

59. SREČANJE MLADIH RAZISKOVALCEV SLOVENIJE

Recikliranje odpadnega celuloznega tekstila z encimsko hidrolizo

EKOLOGIJA Z VARSTVOM OKOLJA

Raziskovalna naloga

Avtor: Živa Avdičaušević

Mentorji:

Natalija Jančič, II. gimnazija Maribor

dr. Mojca Poberžnik, Inštitut za okoljevarstvo in senzorje



Trg Miloša Zidanška 1

Maribor

Maribor, april 2025

KAZALO

1.	UVOD	1
1.1.	RAZISKOVALNO VPRAŠANJE	1
1.2.	HIPOTEZE	3
2.	TEORETIČNI UVOD.....	5
2.1.	PROBLEM ODPADNEGA TEKSTILA IN OKOLJSKE OBREMENTIVE.....	5
2.2.	ZAKONI IN UKREPI EVROPSKE UNIJE PROTI OKOLJSKI OBREMENTIVI	7
2.3.	RECIKLIRANJE CELULOZNEGA TEKSTILA, KOT PODPORA KROŽNEGA GOSPODARSTVA.....	7
2.4.	TEKSTILNI MATERIALI IZ CELULOZE.....	9
2.5.	PREDOBDELAVA TEKSTILA Z ALKALIZACIJO	11
2.6.	METODE RECIKLIRANJA CELULOZNEGA TEKSTILA	12
2.7.	RAZGRADNJA CELULOZE Z ENCIMSKO HIDROLIZO	12
2.8.	FTIR SPEKTROMetriJA.....	14
2.9.	PRODUKTI ENCIMSKE HIDROLIZE IN IMPLEMENTACIJA GLUKOZE KOT SUROVINE ZA FARMACEVTSKE IN INDUSTRIJSKE PRODUKTE TER BIOGORIVA.....	15
3.	EKSPERIMENTALNO DELO.....	18
3.1.	ZBIRANJE ODPADNEGA TEKSTILA.....	18
3.2.	ENCIMSKA RAZGRADNJA.....	19
3.2.1.	Predobdelava vlaken z alkalizacijo.....	20
3.2.2.	Encimska razgradnja nealkaliziranih in alkaliziranih vlaken v reaktorju.....	22
3.2.3.	Vzorčenje.....	25
3.3.	ANALIZA VZORCEV S FTIR SPEKTROSKOPIJO	26
3.4.	OVREDNOTENJE MERITEV FTIR SPEKTROSKOPIJE	27
3.5.	LOČEVANJE TRDNEGA OSTANKA IN GLUKOZNEGA SOKA	28
4.	REZULTATI IN RAZPRAVA	33
4.1.	REZULTATI ANALIZE ZBRANEGA ODPADNEGA TEKSTILA	33
4.2.	SESTAVA ZBRANEGA ODPADNEGA TEKSTILA IN PRIMERJAVA REZULTATOV S SVETOVNIMI PODATKI ..	34
4.3.	REZULTATI ANALIZE FTIR IN IZKORISTEK REAKCIJE (%)	34

4.4.	POVEZAVA MED TRDNIMI OSTANKI RAZGRADNJE IN KONČNO KONCENTRACIJO GLUKOZE	35
4.5.	VPLIV OBLIKE BOMBAŽNEGA SUBSTRATA NA UČINKOVITOST ENCIMSKE RAZGRADNJE IN IZKORISTEK REAKCIJE	35
4.1.	KVANTITATIVNI IZKORISTEK REAKCIJE.....	37
4.1.	VPLIV ALKALIZACIJE NA UČINKOVITOST ENCIMSKE HIDROLIZE.....	38
4.2.	pH VREDNOSTI VZORČENJA EKSPERIMENTOV	39
4.3.	VPLIV TEKSTILNIH BARVIL NA ENCIMSKO RAZGRADNJO CELULOZE	42
4.4.	MOŽNE IZBOLJŠAVE METODE ENCIMSKE HIDROLIZE IN NADALJNE RAZISKAVE	43
5.	ZAKLJUČEK.....	44
6.	DRUŽBENA ODGOVORNOST.....	46
7.	LITERATURA.....	49
	PRILOGA.....	

KAZALO SLIK

SLIKA 1: SESTAVA SVETOVNEGA PROIZVODA TEKSTILNIH IZDELKOV LETA 2023	6
SLIKA 2: KROŽNO GOSPODARSTVO.....	8
SLIKA 3: STRUKTURA D-GLUKOZNIH ENOT CELULOZE	9
SLIKA 4: STRUKTURA LESNIH VLAKEN IN MOLEKULSKA ZGRADBA LIGNINA, CELULOZE IN HEMICELULOZE	10
SLIKA 5: KRISTALINIČNA IN AMORFNA STRUKTURA CELULOZNIH VLAKEN.....	11
SLIKA 6: SHEMA RAZGRADNJE AMORFNIH IN KRISTALINIČNIH CELULOZNIH STRUKTUR S CELULAZNIMI SISTEMI	13
SLIKA 7: SHEMA DELOVANJA FTIR SPEKTROMETRA	15
SLIKA 8: PRODUKTI PLATFORMNIH KEMIKALIJ - 5-HIDROKSIMETILFURFURAL (5HMF)	16
SLIKA 9: RAZVRŠČANJE ZBRANEGA ODPADNEGA TEKSTILA	18
SLIKA 10: RAZVRSTITEV EKPERIMENTOV PO VIRU IN OBLIKI MATERIALA.....	19
SLIKA 11: PLETENINA – RAZREZANE OBARVANE BOMBAŽNE MAJICE	20
SLIKA 12: PLETENINA – ZMLETE NEOBARVANE BOMBAŽNE MAJICE	20
SLIKA 13: VLAKNAT SUBSTRAT – BOMBAŽNO POLNILO ZA ODEJE	20
SLIKA 14: NEOŽETE ZMLETE OBARVANE BOMBAŽNE MAJICE PO ALKALIZACIJI	21
SLIKA 15: OŽETA VLAKNA BOMBAŽNEGA POLNILA PO ALKALIZACIJI.....	21
SLIKA 16: REAKTOR	23
SLIKA 17: VZORČENJE ENCIMSKE RAZGRADNJE ALKALIZIRANEGA VLAKNASTEGA SUBSTRATA PO 17 URAH	24
SLIKA 18: ZAČETEK ENCIMSKE RAZGRADNJE PRI OBARVANI NEALKALIZIRANI PLETENINI PRI 0 URAH.....	24
SLIKA 19: VZORCI EKSPERIMENTOV E1, E2, E3 IN E4	26
SLIKA 20: ANALIZA VZORCEV S FTIR SPEKTROMETRIJO	27
SLIKA 21: VSEBINA REAKTORJU PO KONCU ENCIMSKE RAZGRADNJE NEALKALIZIRANE OBARVANE PLETENINE	26
SLIKA 22: VSEBINA REAKTORJA PO KONCU ENCIMSKE RAZGRADNJE ALKALIZIRANE OBARVANE PLETENINE.....	26
SLIKA 23: GLUKOZNI SOK ALKALIZIRANE NEOBARVANE PLETENINE	30
SLIKA 24: GLUKOZNI SOK ALKALIZIRANE OBARVANE PLETENINE	30
SLIKA 25: GLUKOZNI SOK NEALKALIZIRANE NEOBARVANE PLETENINE.....	30

SLIKA 26: GLUKOZNI SOK ALKALIZIRANEGA VLAKNASTEGA SUBSTRATA	30
SLIKA 27: GLUKOZNI SOK NEALKALIZIRANEGA VLAKNASTEGA SUBSTRATA	30
SLIKA 28: GLUKOZNI SOK NEALKALIZIRANE OBARVANE PLETENINE.....	30
SLIKA 31: TRDNI OSTANEK OBARVANE NEALKALIZIRANE PLETENINE PO SUŠENJU	31
SLIKA 32: TRDNI OSTANEK OBARVANE NEALKALIZIRANE PLETENINE PRED SUŠENJEM.....	31
SLIKA 29: TRDNI OSTANEK OBARVANE ALKALIZIRANE PLETENINE PO SUŠENJU	31
SLIKA 30: TRDNI OSTANEK OBARVANE ALKALIZIRANE PLETENINE PRED SUŠENJEM.....	31
SLIKA 33: PRIMERJAVA TRDNIH OSTANKOV EKSPERIMENTOV E1, E2, E3, E4, E5 IN E6.....	32
SLIKA 34: MASA PRESORTIRANEGA ODPADNEGA TEKSTILA (KG)	33
SLIKA 35: DELEŽ SKUPNE MASE ZBRANEGA ODPADNEGA TEKSTILA.....	34
SLIKA 36: PRIMERJAVA MASNIH KONCENTRACIJ GLUKOZE PRI VSEH EKSPERIMENTOV SKOZI ČAS POTEKA ENCIMSKE HIDROLIZE.....	34
SLIKA 37: STOLPIČNI DIAGRAM IZKORISTKOV REAKCIJE ENCIMSKE HIDROLIZE PRI RAZLIČNIH VIRIH BOMBAŽNEGA SUBSTRATA.....	37
SLIKA 38: STOLPIČNI DIAGRAM KONCENTRACIJE GLUKOZE (G/L) PRI t_1 PRI RAZLIČNIH PREDOBDELAVAH IN OBLIKAH VLAKEN	38
SLIKA 39: E1 - pH V ODVISNOSTI OD ČASA ENCIMSKE HIDROLIZE	39
SLIKA 40: E2 - pH V ODVISNOSTI OD ČASA ENCIMSKE HIDROLIZE	40
SLIKA 41: E3 - pH V ODVISNOSTI OD ČASA ENCIMSKE HIDROLIZE	40
SLIKA 42: E4 - pH V ODVISNOSTI OD ČASA ENCIMSKE HIDROLIZE	41
SLIKA 43: E5 - pH V ODVISNOSTI OD ČASA ENCIMSKE HIDROLIZE	41
SLIKA 44: E6 - pH V ODVISNOSTI OD ČASA ENCIMSKE HIDROLIZE	42

KAZALO PREGLEDNIC

PREGLEDNICA 1: PRIMER VZORČENJA DELA EKSPERIMENTA	25
PREGLEDNICA 2: REZULTATI ZBRANEGA TEKSTILA.....	33
PREGLEDNICA 3: PRIMERJAVA MASNIH KONCENTRACIJ GLUKOZE, TRDNIH OSTANKOV IN IZKORISTKOV REAKCIJ.....	34
PREGLEDNICA 4: PRIMERJAVA MASNIH KONCENTRACIJ GLUKOZE, GLADE NA VIR BOMBAŽNEGA SUBSTRATA	35
PREGLEDNICA 5: VZORČENJE E1	
PREGLEDNICA 6: VZORČENJE E2.....	

PREGLEDNICA 7: VZORČENJE E3.....

PREGLEDNICA 8: VZORČENJE E4.....

PREGLEDNICA 9: VZORČENJE E5.....

PREGLEDNICA 10: VZORČENJE E6.....

POVZETEK

Tekstilna industrija ima občuten vpliv na okolje, predvsem zaradi velikih količin odpadnega tekstila, ki so posledica hitre mode. Ker so obstoječe metode recikliranja tekstila omejene, se razvijajo novi, okolju prijaznejši pristopi, s katerimi lahko pridobimo uporabne in dragocene produkte. V naši raziskovalni nalogi smo zasledovali učinkovitost biokemične metode, encimske hidrolize, ki temelji na razgradnji tekstilnega substrata s pomočjo encimov. V ta namen smo izvedli šest ločenih eksperimentov na bombažnih substratih popotrošniškega in industrijskega odpadka. Preučevali smo vpliv oblike celuloznega substrata, predobdelave z alkalizacijo in prisotnosti tekstilnih barvil na koncentracijo nastale glukoze. Rezultati eksperimentov so pokazali, da predhodna alkalizacija znatno izboljša učinkovitost encimske hidrolize, medtem ko prisotnost tekstilnih barvil nanjo nima negativnega vpliva. Najvišjo izmerjeno koncentracijo glukoze sta dosegla eksperimenta z alkaliziranim vlaknatim substratom in alkalizirano obarvano pletenino. S tem smo potrdili potencial encimske hidrolize kot trajnostno rešitev za recikliranje tekstilnih odpadkov in predelavo proizvedene glukoze v platformne kemikalije (kot je 5-hidroksimetilfurfural), ki se uporabljajo za proizvodnjo raznih kemikalij, bioplastike in farmacevtskih produktov.

Ključne besede: recikliranje, hitra moda, odpadni tekstil, krožno gospodarstvo, celuloza, bombaž, celulaze, encimska hidroliza, FTIR spektroskopija, platformne kemikalije

ABSTRACT

The textile industry has a significant impact on the environment, especially due to the large amounts of textile waste that is a result of fast fashion. Since existing textile recycling methods are limited, new, more environmentally friendly approaches are being developed that can be used to produce useful and valuable products. In our research work, we traced the efficiency of the biochemical method, enzymatic hydrolysis, based on the degradation of the textile substrate by enzymes. For this purpose, six separate experiments were performed on cotton substrates from post-consumer and industrial waste. We analysed the influence of different structures of cellulose substrate, alkali pre-treatment and textile dyes on the concentration of the produced glucose. The results revealed that the alkali pre-treatment significantly enhanced the efficiency of enzymatic hydrolysis, while the presence of textile dyes had no negative effect. The highest measured glucose concentrations were obtained in the experiments on an alkalinised fibrous substrate and an alkalinised dyed knitted fabric. This confirms the potential of enzymatic hydrolysis as a sustainable solution for recycling textile waste and the conversion of the produced glucose into platform chemicals (such as 5-hydroxymethylfurfural) used for production of a broad range of chemicals, bioplastics, and pharmaceuticals.

Keywords: recycling, fast fashion, textile waste, circular economy, cellulose, cotton, cellulases, enzymatic hydrolysis, FTIR spectroscopy, platform chemicals

Zahvalila bi se rada obema mentoricama, Nataliji Jančič, prof. in dr. Mojci Poberžnik, za odlično vodenje in spremljanje nastajanja raziskovalne naloge. Prav tako se zahvaljujem vsem, ki so me podpirali pri raziskovanju in mi omogočili pripravo na zagovor. Še posebej pa se zahvaljujem Inštitutu za okoljevarstvo in senzorje za pomoč pri načrtovanju, izvedbi in financiranju eksperimentov kakor tudi za pridobivanje novih laboratorijskih veščin in kemijskih znanj.

1. UVOD

Modna industrija je druga najbolj onesnažujoča industrija na svetu. Pospešujejo jo vse hitreje se spreminjajoči modni trendi, za katere je značilna hitra in nekvalitetna proizvodnja oblačil. Večina takšnih oblačil se zavrže le po nekaj uporabah in konča bodisi na odlagališčih odpadkov bodisi v sežigalnicah. K vse večji krizi zaradi tekstilnih odpadkov prispevajo tudi rast svetovnega prebivalstva, boljši življenjski pogoji in hitra moda, ki hkrati skrajšuje življenjski cikel oblačil ter kakovost tovrstnih tekstilnih izdelkov.

Tekstilni odpadki imajo gospodarski in okoljski vpliv, kar zmanjšuje kakovost življenja ljudi. Čeprav pri proizvodnji oblačil na vsaki stopnji že nastajajo onesnaževala in odpadki (Abrishami S. idr., 2024), je recikliranje celuloznega tekstila eden od ključnih korakov za zmanjšanje onesnaženja zaradi velike količine tekstilnih odpadkov, ki nastajajo kot proizvod hitre mode in tekstilne industrije (Abrishami S. idr., 2024).

Nekatere metode ponovne uporabe in reciklaže so že svetovno uveljavljene, ves čas pa se razvijajo nove, učinkovitejše in optimizirane metode, ki bi za sabo pustile najmanj vpliva na okolje in uporaben produkt. Ocenili smo možnost uporabe encimske hidrolize za razgradnjo celuloznih vlaken. Ta je v primerjavi z drugimi alternativami, kot je kislinska hidroliza, učinkovitejša. Ker pa encimi specifično razgradijo celulozni substrat, je uporabna tudi za razgradnjo celulozne komponente v tekstilnih mešanicih (npr. poliester/bombaž). Kot produkt takšne razgradnje dobimo raztopino glukoze, ki jo lahko nadaljnje pretvorimo v uporabne kemikalije, kot so 5-hidroksimetilfurfural (5HMF), levulinska in metanojska kislina za sintezo v farmaciji, proizvodnji (bio)plastike, smol, membran, embalaže in podobno ter biogoriv.

1.1. Raziskovalno vprašanje

Cilj naše raziskovalne naloge je bil določiti učinkovitost encimske hidrolize kot metode za razgradnjo celuloznih vlaken v glukozo, ki bi jo lahko v nadaljnjo uporabili kot surovino za izdelavo visokokakovostnih izdelkov z dodano vrednostjo, pri čemer smo kot vhodni material uporabili bombažni tekstilni odpadek.

Raziskovalna vprašanja, ki smo si jih postavili, so označena z oznakami R1, R2, R3 in R4.

Najprej smo opravili analizo odpadnega tekstila, ki smo ga zbrali z zbiralno akcijo in ga razvrstili po sestavi. S tem smo želeli preveriti, kolikšen delež odpadnega tekstila bi lahko potencialno reciklirali z encimsko hidrolizo.

R1: *»Kolikšen delež zbranega tekstila lahko recikliramo s pomočjo encimske razgradnje?«*

Pri eksperimentalnem delu z encimsko hidrolizo smo preučevali vpliv predhodne alkalizacije bombažnega substrata na koncentracijo nastale glukoze. S primerjavo šestih eksperimentov smo si želeli odgovoriti na vprašanje:

R2: *»Kako predobdelava bombažnega substrata z alkalizacijo vpliva na končno koncentracijo nastale glukoze encimske razgradnje?«*

Eksperimente smo opravljali na dveh oblikah neobarvanega bombažnega substrata, polnilu za odeje (vlaknat substrat) in zmletih majicah (pletenina), da bi ugotovili vpliv oblike substrata na končno koncentracijo glukoze:

R3: *»Kako oblika bombažnega substrata vpliva na končno koncentracijo glukoze encimske hidrolize?«*

Zato, da bi preverili vpliv tekstilnih barvil v substratu na encimsko hidrolizo, smo v dveh delih eksperimenta uporabili zmlete obarvane majice. Koncentracijo nastale glukoze iz obarvanih majic smo primerjali s koncentracijo nastale glukoze alkaliziranih in nealkaliziranih neobarvanih majicah.

R4: *»Kako prisotnost tekstilnih barvil v substratu vpliva na koncentracijo nastale glukoze pri encimski hidrolizi?«*

Pri vseh vprašanjih smo primerjali produkt encimske hidrolize, masno koncentracijo glukoze. Ta podatek nam je podajal resničen vpogled v učinkovitost razgradnje in smo ga zlahka primerjali med eksperimenti pri različnih predobdelavah, oblikah substrata in glede na prisotnost tekstilnih barvil.

1.2. Hipoteze

V izhodišču smo si s pomočjo literature postavili hipotezo, da lahko z encimsko razgradnjo recikliramo več kot tretjino vsega zbranega odpadnega tekstila, ki smo ga zbirali v okviru zbiralne akcije na šoli.

H1: Večina zbranega odpadnega tekstila je narejena iz umetnih vlaken.

V raziskavi Sandin in Peters (2018) so ugotovili, da bombažne tkanine predstavljajo 25 % vseh tekstilnih odpadkov na svetu. Prav tako lahko na tak izid sklepamo iz poročila organizacije TextileExchange o sami proizvodnji tekstila leta 2021: »Svetovna proizvodnja tekstilnih izdelkov je leta 2020 znašala 109 milijonov ton, od tega je bilo 36 % teh proizvedenih iz celuloznih vlaken.«

Pred izvedbo eksperimenta smo predpostavili, da lahko iz vseh celuloznih vlaken pridobimo glukozo. V petih delih eksperimenta pa smo se osredotočali na vplive:

1. oblike substrata – vlaknat ali pleten,
2. predobdelavo tekstilnih vlaken z alkalizacijo,
3. vsebnost tekstilnih barvil v vlaknih.

Iz teh kriterijev smo oblikovali naslednje hipoteze, označene z oznakami H2, H3, H4 in H5:

H2: Koncentracija glukoze je najvišja pri encimski hidrolizi predhodno alkaliziranega neobarvanega vlaknatega substrata (polnila za odeje).

H3: Pri encimski hidrolizi vlaknatega bombažnega substrata nastane večja koncentracija glukoze, kot pri encimski hidrolizi pletenega bombažnega substrata.

H4: Predhodna alkalizacija tekstila pripomore k večji razgradnji celuloze v glukozo.

Alkalizacija pripomore k odpiranju nadmolekulske strukture vlaken, s čimer se poveča njihova površina. Posledično omogoči večjo dostopnost celuloze in hemiceluloze za encime celulaze, zaradi katere je encimska hidroliza učinkovitejša (Celnis biomass, 2024). Če bombažna tekstilna vlakna niso predhodno obdelana in njihova struktura ni spremenjena, je pretvorba celuloze v glukozo z encimsko hidrolizo počasna in ima majhen izkoristek.

H5: Vsebnost tekstilnega barvila v celuloznih vlaknih negativno vpliva na učinkovitost encimske hidrolize, posledično nastane manj glukoze, kar zmanjšuje končno koncentracijo glukoze.

Prisotnost barvil negativno vpliva na encimsko hidrolizo bombaža, saj zavira njegovo pretvorbo v glukozo (Czilik idr., 2002). Buschle-Diller idr. (1998) so ugotovili, da je tak negativen učinek odvisen od kemijske strukture barvila.

2. TEORETIČNI UVOD

2.1. Problem odpadnega tekstila in okoljske obremenitve

V zadnjih nekaj desetletjih se je tekstilna industrija razvila v smeri „hitre mode“. Za tako imenovan globalen pojav je značilen hiter razrast tekstilne industrije, ki proizvaja poceni oblačila, izdelana iz neakovostnih materialov, ki imajo kratek rok trajanja in se nosijo le eno sezono ali manj, preden se zavržejo (Zveza potrošnikov Slovenije, 2023).

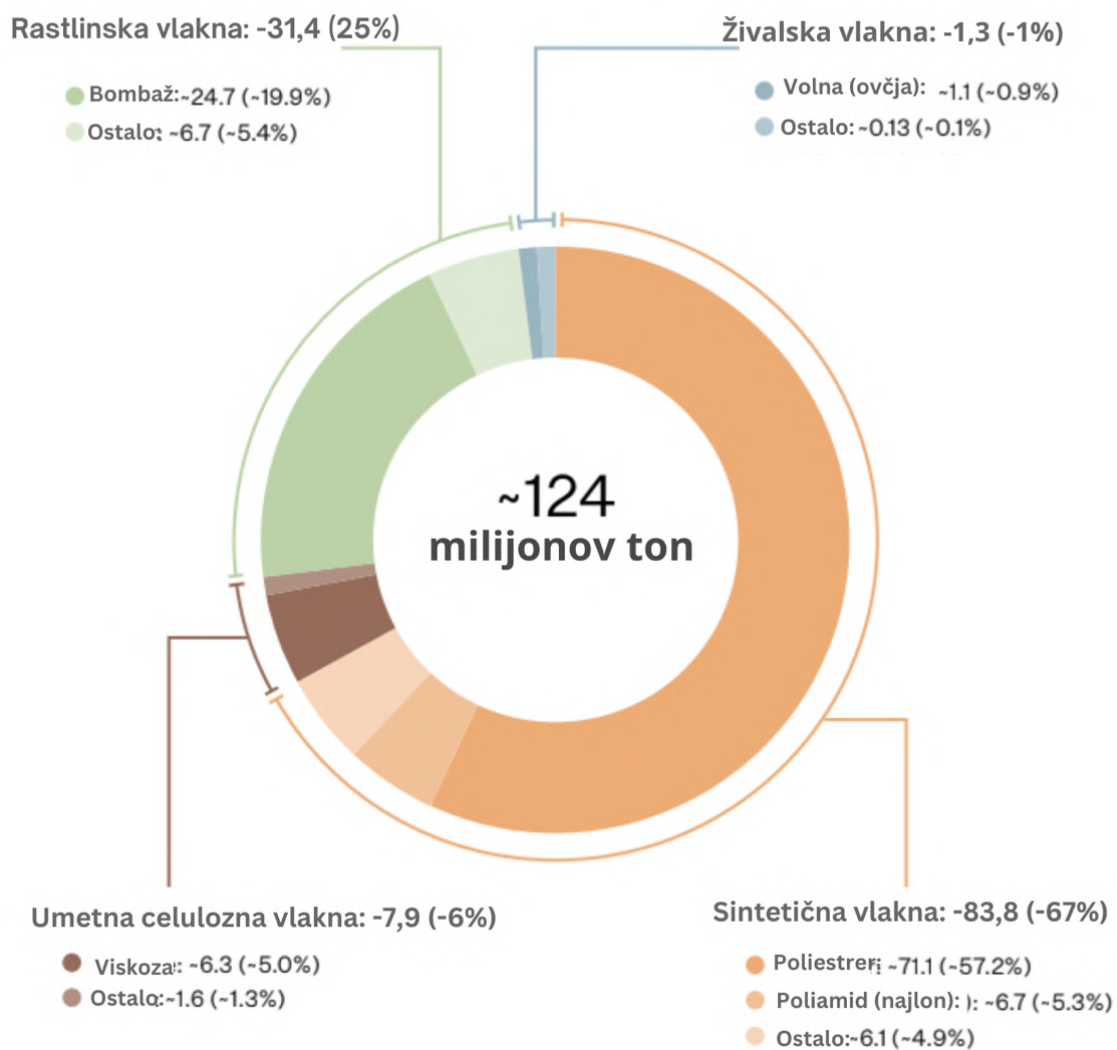
Oblačila predstavljajo kar 81 % potrošnje tekstilnih izdelkov v Evropski uniji. Trendi, ki skrajšujejo čas uporabe oblačil, preden se zavržejo, so največji razlog za čezmerno proizvodnjo in potrošnjo (Evropska komisija, 2022).

Prekomerna proizvodnja in poraba tekstila povzročata veliko okoljsko obremenitev in podnebne spremembe. Negativni vplivi segajo do poslabšanja čistosti prsti in vode, saj se pri proizvodnji tekstilnih izdelkov sprošča velika količina energije, hkrati pa uporaba kemičnih barvil in ostalih tekstilnih pomožnih sredstev onesnažuje okolje in škodljivo vpliva na vodne ekosisteme.

Slika 1 prikazuje sestavo svetovnega proizvoda tekstila leta 2023. Po podatkih Textile Exchange iz leta 2023 rastlinska vlakna predstavljajo 25 %, ostala celulozna vlakna pa 6 % celotnega svetovnega obsega proizvodnje vlaken, kar skupno predstavlja le tretjino vseh proizvedenih vlaken. Kar 67 % letnega proizvoda tekstila pa predstavljajo sintetična oz. umetna vlakna.

Slika 1:
Sestava svetovnega proizvodnje tekstilnih izdelkov leta 2023

Svetovna tekstilna proizvodnja 2023 (v milijonih ton in % svetovnega proizvoda tekstila)



(Povzeto po Textile Exchange, 2024)

2.2. Zakoni in ukrepi Evropske unije proti okoljski obremenitvi

Evropska unija, ki ima pomembno vlogo v svetovni tekstilni industriji, je največja svetovna uvoznica tekstila. Ocenjuje se, da se 38 % zavrženega tekstila v EU zbira ločeno za ponovno uporabo ali recikliranje (Evropska komisija, 2021). To ustreza 1,7- 2,1 milijona ton, medtem ko se preostalih 3,3 milijona ton zavrže med mešanimi gospodinjskimi odpadki in se bodisi sežge bodisi odloži na odlagališčih. (Evropska komisija, 2021). Po oceni Evropske agencije za okolje (2021) kaže, da je poraba tekstila v Evropski uniji v primerjavi z drugimi kategorijami potrošnje leta 2020 povzročila tretji največji okoljski odtis na kakovost vode in prsti, ter peto največjo porabo surovin in emisij toplogrednih plinov.

Cilj revidirane okvirne direktive o odpadkih Evropskega unije iz leta 2018 je bila to spremeniti z ureditvijo ločenega zbiranja vsega tekstila do leta 2025 (Evropski parlament in Evropski svet, 2018). Prav tako evropske direktive 2020 in strategija Evropske unije za tekstil 2021 spodbujajo ponovno uporabo in recikliranje tekstilnih odpadkov zaradi visoke stopnje onesnaževanja med proizvodnim procesom (Zebec, Ž. idr., 2022).

Državne članice so bile zavezane z okvirno direktivo o odpadkih, da do 1. januarja 2025 zagotovijo ločeno zbiranje tekstilnih izdelkov za ponovno uporabo, pripravo za ponovno uporabo in recikliranje (Svet Evropske unije, 2024). V Sloveniji je s 1. januarjem 2025 začela veljati zahteva za ločeno zbiranje tekstilnih odpadkov oz. prepoved mešanja teh s komunalnimi odpadki (Uredba o odpadkih, Uradni list RS št. 77/22, 2022, čl. 73) in (Uredba o spremembah Uredbe o odpadkih, Uradni list RS št. 113/23, 2023).

2.3. Recikliranje celuloznega tekstila, kot podpora krožnega gospodarstva

Rezultat recikliranja tekstila so pogosto izdelki nižje vrednosti, ki bodo na koncu spet odvrženi med preostale odpadke (Shen, 2011). Ustrezno recikliranje tekstila bi lahko zmanjšalo proizvodnjo primarnih vlaken in s tem prihranilo dragocene neobnovljive vire. Krožni gospodarski modeli in oblikovanje bi lahko zmanjšali negativne vplive proizvodnje in porabe tekstila z ohranjanjem vrednosti tekstila, podaljšanjem njegove življenjske dobe in povečanjem uporabe recikliranih materialov (Evropski parlament, 2023). Za to so potrebne tehnične,

družbene in poslovne inovacije, podprte s politiko, izobraževanjem in spremembami vedenja potrošnikov (Evropski parlament, 2023).

»**Krožno gospodarstvo** je način organizacije proizvodnje in potrošnje, ki temelji na delitvi, ponovni uporabi, popravilu, prenovi in recikliranju obstoječih materialov in izdelkov, kakor dolgo je to mogoče.« (Evropski parlament, 2023) S takšno organizacijo gospodarstva, kot prikazano na Sliki 2, se življenjska doba izdelkov podaljšuje, zmanjšuje pa se količina odpadkov.

Slika 2:
Krožno gospodarstvo



(SRIP Krožno gospodarstvo, n. d.)

Marca 2020 je Evropska komisija sprejela nov Akcijski načrt za krožno gospodarstvo (Evropska komisija, n. d.). Gre za enega od temeljev evropskega Zelenega dogovora (Green deal), nove evropske agende za trajnostno rast. S prehodom Evropske unije na krožno gospodarstvo se bo zmanjšala obremenitev naravnih virov, ustvarila trajna rast gospodarstva in zvišalo število prostih delovnih mest. Ta je tudi predpogoj za doseg cilja EU o podnebni nevtralnosti do leta 2050 in za zaustavitev izgube biotske raznovrstnosti (Evropska komisija, n. d.).

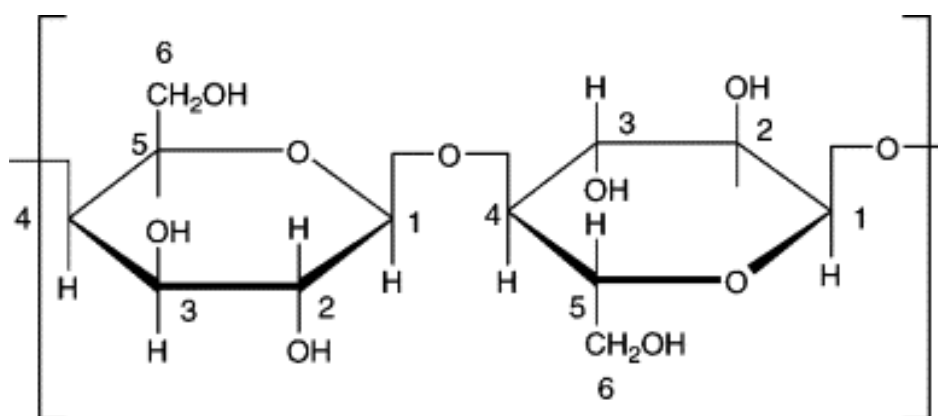
V novem akcijskem načrtu so napovedane pobude v celotnem življenjskem ciklu izdelkov. Osredotoča se na način zasnove izdelkov (Eco design), spodbujanja procese krožnega gospodarstva in trajnostne potrošnje. Prizadeva si za zmanjšanje nastajanja odpadkov in čim daljše ohranjanje virov v gospodarstvu Evropske unije.

Pod okriljem Evropskega parlamenta in komisije se uvajajo zakonodajni in nezakonodajni ukrepi, usmerjeni na področja, na katerih ukrepanje na ravni Evropske unije prinaša resnično dodano vrednost (Evropska agencija za okolje, 2024b).

2.4. Tekstilni materiali iz celuloze

Celuloza je najpogostejši naravni polimer, ki je sestavljen iz več tisoč D-glukočnih enot, povezanih z β -1,4-glikozidnimi vezmi na položajih C1 in C4 (Banwell idr., 2021; Zhang idr., 2018). C1 in C4 označujeta oštevilčena atoma ogljika v molekuli glukoze, kot prikazuje Slika 3.

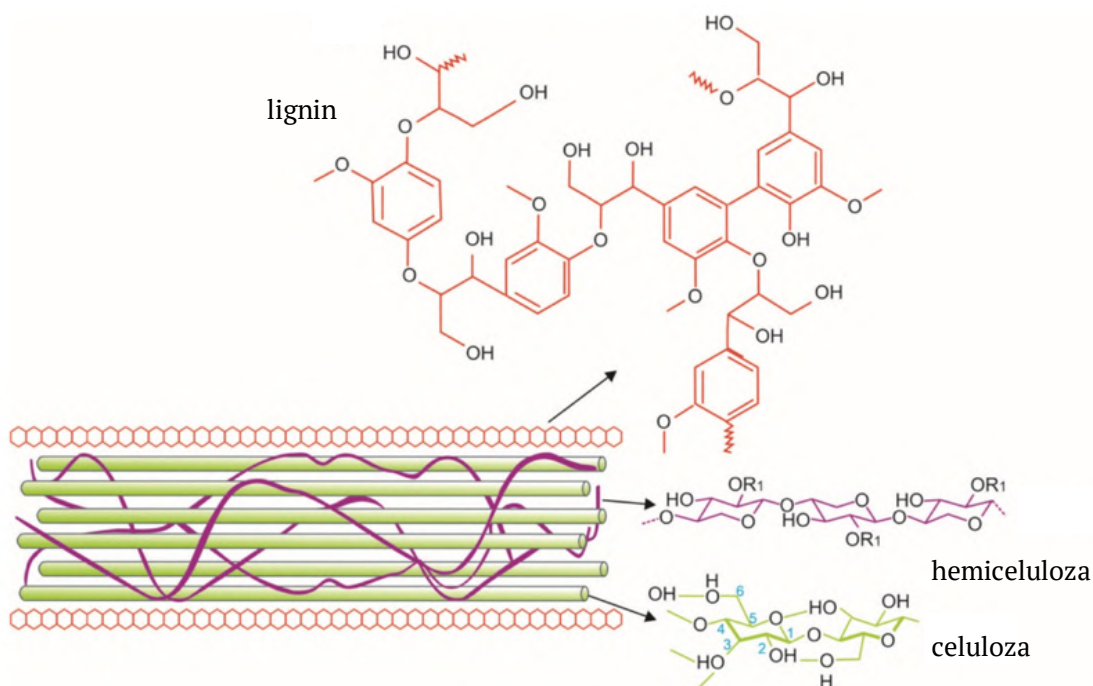
Slika 3:
Struktura D-glukočnih enot celuloze



(Koh, J., 2011)

Dolge verige celuloze so gosto napolnjene s hidroksilnimi skupinami, ki ustvarjajo vodikove vezi znotraj in med molekulami in skupaj z Van der Waalsovimi silami trdno povezujejo dolge verige celuloze v večkristalno strukturo, kar ji daje bistveno večjo mehansko trdnost (Yi Zhang, 2023).

Slika 4:
Struktura lesnih vlaken in molekulska zgradba lignina, celuloze in hemiceluloze



(Povzeto po Ojo, A. O., MDPI, 2023)

Polimerne enote celuloze so v bombažu organizirane v vzporedne ureditve, imenovane kristaliti, nato pa v večje agregate, imenovane fibrile ali vlakna (Möller in Popescu, 2012). Vlakna bombaža običajno vsebujejo od 88 % do 96 % celuloze, preostanek pa so beljakovine in hemiceluloza (Möller in Popescu, 2012).

Njihov primarni vir je celična stena lesnih in nelesnih vlaken (Vera idr., 2022). Na Sliki 4 je prikazana struktura celične stene lesnih vlaken, ki jo sestavljajo lignin, celuloza in hemiceluloza. Tekstila vlakna v primerjavi z lesnimi ne vsebujejo lignina.

Zaradi zgodovinskega razvoja, dostopnosti in številčnosti pa so danes najbolj uporabljeni viri celuloznih vlaken bombaž, konoplja in lan (Möller in Popescu, 2012). Iz celuloze se izdelujejo številni izdelki, ki so ključni v današnji družbi, kot so papir, kartonski embalažni izdelki in oblačila (Vera idr., 2022).

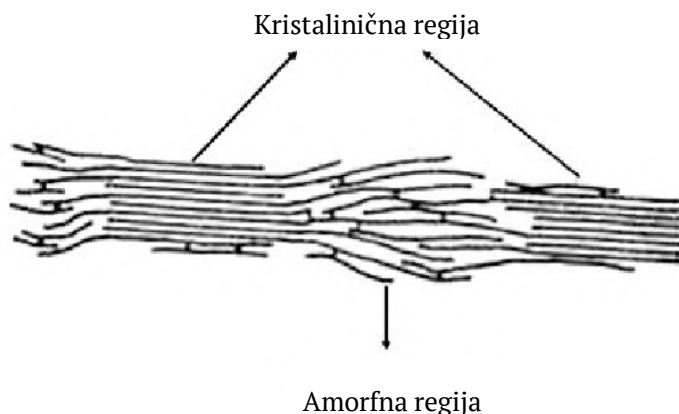
Celulozna vlakna imajo majhen okoljski vpliv in so sestavljena iz 100-odstotno obnovljivega ogljika (Gritsch, S. M., 2023). So biorazgradljiva, tudi v morskih okoljih, kjer zaradi njihove razgradnje ne nastanejo mikroplastični delci, v nasprotju z oblačili iz sintetičnih vlaken, ki so po ocenah vzrok za 35 % tovrstnih delcev v svetovnih oceanih (Gritsch, S. M., 2023).

2.5. Predobdelava tekstila z alkalizacijo

Pred encimsko hidrolizo je potrebna predhodna obdelava celuloznih materialov (Houfani idr., 2020). Običajno se v prvem koraku uporabi mehanska obdelava, da se poveča encimom dostopna površina, z rezanjem ali mletjem tkanine na manjše kose (Lee in Fan, 1982).

Po mehanski predobdelavi nastopi alkalizacija. Ta v vlaknih cepi glikozidne vezi polisaharidov, kar povzroči zmanjšanje stopnje polimerizacije in kristaliničnosti, ter nabrekanje vlaken (Chen, Y. idr. 2013). Kot prikazano na Sliki 5, alkalizacija povzroči nabrekanje kristaliničnih regij, pri čemer nastanejo amorfne regije, ki so bolj dostopne za encime.

Slika 5:
Kristalinična in amorfna struktura celuloznih vlaken



(Povzeto po Visakh, P. M., 2010)

Kot sredstvo za alkalizacijo običajno uporabljamo natrijev hidroksid (NaOH), kalijev hidroksid (KOH), amonijev hidroksid (NH₄OH) ali kalcijev hidroksid (Ca(OH)₂) (Celignis biomass, 2024). S tem postopkom pripomoremo k odpiranju struktur vlaken, s katerimi povečamo dostopnost celuloze in hemiceluloze za encime (Celignis biomass, 2024). Alkalna predobdelava povzroči tudi nabrekanje hemiceluloznih in celuloznih struktur, pri čemer iz kristaliničnih struktur nastajajo amorfne. S tem se poveča njihova površina, zato postanejo bolj dovzetne za encime (Celignis biomass, 2024).

Učinkovitost alkalne predobdelave je odvisna od mehanske strukture in kemične sestave substrata ter pogojev obdelave (Chen, Y. idr. 2013).

2.6. Metode recikliranja celuloznega tekstila

Razvoj modne in tekstilne industrije ter trend hitre mode med potrošniki sta povzročila hitro globalno povečanje količine tekstilnih odpadkov. Po vsem svetu se približno le četrtnina vsega odpadnega tekstila reciklira ali ponovno uporabi (Juanga-Labayen, J. P. idr., 2022). Odlaganje tekstilnih odpadkov na odlagališčih in sežiganje v sežigalnicah sta široko uveljavljeni izbiri, vendar pa veljata za netrajnostni in okolju neprijazni (Juanga-Labayen, J. P. idr., 2022). Spodbujanje večjega preusmerjanja tekstilnih odpadkov z odlagališč zahteva optimizirane metode ponovne uporabe in recikliranja.

Med eno iz med poznanih metod kemičnega recikliranja štejemo kislinsko hidrolizo. Pri tem postopku se uporabljajo močne kisline, kot sta $\text{HCl}_{(\text{aq})}$ in $\text{H}_2\text{SO}_{4(\text{aq})}$, da se prekinejo β -1,4-glikozidne vezi med glukoznimi enotami, pri čemer nastanejo molekule enostavnih sladkorjev (Dussán K. J., 2014).

Kljub veliki količini proizvedenega sladkorja, pa kislinska hidroliza s koncentriranimi kisljinami povzroča korozijo opreme in veliko porabo kisline. Poleg tega pri nevtralizaciji kislega hidrolizata nastanejo velike količine soli. Zaradi potrebe po velikih količinah kisline ta metoda prej ni veljala za ekonomsko upravičeno. Izboljšanje in razvoj tehnologij za pridobivanje kisline pa sta obnovila zanimanje za uporabo koncentrirane kislinske hidrolize (Jahnavi G. idr., 2017).

Poleg metod kemičnega recikliranja pa se v zadnjem času zelo uveljavljajo tudi biokemične metode z uporabo encimov, ki ob primerni predobdelavi omogočajo pretvorbo celuloznih struktur v enostavne sladkorje (glukoze). Raztopino glukoze pa je moč pretvoriti v produkte z visoko dodano vrednostjo (npr. 5HMF, furfural, levulinska kislina, laktična kislina,...). Pomembna prednost encimskih obdelav je, da encimi delujejo specifično na substrat in jih lahko za pridobivanje čistih razgradnih produktov (npr. raztopine glukoze) uporabimo tudi, kadar obdelujemo mešanice tekstilnih materialov (npr. poliestri/bombaži).

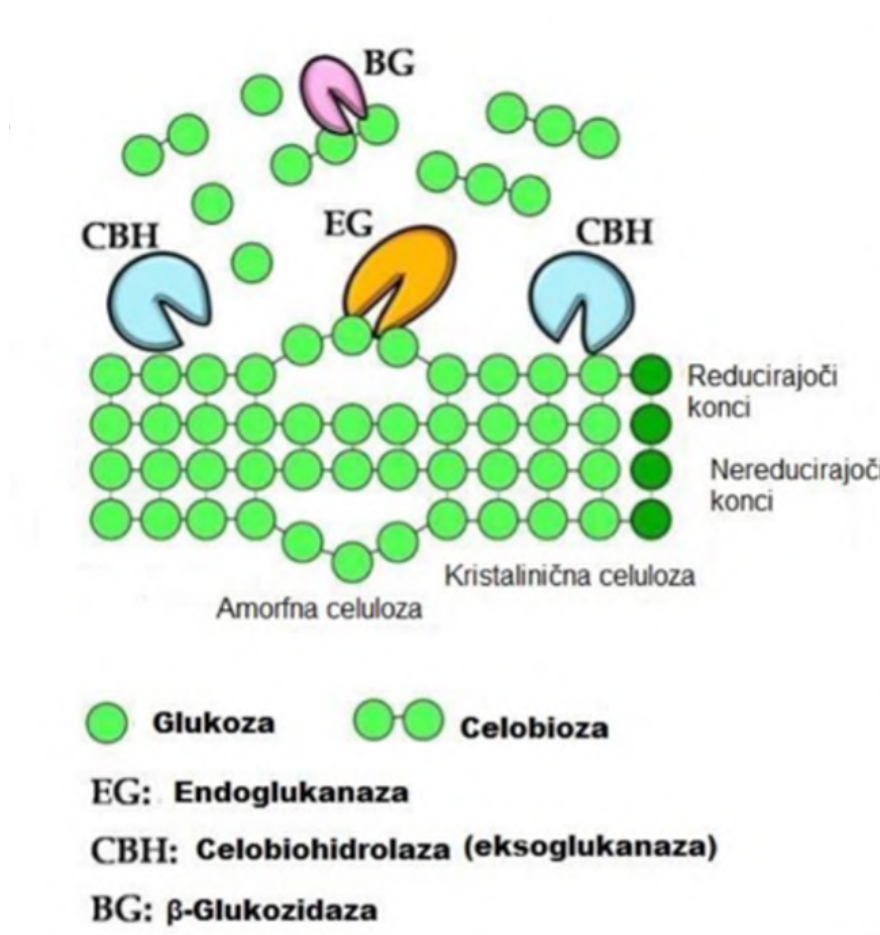
2.7. Razgradnja celuloze z encimsko hidrolizo

Celuloza je preprost polimer, ki tvori netopne, kristalinične mikrofibrile, in je zato zelo odporna na encimsko hidrolizo (Beguin, P. in Aubert, J. P., 1994). Encimska hidroliza je proces, pri katerem encimi cepijo vezi v molekulah polimerov, tako da nanje vežejo molekule vode (Wang in Lü, 2021). Ko imamo za produkt encimske hidrolize monosaharide, tak proces imenujemo

saharizacija (Rickenbacher, M., 2024). Pri tem postopku encimi celulaze razbijejo dolge celulozne verige v molekule glukoze (Basu, P., 2013). Podoben je prebavnemu procesu, ki poteka v želodcu krave pri pretvorbi travne ali krmne celuloze v molekule glukoze (Basu, P., 2013).

Vsi organizmi, za katere je znano, da učinkovito razgrajujejo celulozo, proizvajajo zalogo encimov z različnimi značilnostmi, ki delujejo skupaj v sinergiji¹ (Beguin, P. in Aubert, J. P., 1994). To so različni sinergistično delujoči hidrolitični in oksidativni encimi, ki se skupno imenujejo celulaze (Barbosa idr., 2020). Glede na encimsko aktivnost jih delimo na tri osnovne tipe, in sicer na: endoglukanaze, eksoglukanaze in β -glukozidaze (Strmljan T., 2015).

Slika 6:
Shema razgradnje amorfnih in kristaliničnih celuloznih struktur s celulaznimi sistemi



(Povzeto po Strmljan, T., 2015)

¹ sodelovanje, medsebojno dopolnjevanje, ki poveča skupno delovanje

Slika 6 prikazuje razgradnjo amorfnih in kristaliničnih celuloznih struktur s celulaznimi sistemi. Prikazana je vloga eksoglukanaz, endoglukanaz in β -glukozidaz, ki režejo dolge polimerne verige celuloze na oligomere in monomere glukoze.

Aktivnost in sposobnost vezave celulaz na bombažne tkanine pa je odvisna od temperature in pH. Røjel idr. (2020) so ugotovili, da odvisnost aktivnosti od pH ni le notranja lastnost encima, temveč tudi posledica specifičnih interakcij med encimom in substratom.

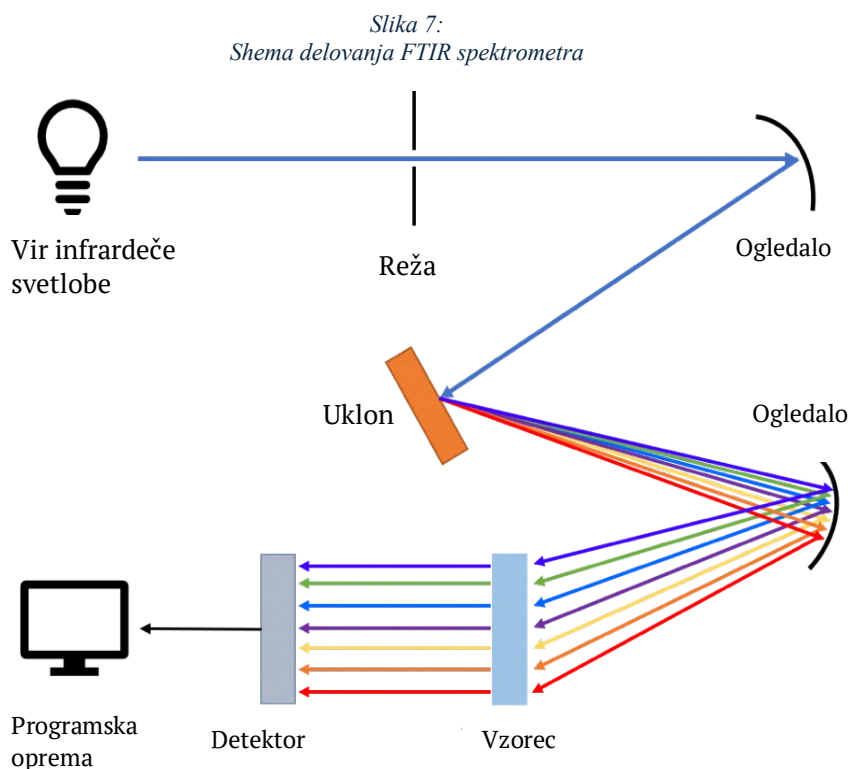
V raziskavi Pardo, A. G. in Forchiassin, F. (1999) je optimalna temperatura za aktivnost celulaznega sistema znašala med 50 °C in 55 °C. Pri različnih encimih pa se je za največjo aktivnost izkazal pH med 4,2 in 5,8, pri čemer je bil pH 4,8 blizu optimalnega za vse raziskave stabilnosti encimov.

2.8. FTIR spektrometrija

Infrardeča spektroskopija s Fourierjevo transformacijo (FTIR) je ena najpogosteje uporabljenih oblik infrardeče spektroskopije (Edinburgh Instruments, 2023). Temelji na principu, da infrardeče (IR) elektromagnetno valovanje, ki prehaja skozi vzorec, deloma absorbira molekularne vezi v vzorcu, preostalo sevanje pa se zazna na senzorju (Gradišnik K., 2023).

Ker različne molekule absorbirajo IR sevanje na specifičnih valovnih dolžinah, njihovi spektri delujejo kot »prstni odtisi« in omogočajo identifikacijo ter razlikovanje molekul (Thermo Nicolet Corporation, 2001). Med meritvami molekularne kovalentne vezi selektivno absorbirajo IR sevanje pri specifičnih valovnih dolžinah, kar povzroči spremembe v vibracijski energiji vezi (Edinburgh Instruments, 2023). Vrsta vibracije je odvisna od atomov, ki sestavljajo vez. Naprava FTIR meri transmitanco širokega spektra IR valovnih dolžin, kar omogoča pridobitev informacij o molekularnih strukturah (Gradišnik K., 2023).

Na Sliki 7 je prikazana shema delovanja in sestavnih delov FTIR spektrometra.



(Povzeto po Xuan, 2020)

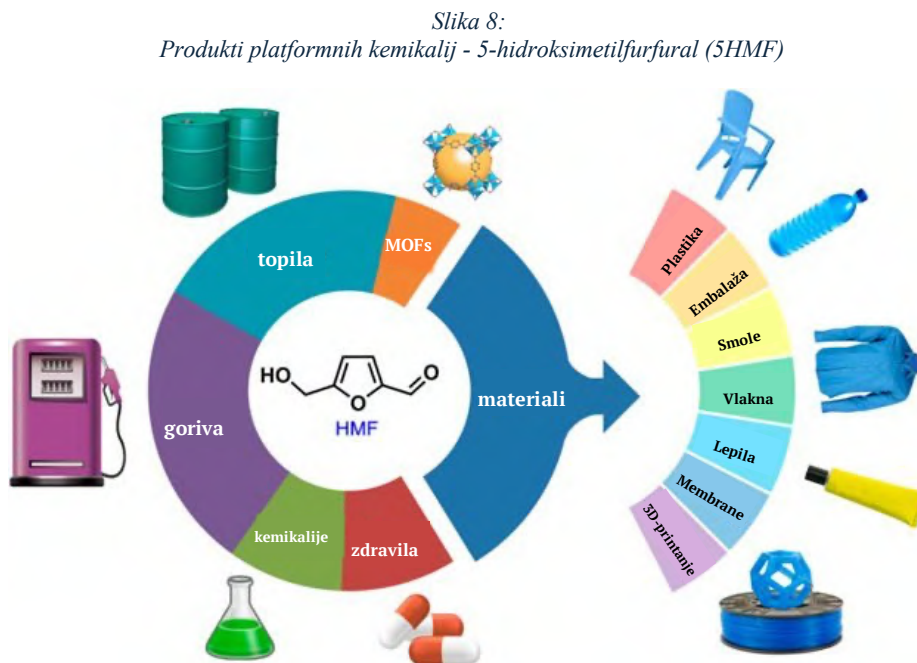
Ker je vsaka snov edinstvena kombinacija atomov, ni dveh spojin, ki bi imela popolnoma enak infrardeči spekter. Zato lahko infrardeča spektroskopija omogoči kvalitativno analizo vsake različne vrste materiala. Poleg tega pa je velikost vrhov v spektru neposreden pokazatelj količine prisotnega materiala (Thermo Nicolet Corporation, 2001). Zaradi svoje hitrosti in občutljivosti je FTIR še posebej priljubljena metoda. (Gradišnik K., 2023).

2.9. Produkti encimske hidrolize in implementacija glukoze kot surovine za farmacevtske in industrijske produkte ter biogoriva

Bombažna vlakna je zaradi čistosti in biorazgradljivosti mogoče skoraj v celoti razgraditi v biološke gradnike, kot je glukoza. Ta pa se lahko z dodanimi postopki predela v nove visokokakovostne izdelke z dodano vrednostjo (Vera, E. R. idr., 2022).

Bombaž kot celulozno bogat in neraziskan biorafinerijski substrat biomase se uporablja tudi za proizvodnjo drugih surovin (Bains idr., 2024). Zaradi prisotnosti visokega deleža celuloznih sestavin v bombažni surovini je mogoče njene odpadke oplemenititi v dragocene platformne kemikalije. 5-hidroksimetilfurfural (5-HMF) in furfural, pridobljena iz biomase, sta zelo ugodni, vsestranski platformni molekuli, ki omogočata številne uporabe v kemični industriji in

biorafinerijah ter sta tudi potencialna kandidata za sintezo farmacevtskih sestavin (Bains idr., 2024). Na Sliki 8 so predstavljena vsa področja produktov, ki jih lahko proizvedemo z nadaljnjo obdelavo 5-hidroksimetilfurfurala.



Hkratno naraščanje števila prebivalcev in industrializacija pa sta povzročila tudi povečano povpraševanje po energiji, pri čemer so fosilna goriva glavni vir energije (Al-Mardeai, S., 2022). Ker so fosilna goriva neobnovljivi viri energije, katerih uporaba ima škodljiv vpliv na okolje, je zelo pomembna usmeritev v iskanje bolj zelenih in trajnostnih virov energije (Al-Mardeai, S., 2022).

Biogoriva, ki so obnovljivi viri energije, proizvedeni iz biomase, so zaradi svoje trajnosti in majhnega vpliva na okolje deležna vse večje pozornosti kot potencialni nadomestki fosilnih goriv, zlasti kot gorivo za vozila. Bioetanol je vrsta biogoriva, ki se pogosto uporablja kot dodatek bencinu v običajnih motorjih za zmanjšanje škodljivih emisij zaradi izgorevanja. Brazilija je na primer močno odvisna od bioetanola, proizvedenega iz sladkornega trsa, kot vira energije. Ta predstavlja 18 % celotne porabe energije v državi (Al-Mardeai, S., 2022). Vendar sladkorni trs in podobne surovine, ki so tudi zaloge hrane, niso prednostno namenjene uporabi za proizvodnjo energije.

Za predelavo tkanine v etanol, se uporablja postopek saharizacije in fermentacije. Pri tem postopku, se celulozna vlakna razgradijo v molekule glukoze z encimsko hidrolizo in nato fermentirajo v etanol (Richenbacker, M., 2024).

Potencial pretvorbe odpadnega tekstila v bioetanol predstavlja trajnostno rešitev za zmanjšanje emisij toplogrednih plinov in zmanjšanje odvisnosti od fosilnih goriv (Beguin, P. in Aubert, J. P., 1994). Kljub dobremu potencialu omenjenih obnovljivih virov energije, pa je pomembno poudariti, da pridelovanje biogoriv iz naravnih substratov ne štejemo za recikliranje.

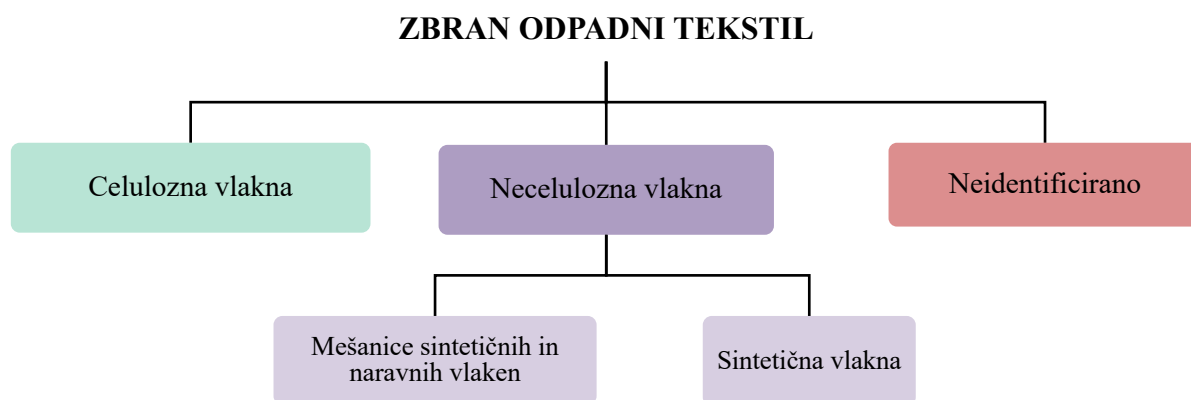
3. EKSPERIMENTALNO DELO

3.1. Zbiranje odpadnega tekstila

V okviru raziskovalne naloge smo na šoli organizirali zbiralno akcijo odpadnega tekstila. Namen zbiranja in analize surovinske sestave materialov zbranega odpadnega tekstila je bil ugotoviti kolikšen delež odpadnega tekstila je možno reciklirati z metodo encimske razgradnje, če predpostavimo, da lahko s to metodo popolnoma razgradimo samo sto-odstotna celulozna vlakna (bombaž, lan, viskoza). Ta podatek nam pove, kolikšen vpliv lahko ima naša metoda pri svetovnem recikliranju odpadnega tekstila: kolikšen delež odpadnega tekstila lahko recikliramo in kolikšnega deleža odpadnega tekstila s to metodo ne moremo reciklirati.

Tekstil, ki smo ga zbrali v roku enega tedna, smo sortirali po materialu, iz katerega je bil narejen na tri kupe.

Slika 9:
Razvrščanje zbranega odpadnega tekstila

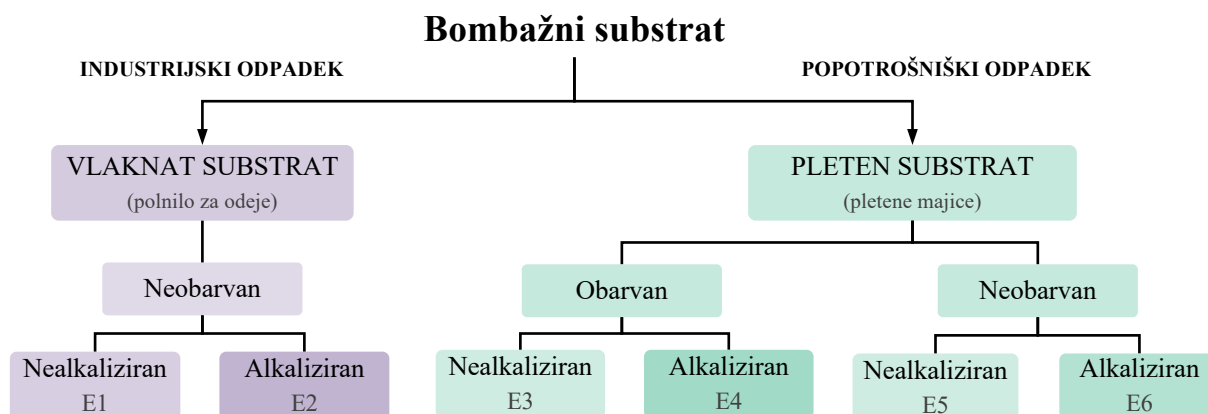


Na prvem kupu smo zbirali tekstil iz vsaj 95 % celuloznega materiala kot sta bombaž in viskoza, na drugem tekstil iz mešanic umetnih vlaken (poliester, elastan, itd.) in na tretjem tekstil, katerega material ni bil znan, saj so bili kosi oblačil brez etikete materiala. Presortiran tekstil smo stehali in prikazali na grafih ter primerjali s podatki iz literature v poglavju 4. Rezultati eksperimentalnega dela.

3.2. Encimska razgradnja

Reciklaže odpadnih celuloznih vlaken smo se lotili po postopku encimske razgradnje. Za substrat smo uporabljali dve obliki bombažnega substrata iz dveh različnih virov, industrijski odpadek (polnilo za odeje – vlaknat substrat) in popotrošniški odpadek (obarvane in neobarvane pletene majice – pletenina). Pletenino smo pred razgradnjo mehansko obdelali z mletjem na manjše koščke, velikosti 1 cm^2 . Na obeh oblikah smo izvedli šest eksperimentov s predhodno alkalizacijo in brez predhodne alkalizacije.

Slika 10:
Razvrstitev ekperimentov po viru in obliki materiala



Kot prikazano na Sliki 10 smo eksperimentalni del razdelili na šest delov:

- E1 - Nealkalizirana vlaknast substrat,
- E2 – alkaliziran vlaknast substrat,
- E3 - nealkalizirana neobarvana pletenina,
- E4 - alkalizirana neobarvana pletenina,
- E5 – nealkalizirana obarvana pletenina in
- E6 - alkalizirana obarvana pletenina.

Vsakega od šestih eksperimentov smo izvajali 5 dni, od ponedeljka do petka, in vzorčili dvakrat na dan, zjutraj in popoldan.

Slika 13:

Vlaknat substrat – bombažno polnilo za Pletenina – zmlate neobarvane bombažne majice



Slika 12:

Pletenina – zmlate neobarvane bombažne majice



Slika 11:

Pletenina – razrezane obarvane bombažne majice



Slike 11, 12 in 13 prikazujejo oblike substratov uporabljenih v eksperimentih.

3.2.1. Predobdelava vlaken z alkalizacijo

Uporabljen material in pripomočki:

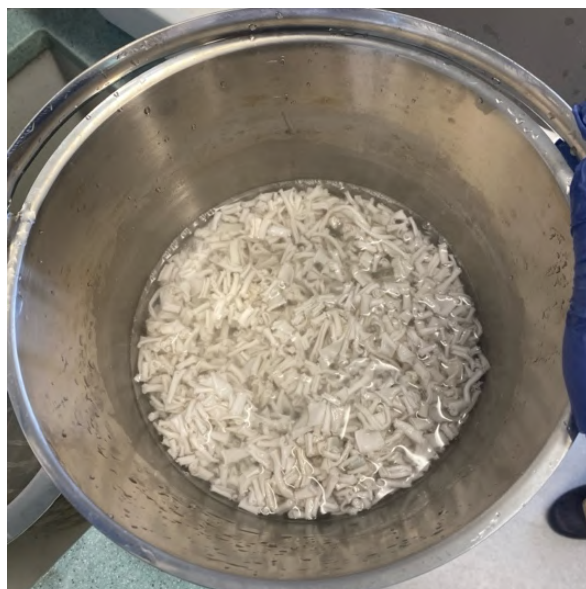
- Avtoklav Nüve® NC 90N,
- tehnica XP205 Mettler Toledo,
- vodovodna voda,
- kovinska vedra,
- sito,
- čaše (2000 mL, 3000 mL),
- aluminijasta folija,
- 200 g mletih neobarvanih bombažnih majic,
- 200 g mletih obarvanih bombažnih majic,
- 200 g bombažnega polnila,
- 1 % NaOH_(aq).

Pri eksperimentih E2, E4 in E6 smo morali bombažni substrat najprej alkalizirati. Kot sredstvo za alkalizacijo smo uporabili 1 % raztopino natrijevega hidroksida. Pripravili smo raztopino z 3200 mL vodovodne vode in 32 g NaOH_(s). Za vsak del eksperimenta smo odmerili 200 g vlaken. V vedro smo k 200 g suhih vlaken dodali 1 % NaOH_(aq) in ga prekrili s plastjo aluminijaste folije. Avtoklav smo nastavili na nastavitve za tekočine, na 121 °C za 30 minut.

Postopek alkalizacije posamičnega eksperimenta je trajal 3 – 4 ure, saj se je tekočina segrevala počasi.

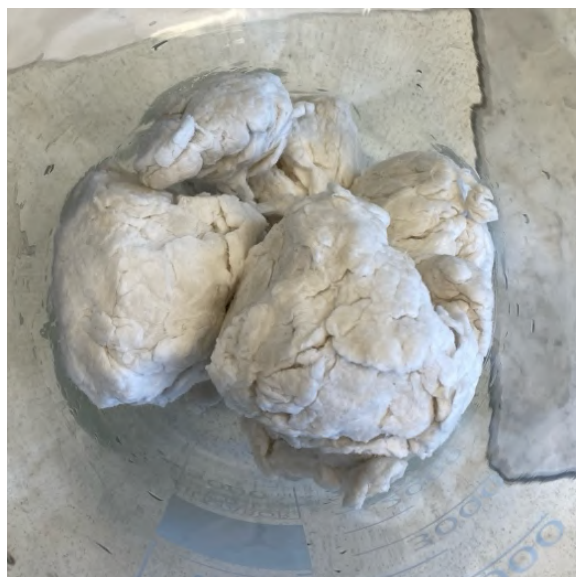
Po koncu alkalizacije smo odstranili plast aluminijaste folije in vsebino prelili skozi sito. Nato smo jo enkrat sprali z vročo vodovodno vodo in dvakrat z vodovodno vodo sobne temperature.

Slika 14:
Neožete zmlate obarvane bombažne majice po alkalizaciji



Pri obarvanih vlaknih smo opazili tudi učinek razbarvanja (Slika 14), ki bi lahko zaradi manjše količine barvil v vlaknih, prisotnost katerih običajno zmanjša vpliv na aktivnost encimov, pozitivno vplivala na učinkovitost encimske razgradnje.

Slika 15:
Ožeta vlakna bombažnega polnila po alkalizaciji



Volumen ostale vode v alkaliziranih vlaknih smo odšteli od želenega volumna raztopine v reaktorju (4 L), da smo dobili volumen potrebnega amonijevega sulfata za začetek encimske hidrolize:

$$V_{(NH_4)_2SO_4} = V_{raztopine} - \delta_{vode} (m_{ožeta\ alkalizirana\ vlakna} - m_{suha\ vlakna}) \quad (1)$$

Pri delih kjer vlaken nismo alkalizirali, so bila ta suha, zato smo v reaktor dodali 4L amonijevega sulfata.

3.2.2. Encimska razgradnja nealkaliziranih in alkaliziranih vlaken v reaktorju

Uporabljen material in pripomočki:

- Mešalo Heidolph® Hei-Tourque Core,
- pH-meter InLab® Expert Pro Mettler Toledo,
- 3 M KCL_(aq),
- tehnica XP205 Mettler Toledo®,
- Pasteurjeve pipete,
- Avtomatska pipeta Finnpipette® Thermo Scientific® 70 µL-1000 µL,
- deionizirana voda,
- Eppendorf® centrifugirke,
- encimska mešanica celulaz,
- čaše (200 mL, 3000 mL),
- merilni valj (1000 mL),
- grelni sistem,
- steklena palčka,
- 200 g neobarvana pletenina,
- 200 g obarvana pletenina,
- 200 g vlaknast substrat,
- alkalizirana neobarvana pletenina (200 g suhe mase),
- alkalizirana obarvana pletenina (200 g suhe mase),
- alkaliziran vlaknast substrat (200 g suha masa),
- 2 M NaOH_(aq),
- 1 M H₂SO_{4(aq)},
- 0,1 M (NH₄)₂SO_{4(aq)}.

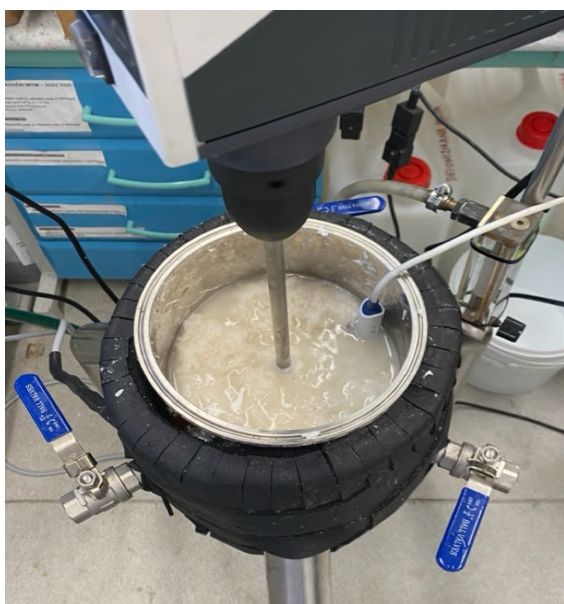
Vse eksperimente smo izvajali v 5 litrskem reaktorju s krožnim grelnim sistemom.

*Slika 16:
Reaktor*



Pri vsakem delu eksperimenta smo za substrat uporabili 200 gramov (suha masa) predhodno alkaliziranega (E2, E4, E6) ali nealkaliziranega (E1, E3, E5) substrata. Pripravili smo vodno raztopino $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4(\text{s})$ in jo dodali v reaktor. Pri nealkaliziranem substratu smo h granulam pufru dodali 4 L vodovodne vode, medtem ko smo pri predhodno alkaliziranem substratu odšteli volumen tekočine, ki je v njem ostala po alkalizaciji in ožemanju .

*Slika 17:
Vzorčenje encimske razgradnje alkaliziranega
vlaknastega substrata po 17 urah*



*Slika 18:
Začetek encimske razgradnje pri obarvani nealkalizirani
pletenini pri 0 urah*



Temperaturo mešanice v reaktorju smo prilagodili na $48\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ in konstantno mešali z mešalom. Pred dodatkom encimske mešanice smo uravnali pH z $2\text{ M NaOH}_{(\text{aq})}$ in $1\text{ M H}_2\text{SO}_4(\text{aq})$ in vzorčili. Po prvem vzorčenju smo dodali encimsko mešanico celulaz, ponovno uravnali pH in odvzeli vzorec.

3.2.3. Vzorčenje

Uporabljen material in pripomočki:

- pH-meter InLab® Expert Pro
Mettler Toledo,
- Pasteurjeve pipete,
- Avtomatska pipeta Finnpipette®
Thermo Scientific® 70 μL -1000 μL ,
- deionizirana voda,
- Eppendorf® centrifugirke,
- 3 M $\text{KCl}_{(\text{aq})}$,
- 2 M $\text{NaOH}_{(\text{aq})}$,
- 1 M $\text{H}_2\text{SO}_{4(\text{aq})}$,
- 0,1 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_{4(\text{aq})}$.

Da bi lahko preverjali nastajanje glukoze tekom reakcije, smo dvakrat dnevno odvzeli 1,5 mL vzorec vsebine v reaktorju. Vzorčili smo vsak dan po pričetku encimske hidrolize, okoli 7:30 in 14:30. Zadnje vzorčenje smo opravljali v petek zjutraj.

V Preglednici 1 je predstavljeno natančno beleženje vzorčenja posameznega eksperimenta:

Preglednica 1: Primer vzorčenja dela eksperimenta

NEALKALIZIRANO NEBARVANO BOMBAŽNO POLNILO - E1											
Datum	25.11 .24	25.11 .24	25.11 .24	25.11 .24	26.11 .24	26.11 .24	27.11 .24	27.11 .24	28.11 .24	28.11 .24	29.11 .24
Časovna oznaka	T0 ²	T0 ³	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
Ura	10:30	10:30	11:30	14:30	07:30	15:00	08:00	15:00	08:00	15:00	07:00
Pretekli čas (h)	0,0	0,0	1,0	3,0	20,0	28,5	46,5	53,5	69,5	76,5	92,5
Dodan 2M $\text{NaOH}_{(\text{aq})}$ (mL)	0,00	0,00	0,65	0,30	1,80	4,50	17,00	0,00	28,00	21,00	16,00
Dodan 1M $\text{H}_2\text{SO}_{4(\text{aq})}$ (mL)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,00	0,00	0,00	0,00
Dodan 0,1M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_{4(\text{aq})}$ (mL)	0,00	3,00	0,85	1,20	0,00	0,00	1340, 00	140,0 0	300,0 0	220,0 0	180,0 0

Pred in po vzorčenju so izmerili tudi pH vrednosti raztopine. Grafi pH vrednosti so predstavljeni v poglavju Rezultati. Ostale preglednice beleženja vzorčenja pa smo predstavili pod poglavjem Priloga.

² vzorčenje pred dodajo encimske mešanice

³ vzorčenje po dodaji encimske mešanice

Med potekom encimske reakcije se pH zaradi različnih dejavnikov spreminja. Zato moramo pred vsakim vzorčenjem prilagoditi pH z 2 M NaOH_(aq) in 1 M H₂SO_{4(aq)}. Prilagajanje pH na optimalno vrednost omogoča učinkovitejše delovanje encimov. Če pH pade pod optimalno vrednost, se učinkovitost delovanja encimov zmanjša (Hwang idr., 1999).

Ohranjali smo konstantni volumen reakcijske mešanice (4 L) tako, da smo po vsakem vzorčenju (zaradi odvzetega volumna tekočine za vzorec in izhlapevanja) nadoknadili razliko z raztopino pufra.

3.3. Analiza vzorcev s FTIR spektroskopijo

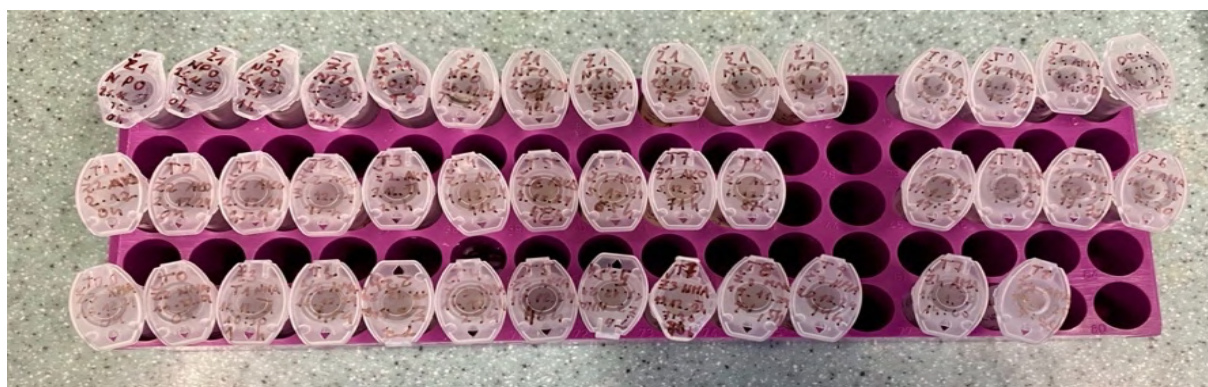
Uporabljen material in pripomočki:

- Hettich® Zentrifugen Universal 320 R,
- PerkinElmer® Spectrum Two,
- Avtomatska pipeta Finnpiette®
- Thermo Scientific® 70 µL-1000 µL,
- puhalka,
- deionizirana voda,
- 0,1 M (NH₄)₂SO_{4(aq)}.

Po odvzemu vseh vzorcev vsakega dela eksperimenta smo jih hranili v hladilniku na primerni temperaturi 8 °C.

Pred analizo s FTIR spektrometrom smo vzorce postavili v centrifugo Hettich® Zentrifugen Universal 320 R za 10 minut na 15000 obratov, da so se trdni delci ločili od tekočine.

Slika 19:
Vzorci eksperimentov E1, E2, E3 in E4



Pripravljene vzorce smo analizirali s pomočjo FTIR spektroskopije. Za ozadje smo izmerili zrak, vzorec destilirane vode in vzorec pufra, v katerem je potekala encimska hidroliza.

*Slika 20:
Analiza vzorcev s FTIR spektrometrijo*



Iz izmerjenih spektrov infrardeče svetlobe, ki so prešle skozi vzorce smo dobili različne identifikacijske krivulje, ki so prikazovale vsebnost glukoze in drugih stranskih produktov, barvil ter tekstilnih pomožnih sredstev, prisotnih v odvzetih vzorcih.

3.4. Ovrednotenje meritev FTIR spektroskopije

Z programom Spekter Quantum smo izmerjene absorpcijske krivulje pretvorili v številčne podatke, ki so izražali masno koncentracijo glukoze v vzorcih. Program nam je omogočil vpogled v spreminjanje koncentracije skozi čas encimske razgradnje.

Zaradi različnih časov poteka reakcije encimske hidrolize, smo morali pri primerjavi nastale glukoze izbrati enak časovni interval od začetka poteka hidrolize. Za časovno točko smo izbrali

87 ur, saj je to bil najkrajši čas poteka reakcije pri eksperimentu E3. S pomočjo programa Microsoft Excel smo izračunali masno koncentracijo ob tem času z uporabo funkcije:

$$=SLOPE(c1:c2; \text{čas1}:\text{čas2}) * 87 + INTERCEPT(c1:c2; \text{čas1}:\text{čas2}),$$

pri čemer smo za čas1 in čas2 vzeli najbližji vrednosti časov vzorčenja in za c1, c2 masni koncentraciji ob teh časih. Koeficient 87 je vrednost časa v urah, katerega koncentracijo računamo.

Funkcija nam poda izračunano masno koncentracijo na podlagi oklepajočih dveh točk, torej za izračun uporablja premo sorazmerje.

3.5. Ločevanje trdnega ostanka in glukoznega soka

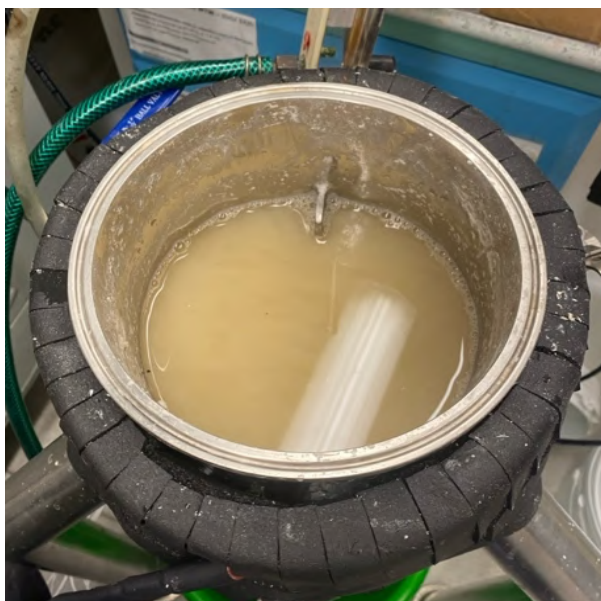
Uporabljen material in pripomočki:

- Vedro (6000 mL),
- sito,
- pladenj,
- sušilnik FD 23, Binder®.

Po odvzemu in pregledu analize zadnjega vzorca, smo ustavili reakcijo encimske hidrolize. Ugasnili smo gretje in mešanje vsebine reaktorja, ter pustili, da se ohladi. Vsebino reaktorja smo prelili skozi ventil na dnu reaktorja v vedro. Nato smo s pomočjo sita ločili trden ostanek od tekočine, tako da so na površini sita ostali samo trdi delci vlaken, ki se med encimsko hidrolizo niso razgradili.

Tekočina, ki se je skozi sito izločila, imenujemo glukozni sok, saj vsebuje proizvedeno glukozo. Te nismo hranili, temveč le njen vzorec, da smo lahko določili masno koncentracijo glukoze. Lahko bi jo nadaljnje uporabili kot surovino za izdelavo 5-hidroksimetilfurfurala, farmacevtskih produktov in biogoriv.

*Slika 22:
Vsebina reaktorja po koncu encimske razgradnje alkalizirane
obarvane pletenine*



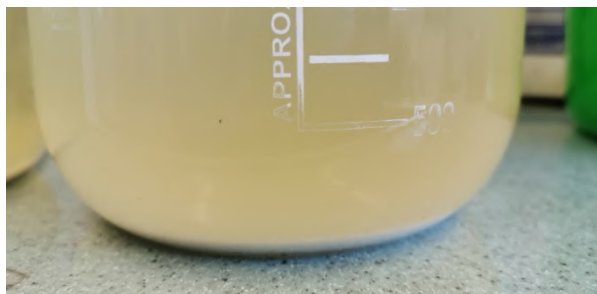
*Slika 21:
Vsebina reaktorju po koncu encimske razgradnje
nealkalizirane obarvane pletenine*



Na slikah 21 in 22 lahko opazimo razliko med barvo tekočega ostanka alkaliziranih in nealkaliziranih obarvanih bombažnih majic. Modra barva tekočega ostanka nealkalizirane obarvane pletenine zmanjšuje njegovo kakovost.

Na Slikah 23, 24, 25, 27 in 28 so prikazani glukozni sokovi vseh eksperimentov v čašah. Na dnu čaš so jasno vidne usedline majhnih delcev nerazgrajenega substrata.

*Slika 27:
Glukozni sok nealkaliziranega vlaknastega substrata*



*Slika 26:
Glukozni sok alkaliziranega vlaknastega substrata*



*Slika 25:
Glukozni sok nealkalizirane neobarvane pletenine*



*Slika 23:
Glukozni sok alkalizirane neobarvane pletenine*



*Slika 28:
Glukozni sok nealkalizirane obarvane pletenine*



*Slika 24:
Glukozni sok alkalizirane obarvane pletenine*



Nerazgrajena vlakna smo oželi, razdrobili na pladenj in postavili za 48 ur v sušilnik FD 23, Binder®. Po sušenju smo ostanek stekali in kvantitativno ovrednotili izkoristek encimske hidrolize po formuli (2).

$$\varepsilon = \frac{m_z - m_k}{m_z} \times 100 \quad (2)$$

ε – izkoristek encimske hidrolize (%)

m_z – začetna masa suhega substrata (g)

m_k – končna masa trdnega ostanka (g)

Pri alkaliziranih obarvanih bombažnih majicah smo opazili popolno razbarvanje (sliki 29 in 30), iz česar lahko sklepamo, da se je z alkalno predobdelavo v celoti odstranilo tudi barvilo.

Slika 32:

Trdni ostanek obarvane alkalizirane pletenine pred sušenjem



Slika 31:

Trdni ostanek obarvane alkalizirane pletenine po sušenju



Slika 30:

Trdni ostanek obarvane nealkalizirane pletenine pred sušenjem



Slika 29:

Trdni ostanek obarvane nealkalizirane pletenine po sušenju



Pri nealkaliziranih obarvanih majicah (sliki 31 in 32) pa ni bilo razbarvanja.

Slika 33:
Primerjava trdnih ostankov eksperimentov E1, E2, E3, E4, E5 in E6



Na sliki 33 lahko opazimo razlike v strukturi in barvi vseh oblik substrata ter popolno razbarvanje alkaliziranih obarvanih bombažnih majic v primerjavi z nealkaliziranimi.

4. REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1. Rezultati analize zbranega odpadnega tekstila

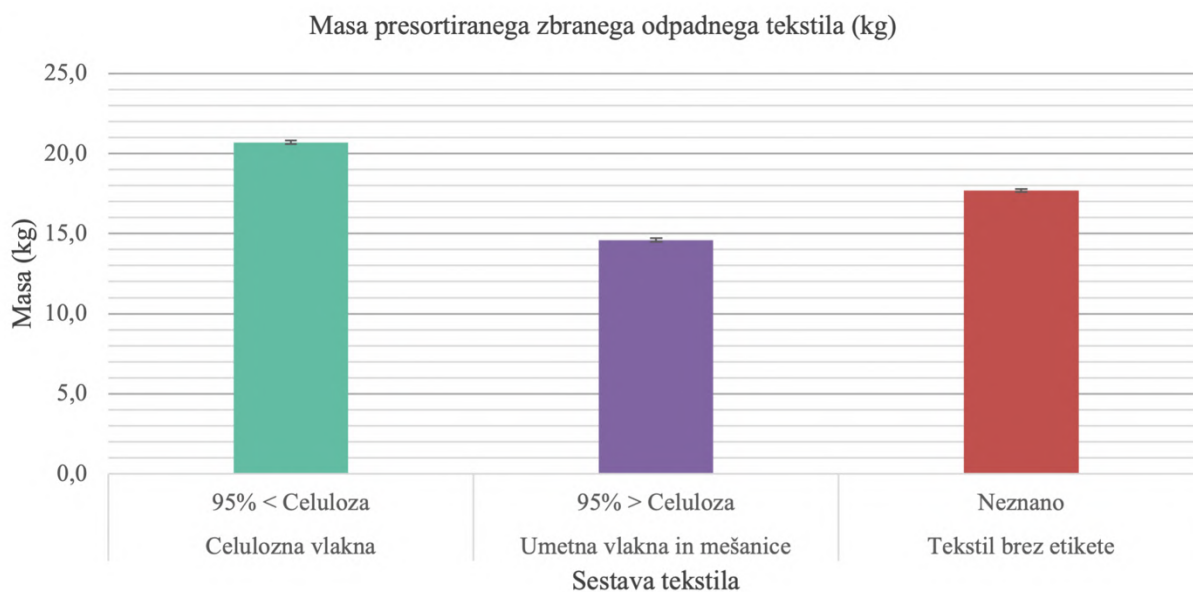
Po koncu zbiralne akcije odpadnega tekstila je sledilo ročno razvrščanje in analiza zbranih kosov tekstila. Razvrščali smo jih glede na njihovo sestavo; iz celuloznih vlaken, mešanic in umetnih vlaken, ter tiste, katerih sestave zaradi manjkajoče etikete nismo mogli določiti. Razvrščeni tekstil smo stehtali in dobili rezultate:

Preglednica 2: Rezultati zbranega tekstila

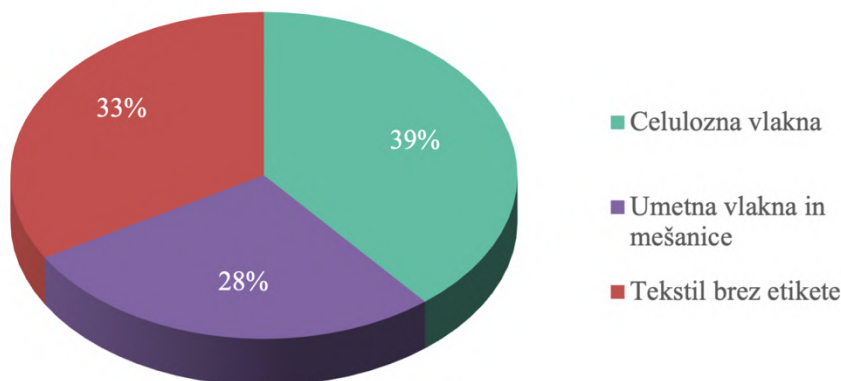
Vrsta materiala	Sestava	Masa tekstila (kg)	Delež vsega zbranega tekstila
Celulozna vlakna	95 % < Celuloza	20,7 ± 0,1	39,1 %
Umetna vlakna in mešanice	95 % > Celuloza	14,6 ± 0,1	27,5 %
Tekstil brez etikete	Neznano	17,7 ± 0,1	33,4 %
Skupaj		53,0 ± 0,3	100,0 %

Za napako smo uporabili napako tehnice.

Slika 34:
Masa presortiranega odpadnega tekstila (kg)



Slika 35:
Delež skupne mase zbranega odpadnega tekstila
Delež mase zbranega tekstila (%)



4.2. Sestava zbranega odpadnega tekstila in primerjava rezultatov s svetovnimi podatki

Naši rezultati zbranega odpadnega tekstila se razlikujejo od uradnih podatkov svetovnih organizacij in Evropske agencije za okolje, na katerih je bila postavljena tudi naša hipoteza H1: *»Večina zbranega odpadnega tekstila je narejena iz umetnih vlaken.«*

Po naših podatkih je bilo 39 % našega vzorca narejenih iz celuloznih vlaken, 28 % iz mešanic oz. umetnih vlaken in kar 33 % je bilo brez etikete.

Ker je bila tretjina zbranega tekstila brez etikete, katerih sestave nismo mogli določiti, lahko sklepamo, da so bili ti po večini iz mešanih ali sintetičnih vlaken. Ta dejavnik predstavlja omejitev pri primerjavi z literaturo, kjer so navedeni podatki za svetovno sestavo odpadnega tekstila. K nasprotovanju s svetovnimi statističnimi podatki pa bi lahko tudi prišlo zaradi majhnega vzorca analiziranega tekstila in naključnega zbiranja tega. Prav tako pa k temu pripomorejo morebitna odstopanja slovenskih statističnih podatkov od svetovnih. Kljub tej negotovosti pa rezultati kažejo, da je v odpadnem tekstilu prisoten pomemben delež celuloznih vlaken in ker lahko z encimsko hidrolizo deloma razgradimo tudi tekstilne mešanice s prisotnimi celuloznimi vlakni, je delež primernih vlaken za razgrajanje še toliko višji. Zaradi velikega deleža tekstila brez etikete, pa naše hipoteze ne moremo potrditi, saj bi za potrditev te bi bila potrebna nadaljnja analiza kosov tekstila, katerih sestave nismo mogli določiti.

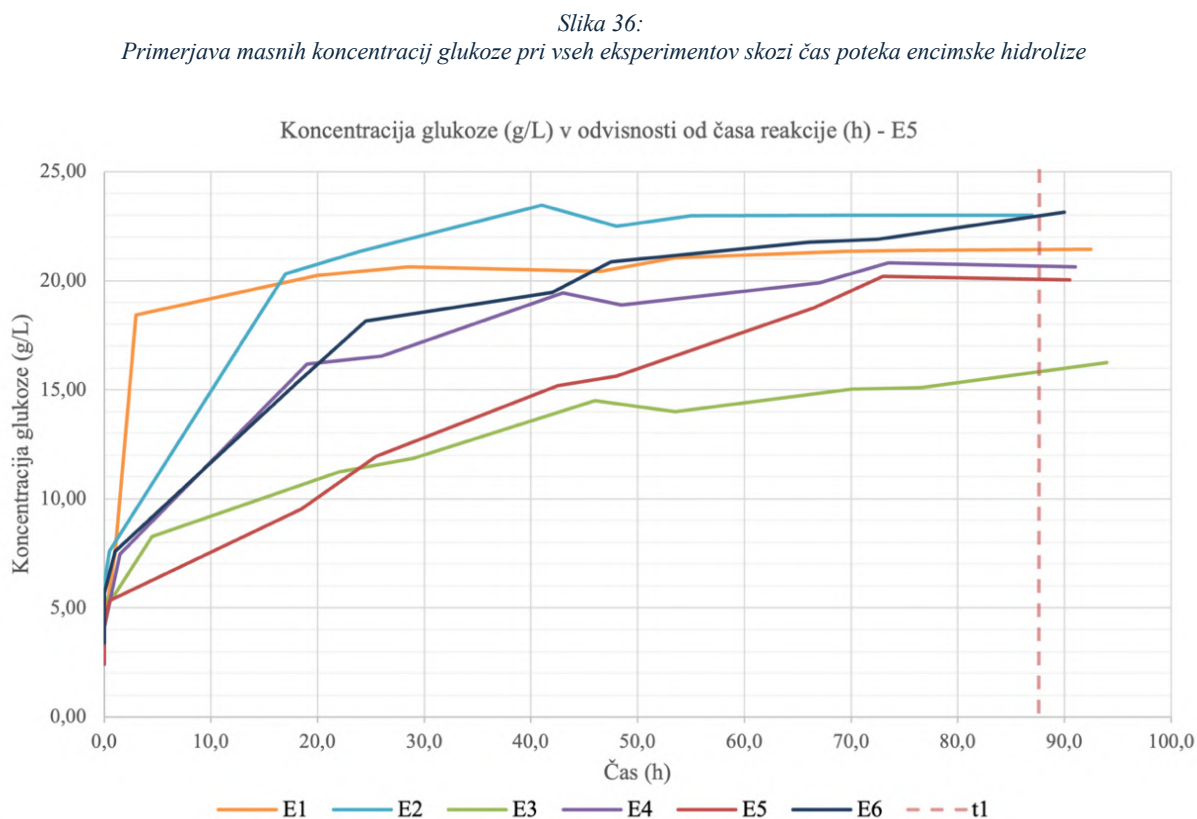
4.3. Rezultati analize FTIR in izkoristek reakcije (%)

Preglednica 3: Primerjava masnih koncentracij glukoze, trdnih ostankov in izkoristkov reakcij

Oznaka eksperimenta	Oblika bombažnega substrata	Vrsta predobdelave	Koncentracija glukoze pri t_1 (g/L)	Trdni ostanek (g)	Izkoristek reakcije (%)
E1	Vlaknast substrat	/	$21,42 \pm 0,49$	123 ± 1	$38,5 (1 \pm 0,4)$
E2	Vlaknast substrat	Alkalizacija	$23,00 \pm 0,49$	131 ± 1	$34,5 (1 \pm 0,4)$
E3	Neobarvana pletenina	/	$15,78 \pm 0,49$	157 ± 1	$21,5 (1 \pm 0,4)$
E4	Neobarvana pletenina	Alkalizacija	$20,68 \pm 0,49$	121 ± 1	$39,5 (1 \pm 0,4)$
E5	Obarvana pletenina	/	$20,07 \pm 0,49$	145 ± 1	$27,5 (1 \pm 0,4)$
E6	Obarvana pletenina	Alkalizacija	$22,94 \pm 0,49$	121 ± 1	$39,5 (1 \pm 0,4)$

Za primerljivost naših rezultatov smo za vse eksperimente izračunali koncentracije glukoze ob času t_1 , ki je znašal 87 ur. Mase trdnih ostankov encimske hidrolize smo izmerili ob koncu vsakega eksperimenta po sušenju in izračunali kvantitativni izkoristek reakcije.

Na Sliki 36 so predstavljene meritve koncentracij glukoze skozi čas reakcije, ki smo jih pridobili iz vzorčenj eksperimentov. Rdeča prekinjena črta označuje čas t_1 ob katerem smo primerjali koncentracije glukoze eksperimentov v Preglednici 3.



Vsi eksperimenti so pokazali plato pri koncentraciji glukoze po času 80 ur (glej Slika 36), kar lahko pripišemo izčrpanju bombažnega substrata zaradi nastajanja produkta (glukoza) oz. vzpostavitvi ravnotežja v raztopini. Najvišjo končno koncentracijo smo izmerili pri eksperimentih E2 in E6 pri alkaliziranih obarvani pletenini in neobarvanem vlaknastemu substratu. Ob času t_1 smo izmerili koncentraciji $23,00 \pm 0,49$ g/L za eksperiment 2 in $22,94 \pm 0,49$ g/L za eksperiment 6. Opazimo lahko razliko le za $0,06$ g/L, kar lahko zaradi napake FTIR spektrometra zanemarimo.

Najnižjo koncentracijo je pokazal eksperiment E3 pri nealkaliziranih bombažnih majicah s končno koncentracijo $15,78 \pm 0,49$ g/L. To izkazuje pomembnost predhodne obdelave z alkalizacijo za učinkovitost encimske hidrolize.

4.4. Povezava med trdnimi ostanki razgradnje in končno koncentracijo glukoze

Trdne ostanke encimske hidrolize smo kvantitativno ovrednotili po koncu vsakega eksperimenta. Če primerjamo količino trdnih ostankov s koncentracijami glukoze v raztopini za različne eksperimente (glej Preglednica 3), opazimo, da ti niso sorazmerni. Pri nekaterih eksperimentih z nižjo končno koncentracijo smo izmerili manjšo maso trdnega ostanka, kar se ne sklada z zakonom o ohranitvi mase. Praviloma naj bi pri eksperimentih z najvišjo končno koncentracijo izmerili najmanjšo maso trdnega ostanka, saj se je ta razgradil v celulozo. K odstopanju prispeva tudi daljše trajanje nekaterih eksperimentov, saj primerjamo koncentracijo glukoze ob istem času, medtem ko trdne ostanke ob različnih končnih časih. Zato masa trdnih ostankov ni zanesljiv kazalnik učinkovitosti encimske hidrolize, saj lahko nanjo vplivajo različni dejavniki, med drugim tudi izguba mase zaradi manipulacije (izpiranja) tekstilnih materialov pri vzdrževanju tekstila (pranje) in po alkalizaciji.

Imajo pa tudi trdni ostanki uporabno vrednost, saj so sestavljeni iz čiste celuloze in bi jih kot take s primernimi postopki priprave (npr. mešanje z lesno biomaso) in preoblikovanja (npr. peletiranje) lahko spremenili v alternativno obliko goriva za energetske izdelave. Potrebno pa je poudariti tudi, da se takšne vrste predelave materialov v goriva ne štejemo pod recikliranje.

4.5. Vpliv oblike bombažnega substrata na učinkovitost encimske razgradnje in izkoristek reakcije

Preglednica 4: Primerjava masnih koncentracij glukoze, glade na vir bombažnega substrata

Oblika in vir bombažnega substrata	Vrsta predobdelave	Oznaka eksperimenta	Koncentracija glukoze pri t_1 (g/L)	Izkoristek reakcije (%)
Industrijski odpadek – vlaknat substrat	Nealkalizirana neobarvana	E1	21,42 ± 0,49	38,5 (1 ± 0,4)
	Alkalizirana neobarvana	E2	23,00 ± 0,49	34,5 (1 ± 0,4)
Popotrošniški odpadek - pletenina	Nealkalizirana neobarvana	E3	15,78 ± 0,49	21,5 (1 ± 0,4)
	Alkalizirana neobarvana	E4	20,68 ± 0,49	39,5 (1 ± 0,4)
	Nealkalizirana obarvana	E5	20,07 ± 0,49	27,5 (1 ± 0,4)
	Alkalizirana obarvana	E6	22,94 ± 0,49	39,5 (1 ± 0,4)

Pričakovali smo višjo koncentracijo glukoze pri vlaknatem substratu, saj je manj obdelano, kar je v nasprotju z bombažnimi majicami, saj so te industrijsko obdelane – beljene in pletene. Stopnje industrijske obdelave, kot so tkanje, predenje in pletenje, zaradi nanosa tekstilnih pomožnih sredstev za mehanske obdelave otežijo in upočasnijo proces alkalizacije in encimske hidrolize. Na drugi strani pa smo v naših eksperimentih obravnavali popotrošniški odpadek, kar pomeni, da so bile uporabljene obarvane bombažne majice (pletenu) pred encimsko hidrolizo že podvržene mnogim ciklom pranja in mehanski obrabi zaradi nošenja, kar lahko pripomore k poškodbam strukture. Slednje je lahko vzrok za boljšo dostopnost encimov do uporabljene obarvane pletenine v primerjavi z nepoškodovanimi vlakni (industrijski odpadek, polnilo za odeje).

Kot pričakovano, smo pri neobarvanih nealkaliziranih materialih opazili 35,7 % višjo končno koncentracijo glukoze pri eksperimentu z vlaknatim substratom (E1) kot pri eksperimentu E3 s pletenu.

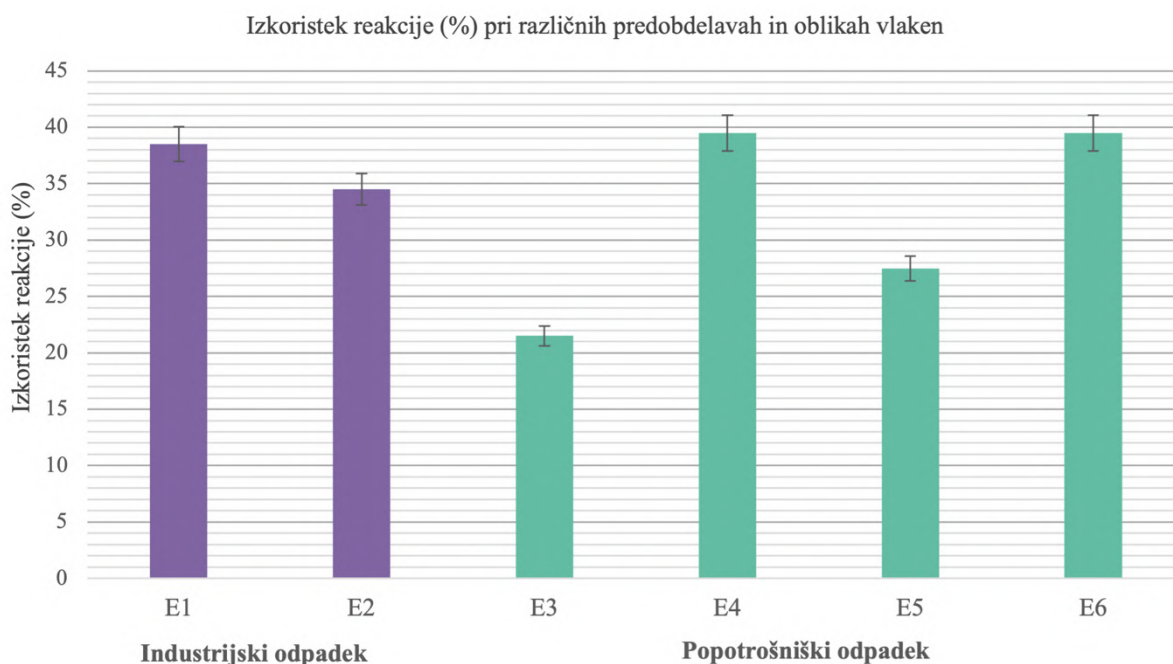
Prav tako je bila koncentracija glukoze pri alkaliziranih vlaknih bombažnega polnila (E2) za 11,2 % višja od tiste pri bombažnih majicah (E4).

Ta ugotovitev podpira hipotezo H3, saj manj obdelana in bolj homogena vlakna omogočajo učinkovitejšo encimsko razgradnjo. Prav tako pa lahko iz tega razberemo, da predobdelava z alkalizacijo učinkovito odpre strukture pletenih vlaken, zaradi katerih so rezultati encimske hidrolize teh eksperimentov boljši.

4.1. Kvantitativni izkoristek reakcije

Na Sliki 37 so z vijolično označeni stolpci, ki označujejo eksperimente izvedene na industrijskem odpadku (vlaknat substrat), medtem ko z zeleno eksperimente izvedene na popotrošniškem odpadku (pletenina).

Slika 37:
Stolpični diagram izkoristkov reakcije encimske hidrolize pri različnih virih bombažnega substrata

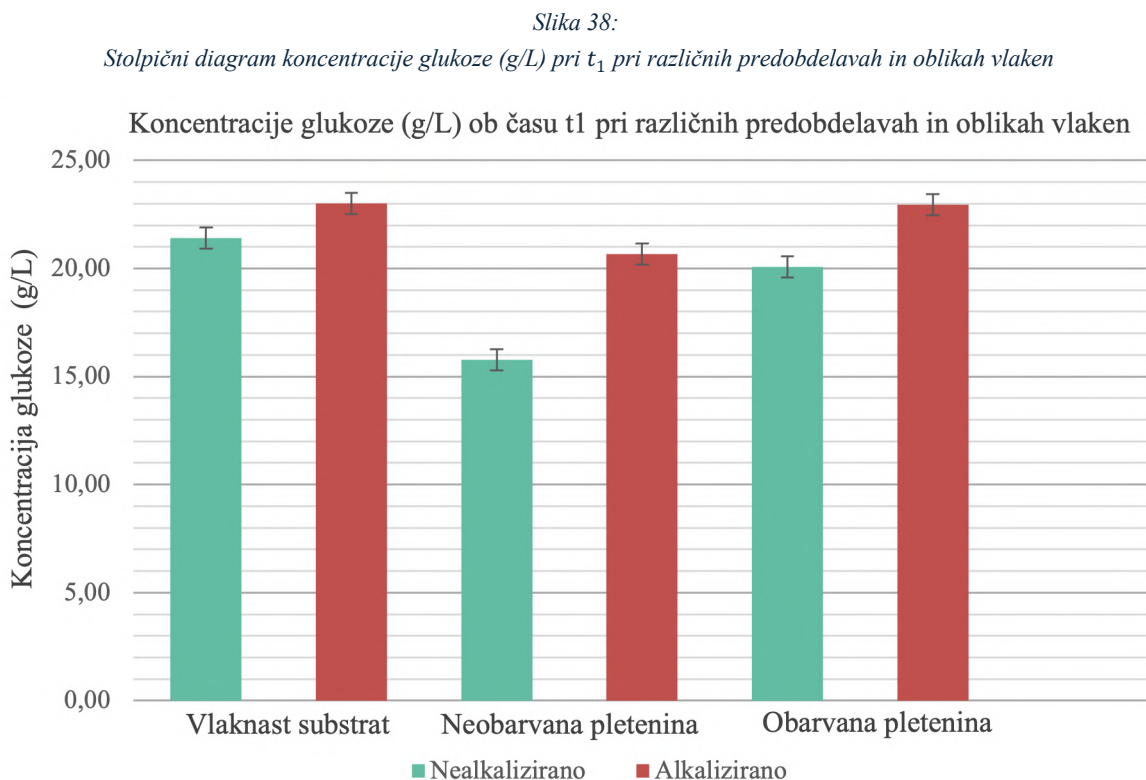


Napaka izkoristkov reakcije je bila izračunana iz napak podatkov začetne mase substrata in trdnih ostankov.

Primerjali smo delež razgrajenega tekstila s kvalitativnim izkoristkom reakcije. Na Sliki 37 opazimo, da imajo alkalizirana vlakna popotrošniškega odpadka večji izkoristek reakcije kot nealkalizirana vlakna istega vira. Nasprotno opazimo pri industrijskem odpadku, kjer ima alkalizirano bombažno polnilo manjši izkoristek, kot nealkalizirano polnilo. Iz tega smo ugotovili, da na trdni ostanek in izkoristek reakcije vpliva več dejavnikov, kot je oblika substrata in predobdelava.

4.1. Vpliv alkalizacije na učinkovitost encimske hidrolize

Na Sliki 38 so z modro označeni stolpci, ki označujejo eksperimente z nealkaliziranimi vlakni, medtem ko z rdečo eksperimente z alkaliziranimi vlakni.



Opazili smo znatno razliko v rezultatih in samem procesu razgradnje med substrati, ki so bili pred encimsko hidrolizo alkalizirani in tistimi, ki niso. Že po alkalizaciji smo opazili zmeščanje substrata, pri obarvani pletenini pa tudi popolno razbarvanje (glej Sliko 14). V nadaljnjem procesu encimske hidrolize so se alkalizirani substrati razgrajali hitreje, kar je bilo opaziti kot lažje mešanje in manjši količini trdnih ostankov v primerjavi z razgradnjo nealkaliziranih substratov.

Kot lahko opazimo na Sliki 38 so bile pri vseh treh eksperimentih z alkaliziranimi substrati koncentracije glukoze višje, kot pri nealkaliziranih.

Pri vlaknatem substratu je bila koncentracija alkaliziranih vlaken višja le za 7,4 % od nealkaliziranega vlaknastega substrata. Pri neobarvani pletenini za 31,1% in pri obarvani 14,3 % glede na istovrstna nealkalizirana vlakna.

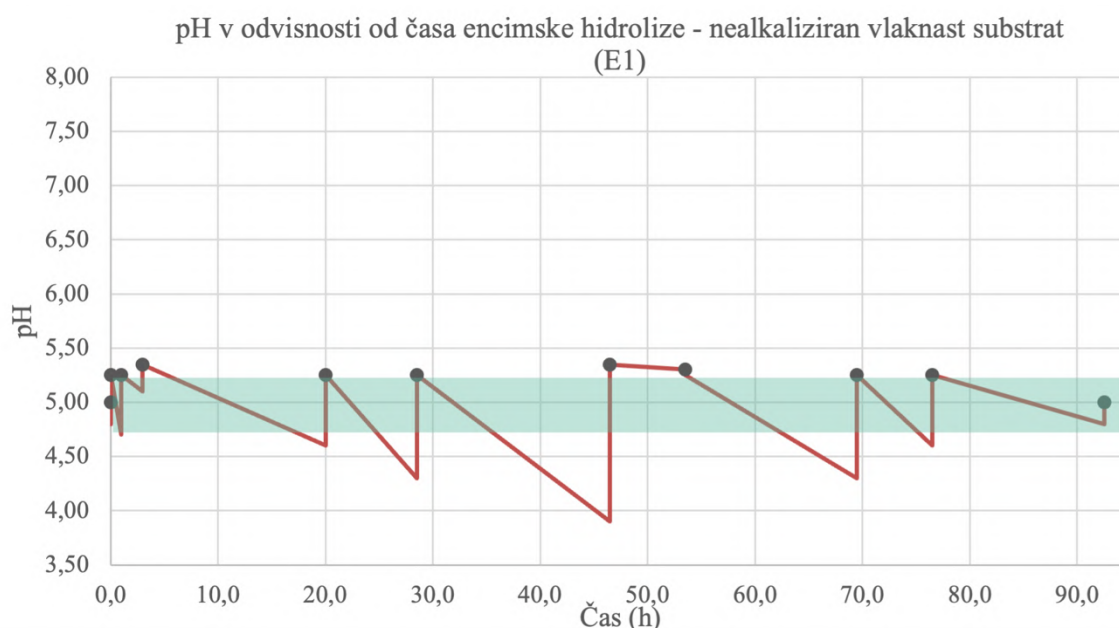
Ti rezultati kažejo, da alkalizacija izboljša učinkovitost encimske hidrolize s povečanjem dostopnosti celuloze in hemiceluloze za encime celulaze in hemicelulaze. Ta ugotovitev potrjuje našo hipotezo H4 in se lahko primerja s podatki iz literature.

4.2. pH vrednosti vzorčenja eksperimentov

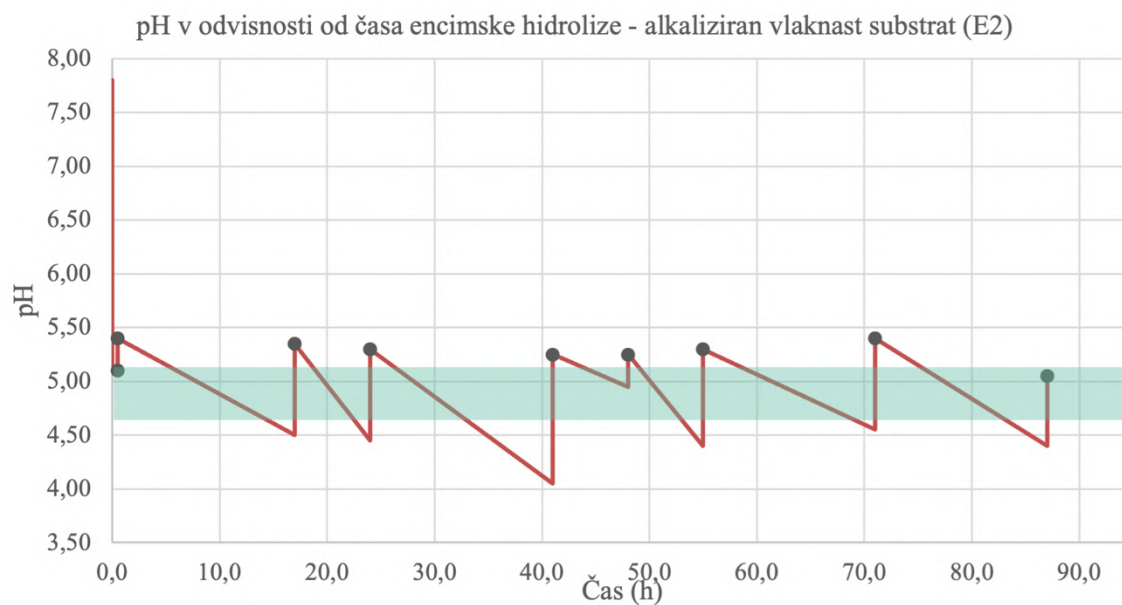
Pred in po vzorčenju smo merili tudi pH vrednosti vsebine reaktorja. Padanje in dvigovanje pH je lahko pokazatelj nastanka razgradnih produktov, sproščanja kemikalij (kot so tekstilna barvila) iz substrata v raztopino, ipd.

Na grafih smo z modrimi točkami označili časovne točke, kjer je bil pH pred vzorčenjem prilagojen. Zeleno območje pa predstavlja območje optimalnega pH za delovanje encimov – celulaze in hemicelulaze.

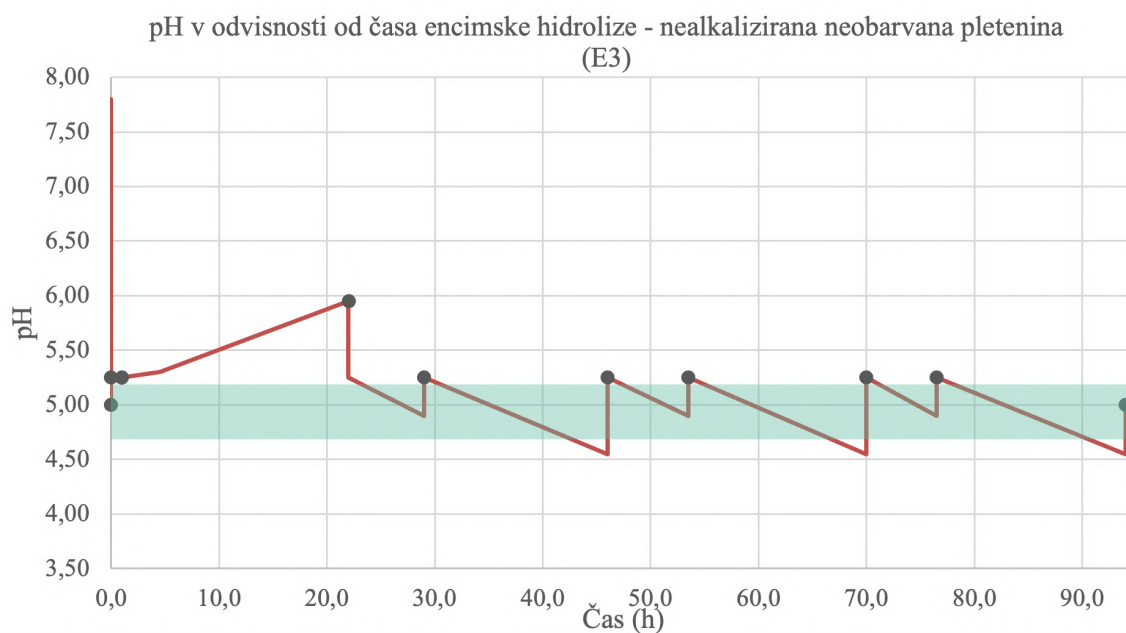
Slika 39:
E1 - pH v odvisnosti od časa encimske hidrolize



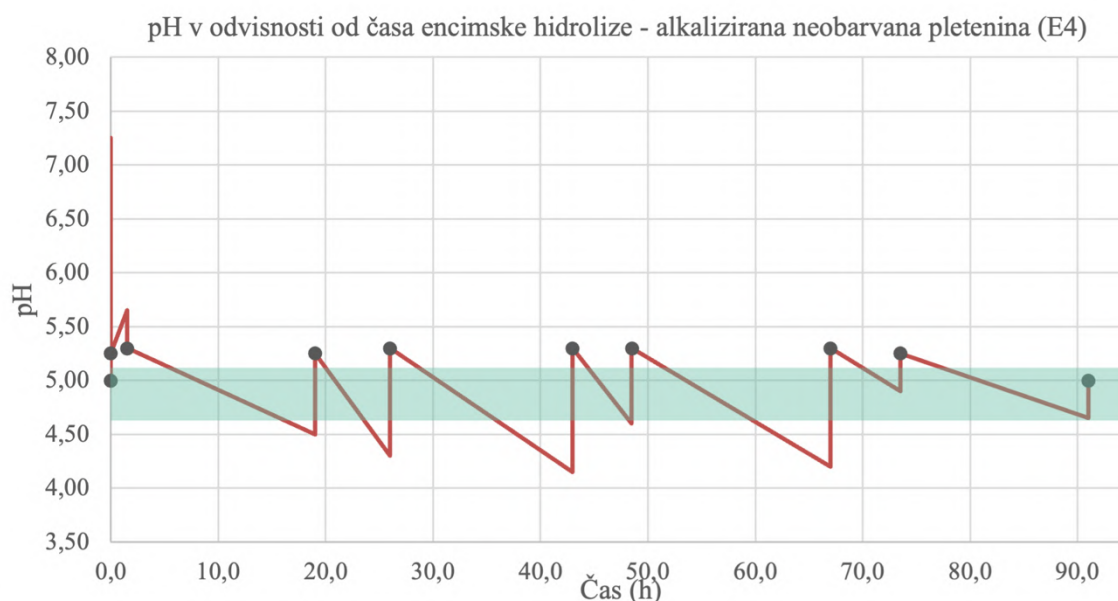
Slika 40:
E2 - pH v odvisnosti od časa encimske hidrolize



Slika 41:
E3 - pH v odvisnosti od časa encimske hidrolize

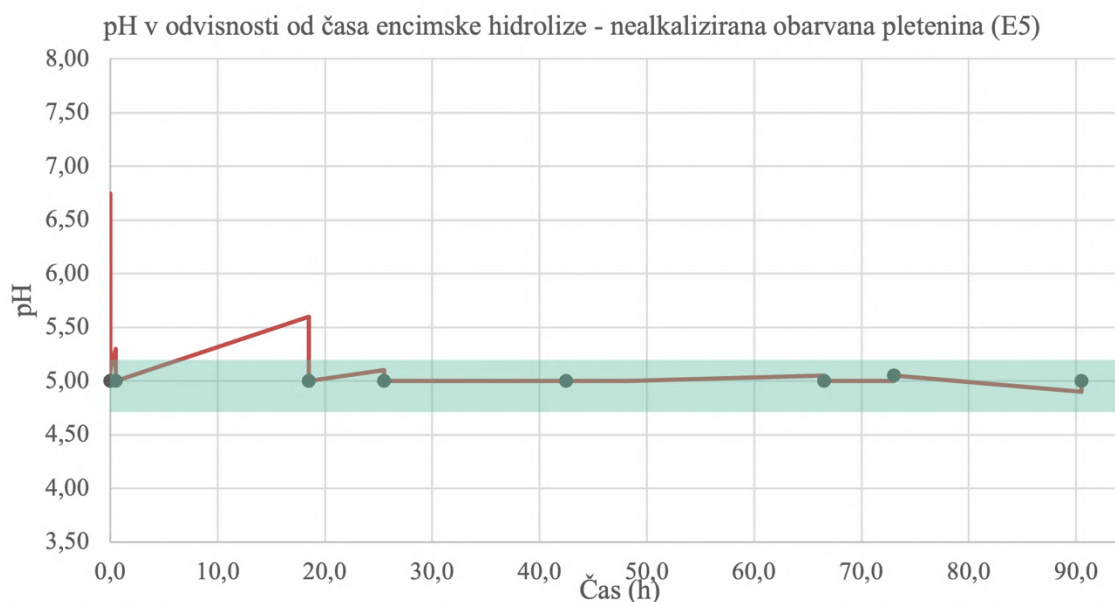


Slika 42:
E4 - pH v odvisnosti od časa encimske hidrolize

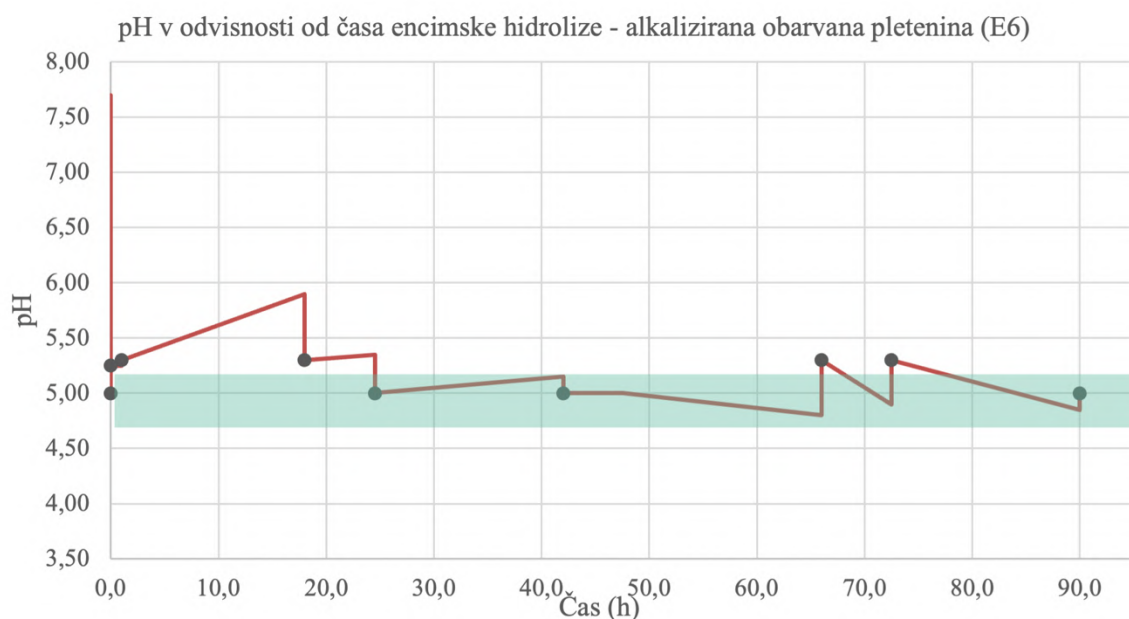


Na slikah 39 – 42 lahko opazimo, da se je med potekom encimske hidrolize pH vrednost vedno znova zniževala iz prilagojene vrednosti, kar je značilno za encimsko hidrolizo.

Slika 43:
E5 - pH v odvisnosti od časa encimske hidrolize



Slika 44:
E6 - pH v odvisnosti od časa encimske hidrolize



Na slikah 43 in 44 pa pri eksperimentih na obarvani pletenini (E5, E6) opazimo spremembo v spreminjanju pH vrednosti. Ponekod se vrednost pH celo zvišuje, kar nakazuje bodisi na uporabo alkalnih sredstev pri barvanju pletenine bodisi na uporabo alkalnih pralnih sredstev (mila, detergenti) pri vzdrževanju kosov oblačil, ki so bili uporabljeni kot substrat.

4.3. Vpliv tekstilnih barvil na encimsko razgradnjo celuloze

Razgradni produkt obarvane nealkalizirane pletenine je vseboval kar za 27,2 % višjo koncentracijo glukoze od neobarvane pletenine brez predobdelave (glej preglednico 3). Prav tako pa so presenetili rezultati alkaliziranih vlaken, ki se prav tako niso skladali s podatki iz literature.

Med rezultatoma meritev končne koncentracije glukoze, obarvane in neobarvane pletenine, opazimo 10,9 % višjo koncentracijo glukoze pri obarvani pletenini. Presenetljivo višje vrednosti pri alkaliziranih obarvanih vlaknih bi lahko bile posledica učinka alkalizacije, ki je delno odstranila barvila, ali pa kemične sestave uporabljenih barvil, ki ni zavirala delovanja encimov.

Kot smo opazili že na slikah 43, 44 se je med vzorčenji encimske hidrolize obeh eksperimentov z obarvano pletenino pH rahlo dvigoval in stagniral v območju optimalne vrednosti. Zviševanje

pH vrednosti je lahko delno tudi posledica izhlapevanja tekočine med procesom (koncentracija alkane raztopine) in razgradnih produktov encimske razgradnje.

Višje koncentracije glukoze pri obarvani pletenin pa lahko pripišemo tudi stabilnim pogojem - pH v območju optimalne vrednosti, med 4,90 in 5,50 (glej sliki 43 in 44). Nasprotno smo opazili pri eksperimentih z neobarvanim substratom, kjer se je pH neprestano zniževal iz 5,25 na vrednosti pod območjem optimalnega pH, med 3,90 in 4,90 (glej slike 39, 40, 41 in 42), kar je zaviralo delovanje encimov.

Ugotovili smo, da po predobdelavi vlaken z alkalizacijo, barvila nimajo negativnega učinka na učinkovitost encimske hidrolize, temveč jo lahko pod določenimi pogoji še povečajo.

Naši rezultati se ne skladajo povsem z literaturo, zato tudi naše hipoteze H5 ne moremo potrditi. Za potrditev te hipoteze bi morali opraviti eksperimente na več različno obarvanih tekstilih in preveriti veljavnost našega rezultata in rezultatov iz literature.

4.4. Možne izboljšave metode encimske hidrolize in nadaljne raziskave

V nadaljnjih raziskavah bi bilo koristno preučiti vpliv optimiziranja temperature reakcije na učinkovitost hidrolize. Encimske reakcije so močno odvisne od temperature in pH, saj ti parametri vplivajo na aktivnost in stabilnost encimov. Encimi celulaze običajno delujejo optimalno pri temperaturah med 45–60 °C. Če bi reakcijo izvajali pri nekoliko višji temperaturi, bi se morebiti povečala difuzija in aktivnost encimov, kar bi lahko pospešilo reakcijo in omogočilo večji izkoristek celuloze. Prav tako pa bi lahko preizkusili pogostejše ali kontinuirano uravnavanje pH med vzorčenji, da bi se izognili padanju pH pod optimalne vrednosti in posledično učinkovito delovanje encimov.

Vsi eksperimenti so pokazali, da koncentracija glukoze doseže plato po določenem času reakcije, kar pomeni, da encimi bodisi izgubijo aktivnost ali da pride do inhibicije zaradi kopičenja produktov. Zato bi bilo prav tako smiselno preučiti dodajanje svežih encimov v določenih časovnih intervalih, kar bi lahko omogočilo nadaljnjo razgradnjo celuloze.

Pomembno področje nadaljnjih raziskav je tudi recikliranje encimov. Raziskava o ponovni uporabi encimov ali njihovi imobilizaciji bi lahko pripomogla k znižanju stroškov procesa in izboljšala trajnost metode. Imobilizirani encimi so pogosto bolj stabilni in jih je lažje ločiti od reakcijske zmesi (Xu idr., 2023).

5. ZAKLJUČEK

V naši raziskovalni nalogi z naslovom »Recikliranje odpadnega celuloznega tekstila z encimsko hidrolizo« smo preverjali učinkovitost metode recikliranja z encimsko hidrolizo na industrijskem in popotrošniškem odpadku. V sklopu eksperimentalnega dela smo izvedli šest eksperimentov, kjer smo preverjali vpliv oblike celuloznega substrata, predobdelave z alkalizacijo in prisotnosti barvil v vlaknih na učinkovitost procesa razgradnje s encimsko hidrolizo.

Da bi se prepričali o aplikativnosti encimske hidrolize kot metode za recikliranje odpadnega tekstila, smo na začetku opravili analizo odpadnega tekstila, ki smo ga pridobili z zbiralno akcijo. S tem smo želeli preveriti, kolikšen delež odpadnega tekstila bi lahko s to metodo potencialno reciklirali.

Ker je bilo 33,4 % vsega zbranega tekstila brez etikete, sestave teh nismo mogli določiti. Pri odpadnem tekstilu z določljivo sestavo je bilo 58,6 % tekstila narejenega iz celuloznih vlaken in samo 41,4 % iz umetnih/sintetičnih vlaken in mešanic. Zaradi velikega deleža tekstila brez etikete, naše hipoteze H1 nismo mogli potrditi. Kljub tej negotovosti rezultati kažejo, da je v odpadnem tekstilu prisoten pomemben delež celuloznih vlaken, kar potrjuje potencial encimske hidrolize kot trajnostne metode recikliranja tekstilnih odpadkov.

Da bi preverili učinkovitost te metode v praksi, smo izvedli šest eksperimentov encimske hidrolize, pri katerih smo preučevali vpliv oblike celuloznega substrata, predobdelave z alkalizacijo in prisotnosti barvil v vlaknih. Eksperimentalni rezultati so potrdili, da so celulozna vlakna, kot je bombaž, učinkovito razgradljiva z encimi, pri čemer ima predhodna alkalizacija ključno vlogo pri povečanju učinkovitosti procesa razgradnje.

Pri alkaliziranih vzorcih bombažnega polnila je bila končna koncentracija glukoze 7,4 % višja v primerjavi z nealkaliziranimi, pri bombažnih majicah pa je bila ta razlika še izrazitejša (31,1 %), kar potrjuje pozitiven učinek alkalizacije na učinkovitost encimske hidrolize.

Pri primerjavi dveh oblik neobarvanega bombažnega substrata, industrijskega (polnilo za odeje) in popotrošniškega odpadka (majice), smo pri eksperimentih E1 in E3 z nealkaliziranim substratom opazili znatno razliko med končnima koncentracijama glukoze. Pri polnilu za odeje

smo izmerili 35,7 % višjo koncentracijo glukoze kot pri majicah. Prav tako smo pri alkaliziranih substratih izmerili 11,2 % višji rezultat pri bombažnem polnilu.

Obarvana nealkalizirana pletenina je imela za kar 27,2 % višjo koncentracijo glukoze od neobaravane. Med rezultatoma meritev končne koncentracije glukoze obarvane pletenine in neobarvane pletenine, opazimo 10,9 % višjo koncentracijo glukoze pri obarvani. Presenetljivo višje vrednosti pri alkaliziranih obarvanih majicah so posledica učinka alkalizacije, ki je delno odstranila barvila in kemične sestave uporabljenih barvil pri barvanju. Pomembno vlogo pa je imel tudi pH, ki je bil zaradi uporabe alkalnih sredstev v procesu barvanja in alkalnih detergentov ter pralnih praškov pri vzdrževanju kosov tekstila povišan in ustaljen v mejah optimalne vrednosti pH. Nasprotno smo opazili pri razgradnji neobarvanih bombažnih substratov, kjer se je pH zniževal pod optimalne meje pH in zaviral delovanje encimov.

Pomemben izziv raziskave so predstavljali trdni ostanki po hidrolizi, ki so se razlikovali glede na vir substrata. Njihova nadaljnja predelava bi lahko omogočila pridobivanje sekundarnih surovin, kot so peleti, ali biomaterialov za industrijsko uporabo. To odpira vprašanje nadaljnjih raziskav o možnih metodah filtracije, separacije in ponovne uporabe nastalih produktov.

Na podlagi ugotovitev lahko zaključimo, da je encimska hidroliza primeren postopek za recikliranje tekstilnih odpadkov, zlasti industrijskih odpadkov, kot je npr. polnilo za odeje ali predilniški odpadek. Čeprav metoda encimske razgradnje in nadaljnje pretvorbe raztopine glukoze še niso v celoti optimizirani za industrijsko uporabo, predstavlja pomemben korak k bolj trajnostnemu ravnanju z odpadki.

Nadaljnje raziskave bi morale vključevati razvoj učinkovitejših režimov dodajanja encimskih mešanic, testiranje različnih kombinacij encimov in predobdelav, vplive pH in temperature ter podrobnejšo analizo vpliva predhodne industrijske obdelave tekstila na razgradnjo.

Rezultati raziskave prispevajo k boljšemu razumevanju potenciala encimske hidrolize pri recikliranju tekstila in ponujajo smernice za izboljšave postopka. V prihodnosti bi lahko nadgradnja te metode omogočila razvoj trajnostnih rešitev, ki bi zmanjšale količino tekstilnih odpadkov ter spodbudile krožno gospodarstvo v tekstilni industriji.

6. DRUŽBENA ODGOVORNOST

V kontekstu te raziskovalne naloge družbena odgovornost poudarja ravnanje z odpadnim tekstilom. Za zmanjšanje količine tovrstnih odpadkov in onesnaževalcev okolja je treba predvsem okrepiti družbeno ozaveščenost o preprečevanju prekomerne potrošnje oblačil, zavračanju hitre mode in načinih za pravilno ravnanje s tekstilnimi izdelki po izteku njihove življenjske dobe. Hkrati je potrebno vzpodbujati razvoj tehnoloških postopkov za proizvodnjo reciklabilnih tekstilnih izdelkov, ki omogočajo trajnostno ravnanje z odpadnim tekstilom v smislu spodbujanja uporabe naprednih (mehanskih in kemičnih) metod recikliranja, katerih rezultat so novi produkti z visoko dodano vrednostjo. Eksperimentalni pristop k encimski razgradnji celuloznega tekstila predstavlja inovativno rešitev za zmanjšanje odpadkov in vpliva tekstilne industrije na okolje. Raziskava prispeva k trajnostnemu razvoju z zmanjšanjem tekstilnih odpadkov, spodbujanjem krožnega gospodarstva, zmanjšanjem obremenitev okolja in ustvarjanjem boljših pogojev za prihodnje generacije. Hkrati odpira možnosti za razvoj učinkovitih biotehnoloških rešitev, ki omogočajo uporabo trajnostnih energijskih virov kot so biogoriva in sekundarne kemikalije nefosilnega izvora, kar preprečuje enostransko izkoriščanje naravnih virov.

7. LITERATURA

- Abrishami, S., Shirali, A., Sharples, N., Kartal, G. E., Macintyre, L. in Doustdar, O. (2024). Textile Recycling and Recovery: An Eco-friendly Perspective on Textile and Garment Industries Challenges. *Textile Research Journal*, 024;94(23-24):2815-2834. <https://doi.org/10.1177/00405175241247806>
- Al-Mardeai, S., Elnajjar, E., Hashaikheh, R., Kruczek, B., Van der Bruggen, B. in Al-Zuhair, S. (2022). Membrane Bioreactors: A Promising Approach to Enhanced Enzymatic Hydrolysis of Cellulose. *Catalysts*, 12(10), 1121. <https://doi.org/10.3390/catal12101121>
- Baloyi, R. B., Gbadeyan, O. J. , Sithole, B. in Chunilall, V. (2024), Recent Advances in Recycling Technologies for Waste Textile Fabrics: A Review. *Textile Research Journal*, 94(3-4): 508 -529. <https://doi.org/10.1177/00405175231210239>
- Bains, R., Chauhan, A. S., Kumar, A., Kumar, M. in Das, P. (2024). 5-Hydroxymethylfurfural and furfural synthesis from waste paper, cotton and poly/mono-meric carbohydrates. *Biomass and Bioenergy*, 188, 107314. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2024.107314>
- Basu, P. (2013). Chapter 11—Production of Synthetic Fuels and Chemicals from Biomass. *Biomass Gasification, Pyrolysis and Torrefaction (Second Edition)* (Second Edition, str. 375–404). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396488-5.00011-3>
- Béguin, P. in Aubert J. P. (1994). The biological degradation of cellulose. *FEMS Microbiology Reviews*, Volume 13, Issue 1, 25–58. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1994.tb00033.x>
- Celignis Bioprocess (2024). *Alkali Pretreatment of Biomass*. <https://www.celignis.com/alkali-pretreatment.php>
- Chen, Y., Stevens, M. A., Zhu, Y., Holmes, J. in Xu, H. (2013), Understanding of alkaline pretreatment parameters for corn stover enzymatic saccharification. *Biotechnol Biofuels* 6, 8. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-8>
- Czilik, M., Pászt, É., Réczey, I., Alt, J., Rusznák, I., Kárpáti, É. in Víg, A. (2002). Effects of reactive dyes on the enzymatic depolymerization of cellulose. *Dyes and Pigments*, 54(2), 95–106. [https://doi.org/10.1016/S0143-7208\(02\)00042-6](https://doi.org/10.1016/S0143-7208(02)00042-6)
- Dussán, K. J., Silva, D. D. V., Moraes, E. J. C., Arruda, P. V. in Maria, G. A. F. (2014). Dilute-acid Hydrolysis of Cellulose to Glucose from Sugarcane Bagasse. *The Italian Association of Chemical Engineering Vol. 38*. <https://doi.org/10.3303/CET1438073>
- Egan, J., Wang, S., Shen, J., Baars, O., Moxley, G., & Salmon, S. (2023). Enzymatic textile fiber separation for sustainable waste processing. *Resources, Environment and Sustainability*, 13, 100118. <https://doi.org/10.1016/j.resenv.2023.100118>

- Evropska komisija (2022). *Strategija EU za trajnostne in krožne tekstilne izdelke*. Sporočilo komisije Evropskemu parlamentu, svetu, Evropskemu ekonomsko-socialnemu odboru in odboru regij. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/HTML/?uri=CELEX:52022DC0141#footnote15>
- Evropska komisija (n. d.). *Circular economy action plan*. https://environment.ec.europa.eu/strategy/circular-economy-action-plan_en
- Evropska agencija za okolje (2024a). *Textiles*. <https://www.eea.europa.eu/en/topics/in-depth/textiles>
- Evropska agencija za okolje (2024b). *Circular Economy*. <https://www.eea.europa.eu/en/topics/in-depth/circular-economy>
- Felgueiras, C., Azoia, N. G., Gonçalves, C., Gama, M. in Dourado, F. (2021). Trends on the Cellulose-Based Textiles: Raw Materials and Technologies. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 9, 608826. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.608826>
- Gradišnik, K. (2023). *Izolacija kreatina iz odpadne biomase z alkalno hidrolizo*. [Magistrsko delo, Univerza v Mariboru, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo]. Digitalna knjižnica Univerze v Mariboru. <https://dk.um.si/Dokument.php?id=173660&lang=slv>
- Gritsch, S. M., Mihalyi, S., Bartl, A., Ipsmiller, W., Jenull-Halver, U., Putz, R. F., Quartinello, F. in Guebitz, G. M. (2023). Closing the cycle: Enzymatic recovery of high purity glucose and polyester from textile blends. *Resources, Conservation and Recycling, Volume 188*, 106701, ISSN 0921-3449. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2022.106701>
- Hindi, S. S. (2024). Novel Recycling, Defibrillation, and Delignification Methods for Isolating α -Cellulose from Different Lignocellulosic Precursors for the Eco-Friendly Fiber Industry. *Polymers*, 16(17), 2430. <https://doi.org/10.3390/polym16172430>
- Hwang, J. W., Yang, Y. K., Hwang, J. K., Pyun, Y. R. in Kim, Y. S. (1999). Effects of pH and dissolved oxygen on cellulose production by *Acetobacter xylinum* BRC5 in agitated culture. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 88(2), 183–188. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(99\)80199-6](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(99)80199-6)
- Jahnavi, G., Prashanthi, G. S., Sravanthi, K. in Rao, L. V. (2017). Status of availability of lignocellulosic feed stocks in India: Biotechnological strategies involved in the production of Bioethanol. *Renewable and Sustainable Energy Reviews, Volume 73*, 798-820. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.02.018>
- Juanga-Labayan, J. P., Labayan, I. V. in Yuan, Q. (2022). A Review on Textile Recycling Practices and Challenges. *Textiles*, 2(1), 174-188. <https://doi.org/10.3390/textiles2010010>
- Koh, J. (2011). 3-Dyeing of cellulosic fibres. *Handbook of Textile and Industrial Dyeing* (Lct. 2, str. 129–146). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9780857094919.1.129>

- Krishania, M., Kumar, V., Vijay, V.K. in Malik, A. (2013) Analysis of Different Techniques Used for Improvement of Biomethanation Process: A Review. *Fuel*, 106, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.12.007>
- Ojo, A. O. (2023). An Overview of Lignocellulose and Its Biotechnological Importance in High-Value Product Production. *Fermentation*, 9(11), 990. <https://doi.org/10.3390/fermentation9110990>
- Pardo, A. G. in Forchiassin, F (1999). Influence of temperature and pH on cellulase activity and stability in *Nectria catalinensis*. *Revista Argentina de microbiologia*, 31(1), 31–35. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10327458/#:~:text=Optimal%20temperature%20for%20the%20activity,a%2072%20h%20incubation%20period.>
- Parekh, V.J., Rathod, V.K. in Pandit, A.B. (2011). Substrate Hydrolysis: Methods, Mechanism, and Industrial Applications of Substrate Hydrolysis, *Comprehensive Biotechnology (Second Edition)*, Academic Press, 2011, Strani 103-118. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00094-5>
- Richenbacher, M. (2024). Ethanol-Production from Waste Textiles, *Junge Wissenschaft*. <https://doi.org/10.7795/320.202403>
- Ritter, S. K. (2008), Lignocellulose: A Complex Biomaterial. *C&EN, Chemical and Engineering News. Volume 86*. <https://cen.acs.org/articles/86/i49/Lignocellulose-Complex-Biomaterial.html>
- Røjel, N., Kari, J., Sørensen, T. H., Borch, K. in Westh, P.(2020). pH-Profiles of Cellulases Depend on the Substrate and Architecture of the Binding Region. *Biotechnology and Bioengineering*, 117(2), 382-391. <https://doi.org/10.1002/bit.27206>
- Ruuth, E., Sanchis-Sebastiá, M., Larsson, P. T., Telemán, A., Jiménez-Quero, A., Delestig, S., Sahlberg, V., Salén, P., Sanchez Ortiz, M., Vadher, S. in Wallberg, O. (2022). Reclaiming the Value of Cotton Waste Textiles: A New Improved Method to Recycle Cotton Waste Textiles via Acid Hydrolysis. *Recycling*. 7(4):57. <https://doi.org/10.3390/recycling7040057>
- Sandin, G., Peters, G. M. (2018). Environmental impact of textile reuse and recycling – A review. *Journal of Cleaner Production*, 184, 353–365. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.02.266>
- Sanchis-Sebastiá, M., Ruuth, E., Stigsson, L., Galbe, M. in Wallberg, O. (2021). Novel sustainable alternatives for the fashion industry: A method of chemically recycling waste textiles via acid hydrolysis. *Waste Management. Volume 121*, 2021, 248-254. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.12.024>
- Strmljan, T. (2015). *Opis razgradnje karboksimetil celuloze z bakterijami cellulomonas uda in bacillus subtilis*, [Diplomsko delo, Univerza v Ljubljani, Biotehniška Fakulteta, Enota medoddelčnega študija mikrobiologije], Digitalna knjižnica Univerze v Ljubljani. http://www.digitalna-knjiznica.bf.uni-lj.si/mikrobiologija/dn_strmljan_tina.pdf#page=4.13
- Svet Evropske unije (2024). *Okvirna direktiva o odpadkih: Svet bo začel pogovore o njeni reviziji*. <https://www.consilium.europa.eu/sl/press/press-releases/2024/06/17/waste-framework-directive-council-set-to-start-talks-on-its-revision/>

Textile Exchange (2022). *Preferred Fiber & Materials Market Report*.

https://Textile-Exchange.org/app/uploads/2022/10/Textile-Exchange_PFMR_2022.pdf

Textile Exchange (2023). *Materials Market Report*.

<https://mail.google.com/mail/u/1/#inbox/FMfcgzQZSsMDhMTBbpLwqkcgXVJrVbrV?projector=1&messagePartId=0.1>

Thermo Nicolet Corporation (2001). What is FTIR?, *Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry*.

<https://www.chem.uci.edu/~dmitryf/manuals/Fundamentals/FTIR%20principles.pdf>

Uredba o odpadkih (2022). Uradni list RS št. 77/22, , čl. 73. <https://pisrs.si/pregledPredpisa?id=URED7011>

Uredba o spremembah Uredbe o odpadkih (2023). Uradni list RS št. 113/23.

<https://pisrs.si/pregledPredpisa?id=URED8956>

Vera, R. E., Zambrano, F., Suarez, A., Pifano, A., Marquez, R., Farrell, M., Ankeny, M., Jameel, H. in Gonzalez, R. (2022). Transforming textile wastes into biobased building blocks via enzymatic hydrolysis: A review of key challenges and opportunities. *Cleaner and Circular Bioeconomy*, 3, 100026.

<https://doi.org/10.1016/j.clcb.2022.100026>

Visakh, P. M. in Sabu, T. (2010). Preparation of Bionanomaterials and their Polymer Nanocomposites from Waste and Biomass. *Waste and Biomass Valorization*. 1. 121- 134.

<https://doi.org/10.1007/s12649-010-9009-7>

Wang, T. in Lü, X. (2021). Chapter 8—Overcome saccharification barrier: Advances in hydrolysis technology, *Advances in 2nd Generation of Bioethanol Production* (str. 137–159). Woodhead Publishing.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818862-0.00005-4>

Xu, C., Tong, S., Sun, L., & Gu, X. (2023). Cellulase immobilization to enhance enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass: An all-inclusive review. *Carbohydrate Polymers*, 321, 121319.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121319>

Zhang, Y. [Yi], Chen, Z., Du, K., Bi, Y., Su, J., Zhang Y. [Yutong], Shen Y. in Zhang S. (2023), Functional Natural Wood-Plastic Composites: A Review of Antimicrobial Properties and Their Influencing Factors, The Structure of Natural Fibers. *Industrial Crops and Products*, Volume 201.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.116705>

Zebeč, Ž., Poberžnik, M. in Lobnik, A. (2022). Enzymatic Hydrolysis of Textile and Cardboard Waste as a Glucose Source for the Production of Limonene in *Escherichia coli*. *Life (Basel)*. 13;12(9):1423.

<https://doi.org/10.3390/life12091423>

Zveza potrošnikov Slovenije (2023). *Hitra moda in kje so alternative*.

<https://www.zps.si/nasveti-in-vodniki/hitra-moda-in-kje-so-alternative-2023-02-02>

Preglednica 9: Vzorčenje E5

NEALKALIZIRAN OBARVANA PLETENINA - E5										
Datum	27.1.25	27.1.25	27.1.25	28.1.25	28.1.25	29.1.25	29.1.25	30.1.25	30.1.25	31.1.25
Časovna oznaka	T0.0	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Ura	13:00	13:00	13:30	07:30	14:30	07:30	13:00	07:30	14:00	07:30
Pretekel čas (h)	0,0	0,0	0,5	18,5	25,5	42,5	48,0	66,5	73,0	90,5
Dodan 2M NaOH _(aq) (mL)	0,00	1,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,50	0,50
Dodan 1M H ₂ SO _{4(aq)} (mL)	13,00	1,00	1,00	1,75	0,25	0,00	0,00	0,25	0,25	0,00
Dodan 0,1M (NH ₄) ₂ SO _{4(aq)} (mL)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,50	1,50	1,25	1,50	1,00

Preglednica 10: Vzorčenje E6

ALKALIZIRANA OBARVANA PLETENINA - E6										
Datum	20.1.25	20.1.25	20.1.25	21.1.25	21.1.25	22.1.25	22.1.25	23.1.25	23.1.25	24.1.25
Časovna oznaka	T0.0	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Ura	13:30	13:30	14:30	07:30	14:00	07:30	13:00	07:30	14:00	07:30
Pretekel čas (h)	0,0	0,0	1,0	18,0	24,5	42,0	47,5	66,0	72,5	90,0
Dodan 2M NaOH _(aq) (mL)	0,00	1,25	0,75	1,25	0,00	0,00	0,00	1,50	1,25	2,50
Dodan 1M H ₂ SO _{4(aq)} (mL)	32,00	0,00	1,25	2,50	1,25	0,35	0,00	0,00	0,00	0,00
Dodan 0,1M (NH ₄) ₂ SO _{4(aq)} (mL)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,50	0,00	2,00	0,00