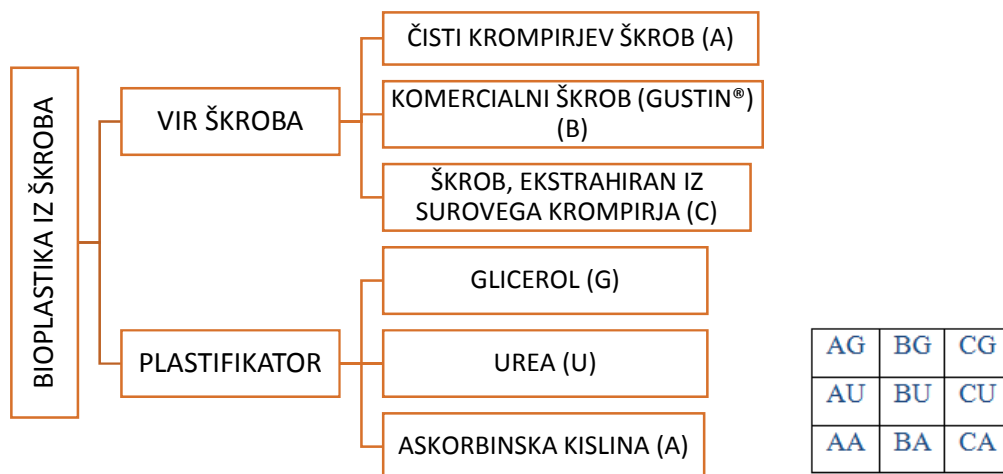
⁹ Opcija je tudi indikator nitrazin rumeno, ki pri pH 6,2 preide iz rumene v oljčno zeleno (pH 6.4) do rdeče vijolične (pH 6,6) in končne vijolične barve (nad pH 7). Vendar je z vidika možnega izpiranja indikatorja iz polimerne osnove bromtimol modro mnogo boljše izbira (opomba avtorja).

3 PRAKTIČNI DEL

3.1 IZDELAVA BIOPLASTIKE IZ ŠKROBA IN RAZVOJ KVALITATIVNIH KRITERIJEV ZA OCENJEVANJE NJENIH FIZIKALNIH LASTNOSTI

Viri škroba: čisti krompirjev škrob (Sigma Aldrich), komercialni škrob - Gustin (Dr.Oetker®) in ročno ekstrahiran škrob iz surovega krompirja (*slovenski tip krompirja - Igor*).

Uporabljeni plastifikatorji: glicerol (Sigma Aldrich, p.a.), urea (Sigma Aldrich, p.a.) in askorbinska kislina (Sigma Aldrich, p.a.). Deionizirana voda (šolskem laboratorij). Klorovodikova kislina (Merck, 37%). Amonijak (Fluka, 1,0M (standardiziran), 35%).



ORGANIGRAM 1 . LEVO- VIRI ŠKROBA IN PLASTIFIKATORJI UPORABLJENI V PRVEM DELU EKSPERIMENTA;
(DESNO)- ČRKOVNA LEGENDA UPORABLJENIH KOMBINACIJ ŠKROBA IN PLASTIFIKATORJEV

3.2 OPIS DELA

3.2.1 EKSTRAKCIJA ŠKROBA IZ SUROVEGA KROMPIRJA

Krompir smo očistili, olupili in naribali. Dodali smo 100 ml deionizirane vode in vse skupaj dobro premešali. Zmes smo nato stisnili skoz gosto plastično cedilo za čaj, ji ponovno dodali nekaj deionizirane vode, gnetli in filtrirali. Postopek smo ponavljali toliko časa, da se je na dnu

čaje zbrala večja količina škrobnih zrn. S pomočjo dekantiranja, smo škrob ločili od vodne raztopine in ga na zraku posušili.¹⁰

3.2.2 SINTEZA BIOPLASTIKE NA OSNOVI ŠKROBA

Nato smo devet 250 cm³ čaš označili s simboli, ki so prikazanimi v organigramu 1 (desno). V vsako čašo je bil najprej dodan škrob. Količina škroba je navedena v Preglednici 2.

PREGLEDNICA 2- MASE ŠKROBA UPORABLJENE V EKSPERIMENTU

	A ($\pm 0,01$ g)	B ($\pm 0,01$ g)	C* ($\pm 0,01$ g)
AG, BG, CG	3,03 g	2,95 g	4,07 g
AU, BU, CU	2,98 g	3,02 g	4,09 g
AA, BA, CA	3,01 g	3,07 g	4,10 g

* V vzorcu C je bila masa škroba nekoliko večja, saj uporabljeni škrob ni bil popolnoma suh.

Sledil je dodatek plastifikatorjev, deionizirane vode in 0,1M raztopine HCl, kot je navedeno v Preglednici 3.

PREGLEDNICA 3 – RAZMERJA DODANIH PLASTIFIKATORJEV, VODE IN HCl

	m (Glicerol), $\pm 0,5??$?	m (Urea), $\pm 0,01$ g	m (Askorbinska kislina), $\pm 0,01$ g	V (Destilirana voda), $\pm 0,5??$?	V (0,10 M HCl), $\pm 0,5??$?
AG, AU, AA	2,0 cm ²	0,98g	1,01g	20,0cm ²	3,0cm ²
BG, BU, BA	2,0 cm ²	1,03g	1,08g	20,0cm ²	3,0cm ²
CG, CU, CA	2,0 cm ²	1,05g	1,06g	20,0cm ²	3,0cm ²

Sledilo je 10 minutno segrevanje vzorcev pri temperaturi okoli 100°C. V tem času se je viskoznost zmesi v čašah zelo povečala. Po 10. minutah smo vsebino čaš izlili v identično označene petrijevke in vzorce bioplastike (pri 25°C) 24 ur sušili na zraku. Petrijevke so bile le

¹⁰ Filtracija je bila predolga in neučinkovita za odstranjevanje vode iz škroba (avtor).

delno pokrite. Sledilo je oblikovanje kriterijske lestvice za oceno kakovosti pridobljene bioplastike in na tej osnovi odločitev za najbolj primerne kombinacije, ki bodo uporabljene v nadaljevanju.

3.2.3 KRITERIJ ZA OCENJEVANJE KAKOVOSTI PRIDOBLJENE BIOPLASTIKE

Za namen priprave prototipa optičnega senzorja smo potrebovali plastiko, ki bo imela primerno trdoto, elastičnost in transparentnost ter kompaktnost. Pri kreiranju ocenjevalne (kriterijske lestvice) smo uporabili kvalitativne kazalnike na lestvici od 1-5, in sicer:

Trdota (H): 1- zelo trda (strukturo ni mogoče prebosti z iglo), 2 - precej trda (ne razpade ko se prebode z iglo), 3 - optimalna, 4 - zelo mehka (pri prebodu z luknjo ostane luknja in plastika delno razpade), 5 - premehka (plastika je lepljiva in ne more ohraniti oblike).

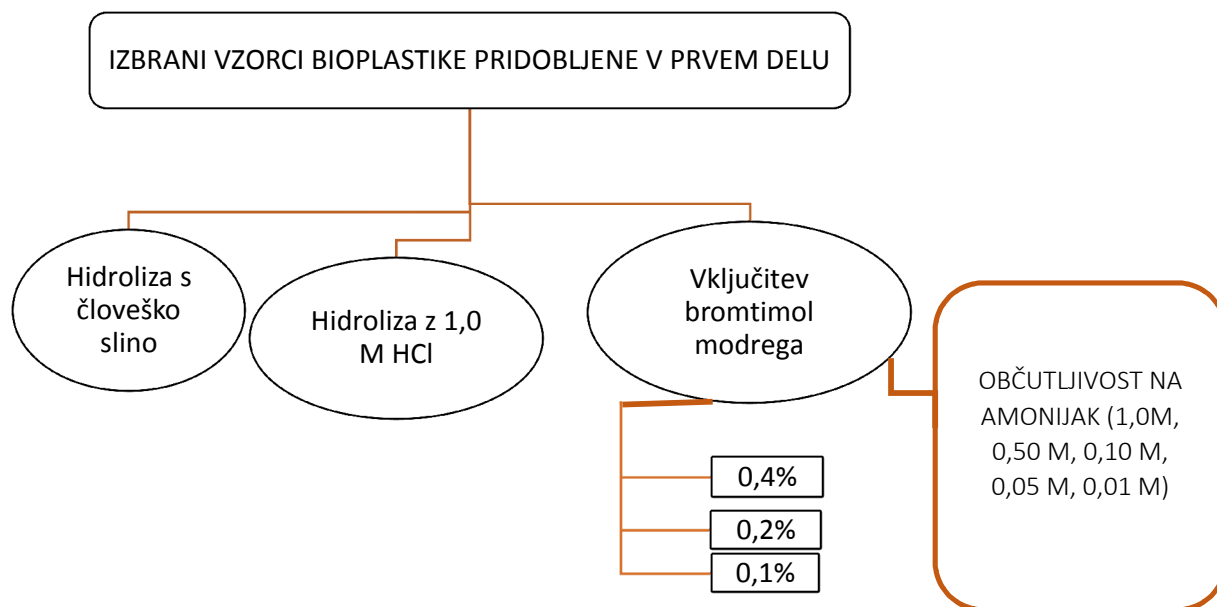
Elastičnost (E): 1- zelo toga (ob deformaciji (upogibanju) se plastika lomi na manjše koščke), 2 - toga (plastika se ob deformaciji (upogibanju) ne lomi na manjše koščke, vendar se tudi ne povrne vrne v prvotno obliko), 3 – primerno elastična (plastika ohranja želeno strukturo), 4 - zelo elastična (plastika se deloma vleče), 5 - preveč elastična (plastika ne obdrži oblike).

Transparentnost (T): 1 – popolnoma prozorna (transparenta) s homogeno strukturo, 2 – delno prozorna in ponekod nehomogena struktura, 3 – delno prozorna z večji območji nehomogenosti, 4 – kremast videz, 5- popolnoma neprozorna zgradba.

Za končno oceno fizikalnih lastnosti pridobljene plastike smo oblikovali naslednjo enačbo:

$$\text{Ocena bioplastike} = ? - ??? - \frac{???}{?} + ??$$

3.3 HIDROLIZA BIOPLASTIKE TER VKLJUČITEV KISLINSKO-BAZNEGA INDIKATORJA



ORGANIGRAM 2- POTEK DRUGEGA DELA EKSPERIMENTA

3.3.1 HIDROLIZA BIOPLASTIKE

Vzorci bioplastike iz prvega dela smo razrezali na koščke 1cm x 1cm. Masa vsakega je bila med 0,200g in 0,300g. Vsak košček smo dali v ustrezno označeno epruveto, kot je prikazano v Preglednici 4. V vsako epruveto smo z merilno pipeto dodali 2,0 mL 0,1M klorovodikove kisline. Epruvete smo zaprli in pustili, da je kislinska hidroliza poteka 24 ur.

PREGLEDNICA 4 - KISLINSKA HIDROLZA BIOPLASTIKE (OZNAČITEV EPRUVET)

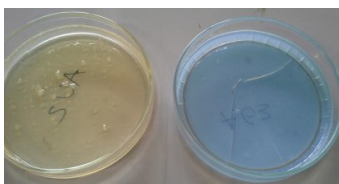
askorbinska kislina	urea	glicerol
AA	AU	AG
BA	BU	BG
CA	CU	CG

Po 24 urah smo tekočino iz vsake epruvete prelili v kiveto, s kapalko dodali štiri kapljice 0,3% jodovice (indikator za škrob), ter s pomočjo Vernierjevega Spektrofotometra (Ocean Optics) posneli spektre. Spektrometer je bil predhodno kalibriran s kislom raztopino jodovice.

Identičen poskus je bil izveden še s slino. K vsakemu vzorcu plastike je bilo dodane 2 mL sline (vsebuje encim amilazo).

3.4 IZDELAVA OPTIČNEGA SENZORJA ZA AMONIЈAK

Preliminarni poskus, kjer smo na v petrijevko po končanem segrevanju dodali še nekaj kapljic *bromtimol modrega* in počakali, da se bioplastika posuši, je dal pozitiven rezultat za amonijak. Bioplastika z bromtimolom se je obarvala svetlo rumeno (slika 1 levo). Ko smo petrijevko dali nad pare koncentrirane raztopine amonijaka, se je bioplastika takoj obarvala modro (slika 4 desno).



SLIKA 4 - BARVNA SPREMEMBA BIOPLASTIKE IZ RUMENE V MODRO

Zato smo v nadaljevanju izvedli kontroliran eksperiment. Ker so se v prvem delu raziskave kot najboljše kombinacije pri pripravi bioplastike izkazale kombinacije AG, AU, CG in CU, smo indikator dodali le v te vrste bioplastik. Količino dodanega indikatorja, glede na maso bioplastike je bila: 0,4%, 0,2% in 0,1%.

Merili smo:

- a) ali se bioplastika z indikatorjem odzove na nizke koncentracije amonijaka in
- b) kolikšen je odzivni čas.

PREGLEDNICA 5– BIOPLASTIKA Z VKLJUČENIM INDIKATORJEM

Vzorec	Masa škroba ($\pm 0,001$ g)	Vzorec	Masa škrob ($\pm 0,001$ g)
AG1	2,499	CG1	2,502
AG2	2,501	CG2	2,497
AG3	2,498	CG3	2,505
AU1	2,509	CU1	2,499
AU2	2,505	CU2	2,502
AU3	2,495	CU3	2,501

Legenda:

- *A – čisti škrob; C – ekstrahiran škrob; G – glicerol; U – urea;*
- *koncentracije bromtimol modrega: 1- 0,4%; 2 – 0,2%; 3 – 0,1%.*

3.4.1 PRIPRAVA BIOPLASTIKE Z VKLJUČENIM INDIKATORJEM

Vsakem od vzorcev škroba smo dodali 3mL 0,1M klorovodikove kisline, 2mL glicerola ali 1g uree, 20mL vode in 5mL bromtimol modrega. Raztopine smo segrevali 10 minut, mešali, da smo dobili homogeno zmes, in jih prelili v petrijevke ter 24 ur sušili na zraku.

3.4.2 PREISKAVA ODZIVA IN MOŽNOSTI PONOVNE UPORABE (REVERZIBILNOSTI) SENZORJA

Iz preglednice 1 (str. 10) je razvidno, da so poprečne vrednosti amonijaka v živilih med 0,6 do 0,8%. Delež amonijev soli je lahko večji, do 2%. Zato smo v poskusu uporabili koncentracije, ki so nižje od 0,6%, z namenom da določimo meje detekcije, ter koncentracije, ki so višje, da preverimo razlike v spremembi barv. Pripravili smo pet različnih koncentracij amonijaka za preizkus bioplastičnega senzorja: 1,0%, 0,50%, 0,10%, 0,050% in 0,010%. Vsakega od vzorcev bioplastike smo za 5 sekund ločeno potopili v ustrezno raztopino amonijaka, potegnili ven in položili na bel papir, da bi lažje opazili spremembo barve. Merjen je bil čas, potreben za prvo spremembe barve. Reverzibilnost senzorja smo testirali na zraku in v 9% kisu za vlaganje (Mercator).

4 REZULTATI

4.1 MEHANSKE LASTNOSTI SINTETIZIRANE ŠKROBNE BIOPLASTIKE

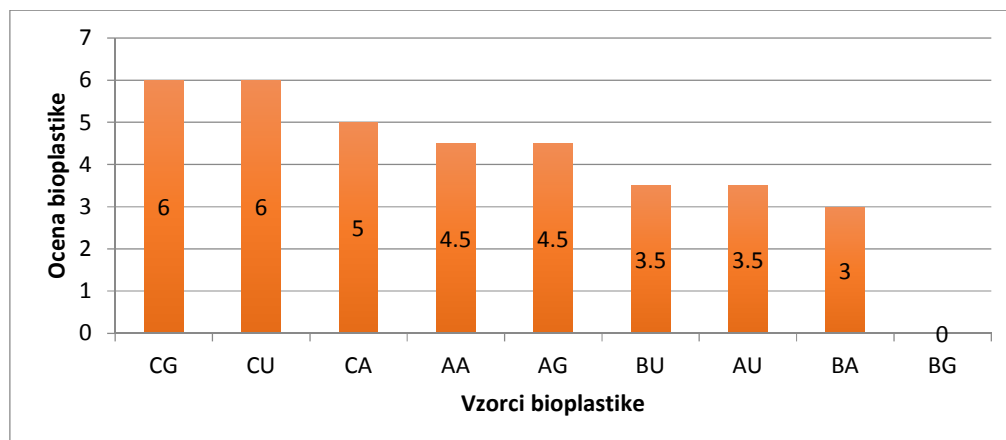
Kot je že bilo opisano v poglavju 3.2.3, smo mehanske lastnosti bioplastike ocenili po zato pripravljene ocenjevalni lestvici ter skupno kakovost (primernost) izračunali po formuli:

$$\text{Ocena bioplastike} = ? - ??? - \frac{???}{?} + ??$$

PREGLEDNICA 6 – OCENA MEHANSKIH LASTNOSTI SINTETIZIRANE BIOPLASTIKE

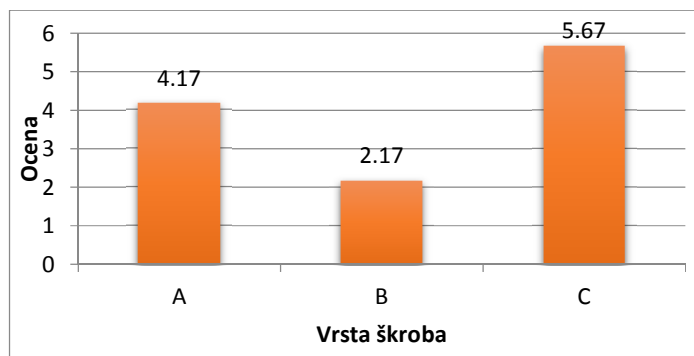
		Trdota	Elastičnost	Razlika (od 3)	Transparentnost (prozornost)	Dodatna kvalitativna opažanja	ocena	Poprečna ocena glede na izvor škroba
A	glicerol	1	2	1.5	1	Steklasta; drobljiva	4.5	4.2
	urea	1	2	1.5	2	-	3.5	
	askorbinska kislina	3	4	0.5	2/rumena	lepljiva	4.5	
B	glicerol	5	5	2	5/ kremasta	Zelo kremasta in mehka	0	2.2
	urea	4	3	0.5	3	-	3.5	
	askorbinska kislina	3	3	0	4/ rumena	-	3	
C	glicerol	3	3	0	1	Najboljši vzorec	6	5.7
	urea	3	3	0	1		6	
	askorbinska kislina	3	3	0	2/rumena	-	5	

GRAF 1 – VZORCI BIOPLASTIKE RAZVRŠČENI GLEDE NA VIŠINO OCENE PO KRITERIJSKEM KLJUČU

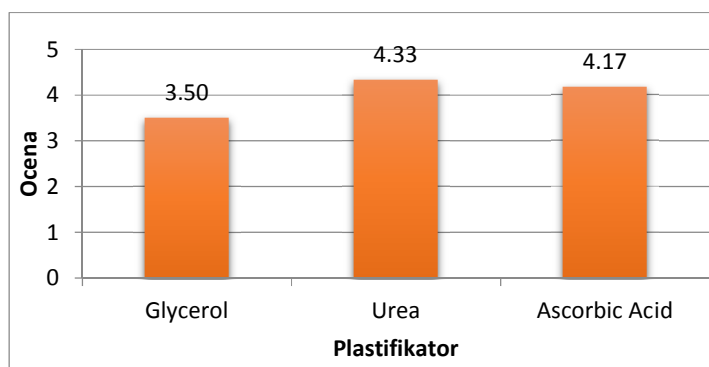


Vzorci bioplastike izdelani iz čistega krompirjevega škroba (vzorci označeni z A) so bili ne glede na uporabljen plastifikator najtrši in najtanjši (steklast videz). Že v času 10 min segrevanja je večina vode izparela, zato so bili tudi najmanj elastični med vsemi. Vzorci iz Gustina (oznaka B) so bili kremasti in mehki, kar je še posebej vidno v primeru, ko je kot plastifikator deloval glicerol. Najboljše ocenjeni vzorci bioplastike so bili vzorci pripravljene iz surovega krompirja (vzorec C). Vsi bili primerne trdote, upogljivi (elastični) in povsem prozorni. Morda je k temu pripomoglo tudi dejstvo, da je bil delež vode (verjetno) nekoliko višji kot v preostalih vzorcih, saj škrob ni bil povsem suh, ko smo ga uporabili za sintezo. Med plastifikatorji sta se glicerol in urea izkazala kot najboljša. Graf 2 in 3 predstavljata rezultate mehanskih lastnosti bioplastike glede na tip uporabljenega škroba in glede na vrsto plastifikatorja.

GRAF 2 – PRIMERJAVA BIOPLASTIK GLEDE NA VRSTO UPORABLJENGA ŠKROBA



GRAF 3- PRIMERJAVA BIOPLASTIK GLEDE NA VRSTO UPORABLJENGA PLASTIFIKATORJA



Glede na rezultate prvega dela poskusa lahko zaključimo, da so najbolj primeren vir škroba za pripravo bioplastike škrob ekstrahiran iz surovega krompirja - poprečna ocena 5.7. Sledi čisti škrob (4.2) in najslabši vir Gustin® (2.2). Med plastifikatorji je najvišjo oceno dobila urea (4.3), sledi askorbinska kislina z 4.2 in potem glicerol s 3.5.

4.2 HITROST HIDROLIZE

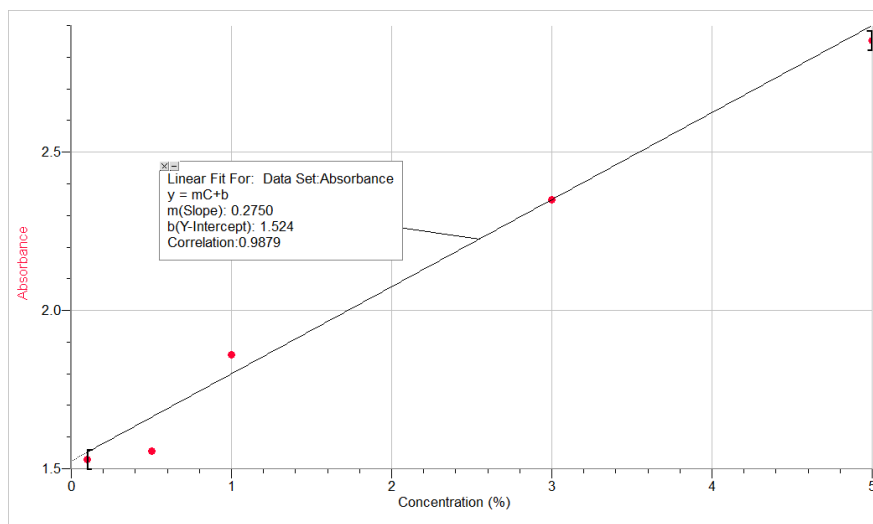
Predvidevali smo, da bo hidroliza škrobne bioplastike najprej povzročila prekinitev zamrežitve in posledično sproščanje škroba v raztopino; temu bo sledila prekinitev daljših verig v krajše, kar pomeni, da se bo delež glukoznih molekul v takšni raztopini povečeval. Ta delež smo preizkusili s standardnim testom - Fehlingovo raztopino.

Po kalibraciji UV-VIS spektrometra smo najprej določili λ_{max} , valovno dolžino pri kateri je absorbanca največja. Ta je bila pri 410.40 nm (± 0.01). Ker se škrob zaradi prisotnosti I_3^- ionov (poglavje 2.2.1), obarva modro, je intenziteta barve odvisna od količine prisotnega škroba. Zato smo najprej naredili umeritveno premico za škrob (Preglednica 7).

PREGLEDNICA 7 – PODATKI ZA UMERITVENO PREMICO

% koncentracija škroba	Absorbanca pri 410.4 nm (±0.01)
0.10	1.53
0.50	1.56
1.0	1.86
2.0	2.19
3.0	2.35
5.0	2.852

GRAF 4 – UMERITVENA PREMICA ZA ŠKROB



Enačba premice:

$$y = 0.2750x + 1.524$$

Kakor hitro smo pripravili vzorce plastik in jih izpostavili hidrolizi ali preko klorovodikove kisline (kislinska hidroliza) ali slin (encimska hidroliza), smo vzorce raztopin vsakih 10 min

testirali (izmerili absorbanco pri 410 nm). Prva meritev je bila opravljena po 15 minutah. Količino sproščenega škroba smo izračunali po enačbi:

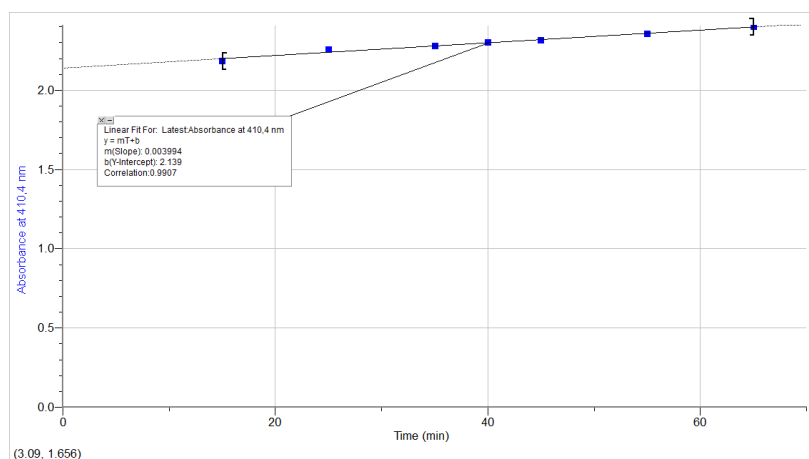
$$A_{410.4} = 0.2750 * [\text{š}] + 1.524,$$

hitrost hidrolize pa iz naklona premice. Zaradi velikega števila grafov in preglednic, v nadaljevanju navajamo le najbolj reprezentativne¹¹.

PREGLEDNICA 8 – KISLINSKA HIDROLIZA »AG« BIOPLASTIKE

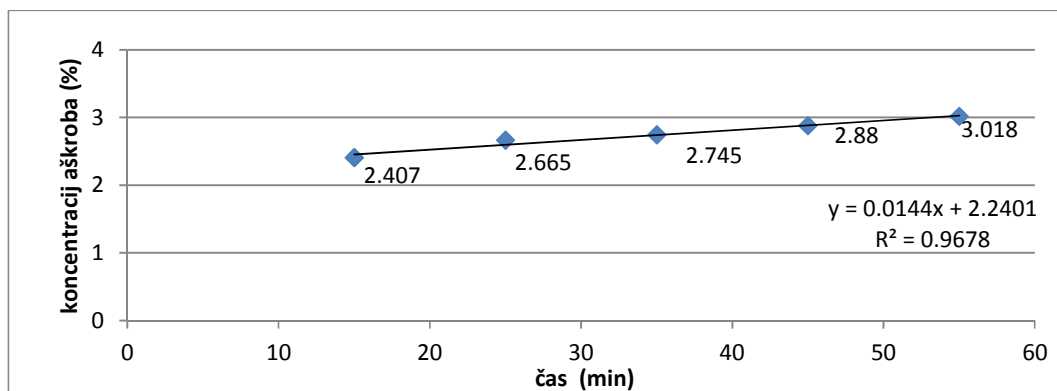
Čas (min, ±1)	Absorbanca pri 410.4nm (±0.001)	Koncentracija škroba (%)
15	2.186	2.407
25	2.257	2.665
35	2.279	2.745
45	2.316	2.880
55	2.354	3.018

GRAF 5 – SPREMINJANJE ABSORBNACE (PRI 410.4 nm) PO ČASU ZA »AG BIOPLASTIKO«



¹¹ Ostali grafi se nahajajo v Prilogi 1.

GRAF 6- SPREMINJANJE KONCENTRACIJA ŠKROBA PO ČASU (KISLINSKA HIDROLIZA) ZA »AG« BIOPLASTIKO



PREGLEDNICA 9 - KISLINSKA HIDROLIZA »CG« BIOPLASTIKE

Čas (min, ±1)	Absorbanca pri 410.4 nm (±0.001)	Koncentracija škroba (%)
15	1.616	0.335
25	1.777	0.920
35	1.701	0.644
45	2.101	2.098
51	2.036	1.862
55	2.028	1.833
60	2.120	2.167

PREGLEDNICA 10 - KISLINSKA HIDROLIZA »AU« BIOPLASTIKE

Čas (min, ±1)	Absorbanca pri 410.4 nm (±0.001)	Koncentracija škroba (%)
15	1.929	1.473
25	1.973	1.633
35	2.161	2.316
45	2.173	2.360
55	2.209	2.491

PREGLEDNICA 11- KISLINSKA HIDROLIZA »CU« BIOPLASTIKE

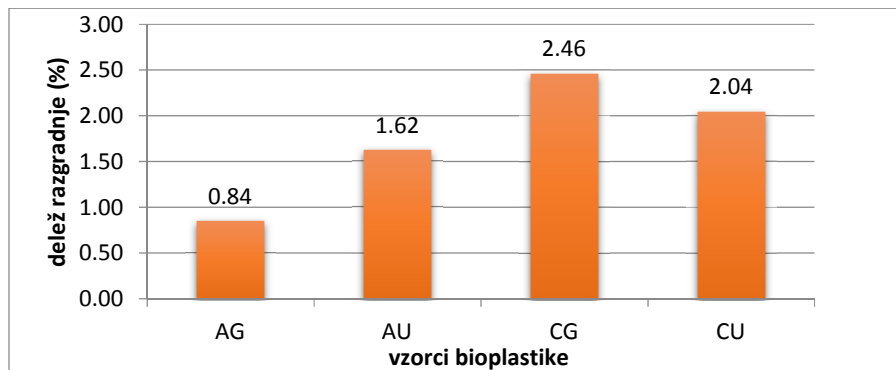
Čas (min, ±1)	Absorbanca pri 410.4nm (±0.001)	Koncentracija škroba (%)
15	1.732	0.756
25	2.066	1.971
35	2.165	2.331
45	2.111	2.135
50	2.176	2.371
55	2.203	2.469

PREGLEDNICA 12 – PRIMERJAVA HITROSTI KISLINSKE HIDROLIZE RAZLIČNIH TIPOV ŠKROBNE BIOPLASTIKE

Bioplastika	Hitrost hidrolize(% min ⁻¹)	Hitrost hidrolize (% h ⁻¹)	Napaka %
AG	0.014	0.84	0.59
AU	0.027	1.62	0.43
CG	0.041	2.46	0.20
CU	0.034	2.04	0.29

Kislinska hidroliza je bila najhitrejša pri vzorcu »CG« - 0.041 % min⁻¹ (2,64%/h) in najpočasnejša pri »AG« vzorcu bioplastike - 0.014 % min⁻¹ (0,84%/h). Grafična predstavitev razlik med posameznimi vrstami preučevane bioplastike še bolj nazorno predstavi graf 7.

GRAF 7 – PRIMERJAVA HITROSTI KISLINSKE HIDROLIZE



4.2. 1 IZRAČUN NAPAK

PREGLEDNICA 13 – OCENA NAPAK MERITEV

	Prostornina (Glicerol), ±0.5?? ?	masa (Urea), ±0.01g	masa (Askorbinska kislina), ±0.01g	Prostornina (Deionizirana voda), ±0.5?? ?	Prostornina (0.10 M HCl), ±0.5?? ?
AG, AU, AA	25%	1.02%	0.99%	2.5%	16.7%
BG, BU, BA	25%	0.97%	0.93%	2.5%	16.7%
CG, CU, CA	25%	0.95%	0.94%	2.5%	16.7%

Encimska hidroliza bioplastike je potekal mnogo hitreje, saj so vsi vzorci bioplastike po 24 razpadli do glukoze in dali pozitiven Fehlingov test. Ker količino amilaze v ustni slini nismo poznali, tudi hitrost hidrolize ni bilo mogoče izračunati.



SLIKA 4 – POZITIVEN FEHLING TEST (DESNO) ZA ENCIMSKO HIDROLIZO BIOPLASTIKE

4.3 ODZIVNOST BIOPLASTIKE Z VKLJUČENIM INDIKATORJEM

PREGLEDNICA 14– ČAS, KI JE POTREBEN ZA SPREMEMBO BARVE INDIKATORJA

Vrsta bioplastike	Koncentracija raztopine amonijaka (%)				
	1.0	0.50	0.10	0.050	0.010
CG1	15"	8"	44"	45"	1'
CG2	30"	20"	1'20"	1'20"	2'30"
CG3	35"	40"	2'30"	2'30"	5'
CU1	10"	15"	20"	25"	5'10"
CU2	15"	30"	17"	40"	6'20"
CU3	30"	2'	2'	3'	>10'
AG1	< 5"	< 5"	10"	15"	1'30"
AG2	< 5"	< 5"	18"	20"	2'40"
AG3	< 5"	< 5"	16"	7"	1'50"
AU1	< 5"	< 5"	9"	18"	3'
AU2	< 5"	< 5"	22"	30"	4'50"
AU3	< 5"	< 5"	25"	40"	7'30"

Legenda: ' – minuta " sekunda

Iz podatkov meritev vidimo, da je odzivnost indikatorja pri najvišjih uporabljenih koncentracijah amonijaka (1% in 0.5%) pri vseh vzorcih bioplastike označene z »A« takojšnja in neodvisna od koncentracije uporabljenega indikatorja, bromtimol modrega. Pri najnižjih koncentracijah amonijaka se je čas detekcije podaljšal do največ 7.5 min. V splošnem so vzorci »C« potrebovali več časa za odziv, kot koz vzorci »A« Izstopata vzorca »CU2« in »CU3«, kjer rezultati meritev kažejo visoko stopnjo nezanesljivosti. Predvidevamo, da je razlog nehomogena razpršenost indikatorja v polimerni strukturi škroba. Razveseljiva je odzivnost senzorjev pri najnižjih koncentracijah dodanega indikatorja, saj do spremembe barve pride med 1 do 10 min.

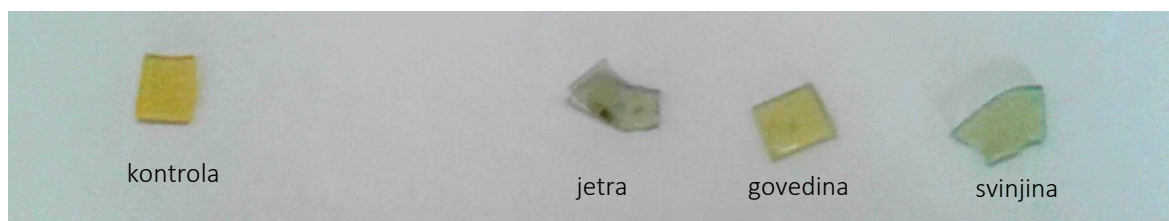
5 TESTIRANJE OPTIČNIH (BIOPLASTIČNIH) SENZORJEV NA REALNIH VZORCIH

V ta namen smo izbrali bioplastiko, ki se je v predhodnih poskusih izkazala kot najbolj optimalna (AG in CG), delež bromtimol modrega pa je bil povsod enak - 0.4% . Vzorci mesa na katerih smo testirali senzorje so bili: jetra, mleto svinjsko meso in mleto govedina (vsi vzorci mesa so predstavljali svežo meso). Odrezali smo koščke primerljiv mas, jih stehtali in položili v petrijevke. Na 10.0 g mesa smo dodali in 0.4 g of 35% raztopine amonijaka (1.4% masnih deležev $\text{NH}_3(\text{aq})$) in vsebino premešali ter pokrili z urnim steklom. Kontrolne petrijevke so vsebovale identično maso masa, vendar niso bile obdelane z amonijakom.

S pinceto smo predhodno pripravljene senzorje iz bioplastike (velikost 1x1cm) po 5 min položili direktno na meso (kontrolno in eksperimentalno skupino), počakali 1 min in jih nato položili na bel list papirja Opazili smo, da je do spremembe barve prišlo že prej kot v eni minuti ¹²(Slika 2).

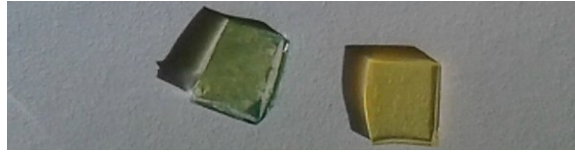


SLIKA 5 – VZORCI MESA (JETRA, MLETA GOVEDINA IN MLETO SVINJSKO MESO (od leve proti desni))

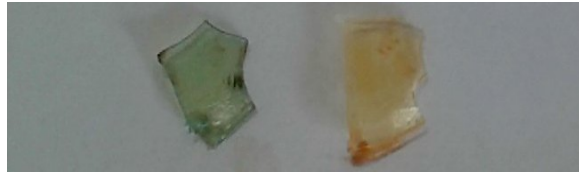


SLIKA 6 – BARVNA SPREMEBA »AG« OPTIČNEGA SENZORJA

¹² Vzoredno smo na vseh treh vzorcih mesa testirali tako AG kot CG optične senzorje.



SLIKA 7 – »AG« SENZOR (LEVO V SVINJSKEM MESU, TRETIRANEM Z AMONIJKOM IN DESNO V SVINJSKEM MESU, KI NI BILO IZPOSTAVLJENO AMONIJKU)



SLIKA 8 – »CG« SENZOR (LEVO V JETRIH, IZPOSTAVLJENIH AMONIJKU IN DESNO V JETRIH, KI NISO BILA IZPOSTAVLJENA AMONIJKU)



SLIKA 9 - (LEVO GOVEDINA, TRETIRANA Z AMONIJKOM IN DESNO GOVEDINA, KI NI BILA IZPOSTAVLJENA AMONIJKU)

5.1 REVERZIBILNOST OPTIČNIH SENZORJEV IN MOŽNOST NJIHOVE VEČKRATNE UPORABE

Želeli smo preučiti reverzibilnost barve spremembe in možnost ponovne uporabe senzorja. Poskus je bil razdeljen v dva dela:

1. Že uporabljene senzorce smo s papirnato brisačo obrisali (očistili) in jih pustili na zraku.
2. Že uporabljene senzorce smo s papirnato brisačo obrisali (očistili) in jih za dve sekundi potopili v 9% raztopino kisa za vlaganje, ponovno popivnali s papirnato brisačo in pustili na zraku.

V obeh primerih smo merili čas, ki je bil potreben za spremembo barve iz zeleno-modre (ali modre) nazaj v rumeno.

PREGLEDNICA 15 – ČAS POTREBEN ZA POVRNITEV BARVE OPTIČNEGA SENZORJA (UPORABA 9% KISA)

Poskus		Senzor: AG	Senzor: CG
1. poskus	Čas potreben za spremembo barve (s), ±0.5s	5.7	6.1
2. poskus		5.6	6.0
3. poskus		5.4	6.1
4. poskus		5.5	6.2
5. poskus		5.5	6.0
Poprečen čas (1±0.5)		5.5	6.1

PREGLEDNICA 16 - ČAS POTREBEN ZA POVRNITEV BARVE OPTIČNEGA SENZORJA (NA ZRAKU)

Poskus		Senzor: AG	Senzor: CG
1. poskus	Čas potreben za spremembo barve (s), ±0.5s	10.2	12.1
2. poskus		10.4	11.8
3. poskus		10.1	11.9
4. poskus		10.4	12.3
5. poskus		10.5	12.0
Poprečen čas (1±0.5)			12.0

6 RAZPRAVA

Glede na kriterijski ključ, ki je bil izdelan za ocenjevanje vzorcev sintetizirane bioplastike, je bil, kot vzorec z najbolj optimalno (želeno) trdoto, elastičnostjo in transparentnostjo, ocenjen vzorec iz ekstrahiranega škroba (C) (vir: krompir) in vzorec A (čisti krompirjev škrob) plastificirana z glicerolom in/ali ureo. Ta dva vzorca sta bila izbrana nadaljnje delo. Najmanj ugodna za sintezo optičnega senzorja se je izkazala kombinacija komercialnega škroba (Gustin), vzorec pod oznako B, plastificiran z glicerolom in/ali askorbinsko kislino. Ta bioplastika je bila mehka in je ni bilo mogoče oblikovati v filme ali folije s konstantno, prožno

obliko. Vzorci te bioplastike so bili tudi zelo kremaste barve (neprozorni) in zato manj primerni za vgradnjo indikatorja. Bioplastika iz čistega škroba je bila v primerjavi z bioplastiko sveže ekstrahirane škroba trša in bolj toga; pri sušenju se je drobila v manjše koščke.

Hidroliza vzorcev bioplastike je potekla tako pod vplivom encimov (iz ustne sline) kot pod vplivom 0.1 M HCl. Razgradnja s slino je bila izjemno učinkovita, saj smo po 24 urah v raztopini dokazali glukozne enote - pozitivni Fehlingov test. To je razveseljivo z vidika biorazgradljivosti, saj takšna bioplastika ne predstavlja dodatne obremenitve okolja. Ker pa količino (koncentracijo) amilaze v slini nismo določali, je bila hitrost hidrolize izračunana samo za kislinsko hidrolizo. Ta se je gibala med $0.041 \text{ \% min}^{-1}$ (2,64%/h) do $0.014 \text{ \% min}^{-1}$ (0,84%/h). Kislinska Hidroliza je bila najhitrejša pri vzorcu »CG« - in najpočasnejša pri »AG« vzorcu bioplastike. Ker so vsi vzorci z askorbinsko kislino bili brezbarvni, VIS spektrofotometričnih meritev ni bilo mogoče izvajati ¹³.

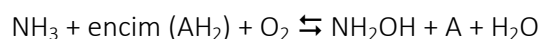
Na osnovi rezultatov prvega dela poskusa (sinteza in hitrost hidrolize bioplastike), smo v drugem delu (priprava optičnega sensorja), nadaljevali samo s tistimi vzorci plastike, ki so kazali najboljše lastnosti. To so bili vzorci pod oznako A in C ter dvema plastifikatorjema - glicerolom in ureo.

Prvi cilj je bil ugotoviti občutljivost sensorja. Zato smo uporabili kot najnižjo koncentracijo amonijaka 0,01% raztopino, ki predstavlja 10 do 50- krat manjšo koncentracijo od najnižjih koncentracij amonijaka ali amonijevih soli, ki se uporabljajo v prehranski industriji. Prav vsi sensorji (ne glede na količino vključenega indikatorja) so se na te nizke koncentracije odzvali z barvno spremembo. Zato najnižje možne koncentracije amonijaka, ki jih sensor lahko uspešno zazna, nismo določili. Meritve kažejo, da obstaja povezava med koncentracijo amonijaka in časom, ki je potreben za barvno spremembo indikatorja. Nižja kot je koncentracij amonijaka, dalj časa je potrebno za barvni odziv sensorja, pri čemer se ta vedno pojavi v okviru 10 minut. Čas je povezan tudi s koncentracijo dodanega indikatorja. Pri višjih koncentracijah indikatorja je odziv sensorja hitrejši. Preučevali smo tri koncentracije indikatorja in sicer (0,4%, 0,2% in 0,1%). Realno, je samo v primeru najnižjih koncentracija indikatorja (0,1%) in najnižjih

¹³ Ker so vsi vzorci z askorbinsko kislino bili brezbarvni, VIS spektrofotometričnih meritev ni bilo mogoče izvajati

preučevanih koncentracij amonijaka (0,01%), čas, potreben za spremembo barve, presega pet minut. Na splošno so vzorci z glicerolom imeli hitrejši odziv od vzorcev z ureo.

Sledil je preizkus senzorjev na realnih vzorcih mesa (kos jeter, košček mletega svinskega in govejega mesa). Masni delež amonijaka je v vseh preučevanih vzorcih mesa bil enak - 1,4%, kar predstavlja srednjo vrednost dovoljenih koncentracij amonijaka pri obdelavi mesa. Po dodatku amonijaka smo meso premešali in pustili v petrijevki vsaj 5 min. Kontrola so bili vzorci istega mesa, ki niso bili tretirani z amonijakom. Test je bil v vseh primerih uspešen. Barva bioplastičnih senzorjev se je iz rumene spremenila v modro zeleno ali modro. Ker so v vseh primerih bili dodani enaki odmerki amonijaka, smo predvidevali, da je sprememba barva pogojena tudi z delež vode (krvi) v samem mesu, saj je test pri jetrih vedno pokazal odstopanje (manjšo koncentracijo od realne). Druga razlaga je, da je v jetrih prisoten tudi encim monooksigenaza amonijaka, ki lahko katalizira naslednjo reakcijo (Holmes s sodel., 1995) in je zato (posledično) koncentracija amonijaka nižja.



Senzorje smo na vzorcih mesa pustili 1 minuto, vendar je do spremembe barve prišlo že prej. Barva senzorjev iz kontrolne skupine (netrenirano meso), se ni spremenila in je ostala rumena.

Zadnji del preizkusa je bil vezan na reverzibilnost senzorjev in možnosti njihove ponovne uporabe. Del že uporabljenih senzorjev smo pustili na zraku in prav pri vseh se je barva v 12 minutah, po uporabi, povrnila nazaj v rumeno. Njihova občutljivost se pri ponovi uporabi ni spremenila. Drugi del že uporabljeni senzorjev smo takoj po uporabi potopili v 9% kisa (kis z vlaganje) in sprememba barve je bila praktično takojšnja (znotraj šestih sekund). Predvidevamo, da je slednje povzročilo tudi začetek kisle hidrolize in je zato tak način dela s senzorjem manj primeren, vendar zelo uporaben, če imamo na voljo le en senzor in več kosov mesa, ki jih želimo testirati.

ZAKLJUČKI

Cilj tega inovacijskega predloga je bil razviti optični senzor (delovanje na osnovi barvne spremembe), ki bi lahko bil uporaben pri kontroli prisotnosti amonijaka v (predelanem) mesu. Postavili smo si cilj, da mora senzor ustrezati kriterijem za bioplastiko (razgradljiv in okoljsko sprejemljiv), enostaven za uporabo, vendar nedoumen za interpretacijo rezultatov meritev. Menimo, da smo v prvi fazi sinteze prototipa takšnega senzorja uspeli. Zakaj?

S pomočjo poskusov smo identificirali ustrezno škrobno bioplastiko, ki je, glede na trdoto, elastičnost in prozornost, primerna za vgradnjo kislinsko baznega indikatorja. V okviru te raziskave je bila kot takšna določena plastika, ki je bila pripravljena iz krompirja (ročna ekstrakcija škroba) – vzorci »C« in plastika pripravljena iz čistega krompirjevega škroba – vzorci »A«. Med preučevanimi plastifikatorji je najvišjo oceno dobila urea (U) (poprečna ocena 4,3 od 5), sledi ji askorbinska kislina (AK) (poprečna ocena 4,2) in na zadnjem mestu glicerol (G)(poprečna ocena 3,5). Ker pa se je glicerol izkazal kot zelo dober plastifikator pri »C« in »A« vzorcih bioplastike, smo ga uporabili tudi pri sintezi optičnega senzorja. Najboljša kombinacija za pripravo optičnega senzorja je bila je »CU« bioplastika – iz krompirja sveže ekstrahiran škrob z ureo. Razlike med plastifikatorji niso bile tako značilne kot razlike med izvorom škroba, tako da lahko zaključimo, da na fizikalne lastnosti bioplastike bolj vpliva izvor škroba kot plastifikator, s katerim je zamrežen. S tem je naša prva hipoteza delno potrjena, druga hipoteza pa v celoti.

Rezultati kislinske hidrolize so pokazali da je le-ta najhitrejša plastiki »CG«, s 2,46% na uro. Najpočasnejše se razgradi bioplastika »AG« 0,8% na uro, kar pomeni, da je tudi kislinsko najbolj odporna. Amilaza (iz slin) je v 24 urah uspešno razgradila vse tipe preučevanih plastik.

Vključitev bromtimol modrega (indikatorja) v polimerno strukturo škrobne bioplastike z namenom izdelati senzor za amonijak, se je izkazala kot zelo uspešna pri vseh treh koncentracijah indikatorja (0,4%, 0,2% in 0,1%), ter pri vseh koncentracijah amonijaka (1,0%, 0,50%, 0,05% in 0,01%). Vsi vzorci bioplastike so spremenili barvo iz rumene v modro (ali modro-zeleno) po izpostavljanju raztopini ali param amonijaka. Potrjena je bila tudi četrta

hipoteza - višja koncentracija kot je koncentracija indikatorja krajši čas je potreben za spremembo barve senzorja (sovpada tudi s koncentracijo amonijaka).

Najboljši prototipi bioplastike so bili testirani na treh realnih vzorcih mesa (jetra, mleta govedina, mleta svinjina). Glede na predhodno določeno odzivnost senzorjev je bila količina indikatorja v vseh vzorcih »A« in »C« plastike enaka (0,4%), kar je pomenilo pričakovan odziv znotraj ene minute. To predvidevanje se je potrdilo. Barvne spremembe so bile očitne in nedvoumne. Razveseljivo je tudi dejstvo, da so senzorji reverzibilni, kar pomeni, da jih lahko večkrat uporabimo.

Inovacijski predlog v prihodnje zahteva še precej dopolnitev. Če naštejemo samo nekaj teh:

- 1) najprej je potrebna njegova natančna kalibracija (barva senzorja – koncentracija amonijaka).
- 2) potrebno je preučiti v kolikšnem deležu se bromtimol modro izloča iz mreže polimera (če seveda se).
- 3) razširiti je potrebno spekter možnih plastifikatorjev. Trenutno uporabljeni so z vidika uporabnika neškodljivi, vendar je urea lahko problematična. Urea (ali sečnina) predstavlja končni presnovek metabolizma dušikovih spojin (npr. presnova aminokislin)¹⁴. Organizem na ta način izloča amonijak, ki bi sicer v prosti obliki bil toksičen, zato za takšen senzor ni najbolj primeren plastifikator.
- 4) določiti je potrebno spodnjo mejo detekcije takšnega optičnega senzorja.

Poseben izziv bi bila priprava optičnega senzorja iz povsem odpadnih materialov, kot je recimo kostno-mesna moka.

Raziskava terjala kar nekaj časa in potrpežljivosti, vendar mi je zelo pomagala pri razumevanju koncepta zelene tehnologije (ekonomije), pa tudi pomena bioplastičnih izdelkov v vsakdanjem življenju.

¹⁴ Amonijak (NH₃) je stranski produkt metabolizma dušikovih spojin. Preveč amonijaka v celicah lahko dvigne pH do toksične ravni, zato organizmi pretvarjajo amonijak v sečnino. Odvečen dušik se izloča iz telesa s sečnino (avtorjeva opomba).

DRUŽBENA ODGOVORNOST

Živimo v skupnosti, ki se sooča tako z gospodarsko kot finančno krizo, predvsem pa s krizo vrednot, medosebnih odnosov in celotnega načina življenja. Alternativni pristop bi moral vključevati holistični model gospodarskega razvoja, ki temelji na znanju, povezovanju različnih disciplin in je usmerjen v sonaravni način življenja. Uporaba t.i. »pink slime« mesa v prehranskih verigah, sploh pa tistih v katere je vključena najmlajša generacija, je nesprejemljiva. Priča smo hudemu zavajanju potrošnikov, kjer na eni strani trdijo, da je amonijak naravni produkt metabolizma večine danes živečih živalskih organizmov (kar je seveda res) in zato v predelavi mesa ne more biti škodljiv (kar ni res). Sliši se logično, vendar neresnično. Narava je amonijak, ki nastaja kot stranski produkt v metabolizmu dušikovih spojin pretvorila v sečnino. Zato je amonijak lahko koristen kot čistilo, nikakor pa kot del (dodatek) živil, sploh če obstaja alternativa. V tem kontekstu razumem ta inovacijski predlog kot moj prispevek k večji družbeni odgovornosti. In še enkrat več spoznavam, da večja družbena odgovornost pomeni, da morata znanje in vrednote, ki so človeka učlovečile, biti v simbiozi, ki se imenuje modrost.

UPORABLJENA LITERATURA

ČLANKI

Adeodato V., da Silva, M.G., dos Santos, M.A., Beppu, L.O. (2011). Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *EUR POLYM J* 47(3), str..254-263.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2005). Toxicological profile for Ammonia. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

Chandra, R. and Rustgi, R. (1998). Biodegradable Polymers. *Prog. Polym. Sci*, 23, str..1273-1335.

Holmes, A.J., Costello, A., Lidstrom, M.E. and Murrell, J.C. (1995). "Evidence that particulate methane monooxygenase and ammonia monooxygenase may be evolutionarily related". *FEMS Microbiol. Lett.* **132**: 203–208. [doi:10.1111/j.1574-6968.1995.tb07834.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1995.tb07834.x). [PMID 7590173](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7590173/).

Kaseem, M., Hamad, K., Deri, F. (2012). Thermoplastic starch blends: A review of recent works. *POLYM SCI SER A+* 54(2), str.165-176.

Lawal, O. et al.(2005). Oxidized and acid thinned starch derivatives of hybrid maize: functional characteristics, wide-angle X-ray diffractometry and thermal properties. *Int J Biol Macromol*, 35, str.71-79.

Lourdin, D., Della Valle, G. and Colona, P. (1995). Influence of amylose content on starch films and foams. *Carbohydrate Polymers*, Barking 27, str.261-270.

Ma, X.F., Yu, J.G. (2004). The effects of plasticizers containing amide groups on the properties of thermoplastic starch. *Starch-Starke*. 56(11), str. 545-551.

Petersen, K., Nielsen, P.V., Bertelsen, G., Lawther, M., Olsen, M.B., Nilsson, N.H., Mortensen, G. (1999). Potential of biobased materials for food packaging. In: *Trends Food Sci. Technol.* 10, str.52-68.

Podbielska H., Andrzejewski, D. (2001). Examination of various shape of sol-gel optodes for indirect fiberoptic sensors, *OPTIK* 112, str. 158-162.

Smits, A., Kruiskamp P.H., van Soest J.J.G., Vliegthart J.F.G. (2003). Interaction between dry starch and plasticisers glycerol or ethylene glycol, measured by differential scanning calorimetry and solid state NMR spectroscopy. In: *Carbohydrate Polymers* 53(4), str. 409-416.

Vaverkova, M. Et al. (2014). Evaluation of biodegradability of plastic bags in composting conditions. *ECOL CHEM ENG S* 21(1), str. 45-57

Vilpoux, O. and Averous, L. (2004). *Starch-based plastics*. Sao Paolo, Brazil: NGO Raizes and Cargill Foundation., str. 521-553.

Wen, L.F., Rodis P., Wasserman, B.P. (1990). Starch Fragmentation and Protein Insolubilization during Twin-Screw Extrusion of Corn Meal. In: *Cereal Chemistry* 67(3), str. 268-275

KNJIGE, PUBLIKACIJE

Brown, W. H.; Poon, T. (2005). *Introduction to organic chemistry* (3rd Edition). Wiley. [ISBN 0-471-44451-0](#)

Guček, M (2015). Tehnologija mesa_ laboratorijske vaje. Interno študijski gradivo. Šolski center Šentjur. Višja strokovna šola., str. 24- 26.

IB Chemistry Data Booklet (2015). IBO Geneva.

Phandis, S. and Jadhav, S. (1991). Starch and its derivatives. In: *Salunkhe DK, Kadam SS*. Boca Raton, USA: CRC Press.

Stryer, L., Berg, J.M., Tymoczko, J.L. (2002). "[Section 11.2.2](#)". *Biochemistry* (5th ed.). San Francisco. W.H. Freeman.

Šprajcar, M. et al. (2012). *Biopolimeri in Biopastika - Plastika skladna z naravo*. Kemijski inštitut Ljubljana.

Ur. l. RS 71/2000. Pravilnik o splošnem označevanju predpakiranih živil.

INTERNETNI VIRI

Avila, J. (2012). 70 Pct of Supermarket Ground Beef Has 'Pink Slime'. [online] ABC News. Available at: <http://abcnews.go.com/blogs/headlines/2012/03/70-percent-of-ground-beef-at-supermarkets-contains-pink-slime/> [Dostopno Sep. 2015].

Brilliant Biology Student, (2014). *Iodine Test for Starch*. [online] Available at: <http://brilliantbiologystudent.weebly.com/iodine-test-for-starch.html> [Dostopno 21 Dec. 2015].

Eurostat, (2015). Waste Statistics: Europe. [online] Available at: http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Waste_statistics [Accessed Nov. 2015].

Geller, Martine (2012). Ammonia used in many foods, not just "pink slime". [online] Available at: <http://www.reuters.com/article/2012/04/04/us-food-ammonia-idUSBRE8331B420120404#6ACFAjIV836co68l.97> [Accessed 3 Nov 2015].

Knowles, D. (2013). 'Pink slime' slips back into school lunches in four more states. New York daily news . Available at: <http://www.nydailynews.com/news/national/pink-slime-returns-school-lunches-article-1.1451244> [Accessed 3 Nov 2015].

Ransford, M. (2008). *Why Trashing the Oceans is More Dangerous Than We Imagined*. [online] Popular Science. Available at: <http://www.popsci.com/environment/article/2008-04/why-trashing-oceans-more-dangerous-we-imagined> [Dostopno 5 Nov. 2015].

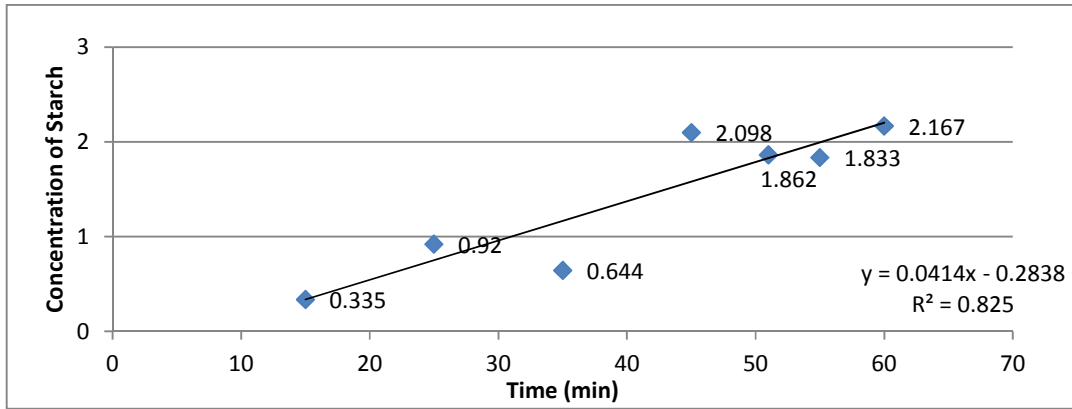
Statista, (2015). *Global Oil Industry and Market*. [online] Available at: <http://www.statista.com/topics/1783/global-oil-industry-and-market/> [Dostopno 11 Nov. 2015].

Statista, (2015). *Global production of plastics 2013 | Statistics*. [online] Available at: <http://www.statista.com/statistics/282732/global-production-of-plastics-since-1950/> [Dostopno 11 Nov. 2015].

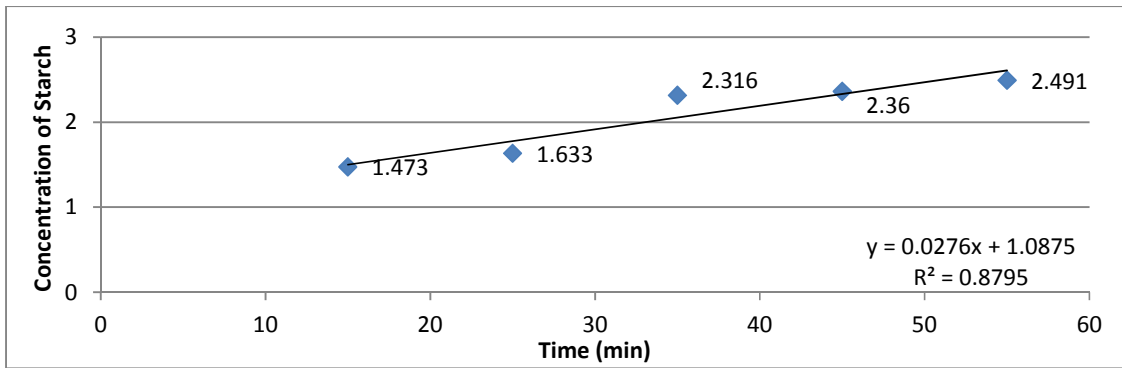
The Guardian, (2012). *Is pink slime safe to eat?*. [online] Available at: <http://www.theguardian.com/commentisfree/cifamerica/poll/2012/mar/16/is-pink-slime-safe-to-eat-poll> [Dostopno Jun. 2015].

Vanderoost (2014). *Detecting food spoilage with optical sensor*. Available at. <http://www.foodqualitynews.com/R-D/Detecting-food-spoilage-with-optical-sensor>. [Accessed Jun. 2015].

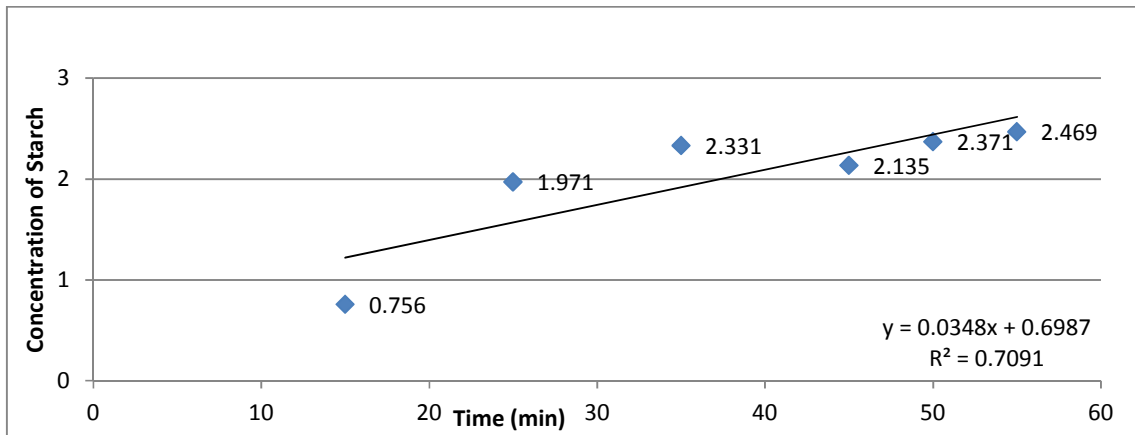
PRILOGA 1



Concentration vs. time for CG



Concentration vs. Time for AU



Concentration vs. Time for CU

TOTAL PLASTIC PRODUCED BY 2030 – Calculation

Facts (Statista, 2015):

- Around 300,000,000 tons of plastic were produced in 2013
- Since 2008. The number increased each year by nearly 10,000,000 tons

Therefore, if the rate of production remains constant, by the year 2030, the approximated amount of plastics produced can be calculated from the formula for arithmetic series:

$$S_n = \frac{n}{2}(2a_1 + (n - 1)d)$$

Where:

$n = 17$ years left

$a_1 = 300,000,000t$

$d = 10,000,000t$

$$S_{17} = \frac{17}{2}(2 * 300,000,000 + 16 * 10,000,000)$$

$$S_{17} = 6,460,000,000t$$

SPEED OF DECOMPOSITION - UNCERTAINTIES

CONCENTRATION (%)	ABSORBANCE ± 0.001	$\frac{\text{ABSORBANCE}}{\text{CONCENTRATION}}$
0.1	1.528	15.28
0.5	1.557	3.114
1.0	1.860	1.860
2.0	2.192	1.096
3.0	2.349	0.783
5.0	2.852	0.570

$$A = 0.2750 \cdot c + 1.524$$

$$\Rightarrow c = \frac{A - 1.524}{0.2750}$$

$$\delta_c = \delta_A \cdot \frac{0.001}{A} \quad \text{percentage uncertainty}$$

$$\sigma = \frac{e}{t} \Rightarrow \delta_\sigma = \delta_c = \delta_A$$

in minutes, uncertainty not essential

$$\bar{\sigma} = \frac{\sigma_1 + \sigma_2 + \sigma_3 + \sigma_4 + \sigma_5 + \sigma_6}{6}$$

$$\Delta\sigma = 6 \cdot 0.001 = \pm 0.006$$

$$\delta_\sigma = \frac{0.006}{\bar{\sigma}}$$

SAMPLE	n	$\bar{\sigma} (\frac{1}{h})$	$\delta_\sigma (\%)$
AG	5	0.84	$\frac{0.005}{0.84} = 0.59$
CG	7	1.62	$\frac{0.007}{1.62} = 0.43$
AU	5	2.46	$\frac{0.005}{2.46} = 0.20$
CU	6	2.04	$\frac{0.006}{2.04} = 0.29$

* 6 measurements were made

$$\delta_\sigma = \frac{n \cdot 0.001}{\bar{\sigma}_n} \cdot 100\%$$

↳ the formula