



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

ANALÝZA ORGANICKÝCH LÁTEK V SYSTÉMU PŮDA- BIOUHEL-SALÁT

ANALYSIS OF ORGANIC COMPOUNDS IN THE SOIL-BIOCHAR-SALAD SYSTEM

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Josefína Hlaváčová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.

BRNO 2023

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1878/2022 Akademický rok: 2022/23
Ústav: Ústav chemie a technologie ochrany
životního prostředí
Studentka: **Josefína Hlaváčová**
Studijní program: Chemie a technologie ochrany
životního prostředí
Studijní obor: bez specializace
Vedoucí práce: **Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Analýza organických látek v systému půda–biouhel–salát

Zadání bakalářské práce:

1. Sepsat literární rešerši na téma výskytu a analýzy organických látek v systému biochar,půda, rostliny.
2. Vybrat a optimalizovat metodu pro kvalitativní a kvantitativní analýzu vybraných organických látek v biocharu, půdě a salátu.
3. Provést experimenty pro sledování možného vlivu biocharu na výskyt organických látek ve studovaném systému.
4. Získaná data vhodně zpracovat a vyhodnotit.

Termín odevzdání bakalářské práce: 22.5.2023:

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

Josefína Hlaváčová
studentka

Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.
vedoucí práce

vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2023

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Předložená bakalářská práce se zabývá analýzou polycyklických aromatických uhlovodíků extrahovaných ze salátu, půdy, biouhlu a směsi půdy s biouhlem. Polycyklické aromatické uhlovodíky se do biouhlu dostávají při samotné výrobě biouhlu neboli pyrolýze. Po aplikaci biouhlu do půdy se pak polycyklické aromatické uhlovodíky mohou uvolňovat do půdy a znečišťovat ji.

Teoretická část práce je zaměřena na charakterizaci a vznik biouhlu. Pak jeho aplikaci na půdu a následnými změnami, které v půdě vyvolává. Experimentální část se zabývá optimalizací mikrovlnné extrakce. Dále byly provedeny reálné experimenty, kdy byl sledován vliv přidaného biouhlu na koncentraci polycyklických aromatických uhlovodíků v půdě a salátu. Analýza reálných vzorků obsahovala mikrovlnnou extrakci s následným kvantitativním a kvalitativním stanovením na GC/MS/MS. Ve vzorcích bylo měřeno 16 prioritních polycyklických aromatických uhlovodíků, které stanovuje Agentura pro ochranu životního prostředí Spojených států Amerických. U vzorků půdy s biouhlem a salátem byla sledována vyšší koncentrace polycyklických aromatických uhlovodíků než u vzorků bez biouhlu. Stejný výsledek přinesla i analýza kořenů salátů.

ABSTRACT

The bachelor's thesis presented focuses on the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons extracted from lettuce, soil, biochar and soil mixed with biochar. Polycyclic aromatic hydrocarbons are introduced into the biochar during the production process, i.e., pyrolysis. After applying the biochar to the soil, the polycyclic aromatic hydrocarbons can be released into the soil and contaminate it.

The theoretical part of the thesis focuses on the production and characterisation of biochar, its applications to the soil and subsequent changes it induces within the soil. The experimental part focuses on the optimization of the microwave-assisted extraction process. Furthermore, experiments were carried out, assessing the influence of the added biochar on the concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons within soil and lettuce. The sample analysis included microwave-assisted extraction and quantitative and qualitative determination using GC/MS/MS. The samples analysed were assessed for the presence and concentration of 16 different polycyclic aromatic hydrocarbons, prioritised by the U.S. Environmental Protection Agency. The analysis of the samples of lettuce grown in the soil containing biochar display a higher concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons compared to samples without biochar. The analysis of the lettuce roots showed identical results.

KLÍČOVÁ SLOVA

Biouhel, polycyklické aromatické uhlovodíky, mikrovlnná extrakce, plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií

KEYWORDS

Biochar, polycyclic aromatic hydrocarbons, microwave extraction, Gas chromatography–mass spectrometry

HLAVÁČOVÁ, Josefina. *Analýza organických látek v systému půda-biouhel-salát*. Brno, 2023. Dostupné také z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/149026>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí. Vedoucí práce Ludmila Mravcová.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně, a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být použita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala své vedoucí bakalářské práce Ing. Ludmile Mravcové, Ph.D. za ochotu, trpělivost a cenné připomínky se zpracováním bakalářské práce.

Dále bych ráda poděkovala Ing. Janu Fučíkovi za poskytnutí vzorků a pomoc při práci v laboratoři.

Obsah

1	Úvod.....	7
2	Teoretická část.....	8
2.1	Pyrolýza.....	8
2.1.1	Rychlá pyrolýza	8
2.1.2	Přechodná pyrolýza.....	8
2.1.3	Pomalá pyrolýza.....	8
2.1.4	Hydropyrolýza	9
2.1.5	Mikrovlnná pyrolýza.....	9
2.2	Biouhel	9
2.2.1	Vzhled biouhlu.....	9
2.2.2	Vlastnosti biouhlu	9
2.2.3	Struktura biouhlu	10
2.3	Zdroje pro výrobu biouhlu	10
2.3.1	Biomasa.....	10
2.4	Využití biouhlu.....	11
2.4.1	Vliv biouhlu na půdní vlastnosti	11
2.4.2	Kontaminace půdy způsobená biouhlem	12
2.4.3	Enviromentální dopady aplikace biouhlu na půdu.....	12
2.5	Organické látky v biouhlu	13
2.5.1	Těkavé organické látky	13
2.5.2	Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs)	14
2.6	Transformace polycyklických aromatických uhlovodíku v životním prostředí... 15	
2.6.1	Osud PAHs v životním prostředí	16
2.6.2	Účinky PAHs na lidský organismus	17
2.7	Rostliny pěstované na půdě s biouhlem	18
2.8	Vliv biouhlu na žížaly	18
2.9	Analýza PAHs v půdě, rostlinách a biouhlu	19
2.9.1	Extrakce	19
2.9.2	Přečištění vzorku.....	20
2.9.3	Zakoncentrování vzorku	20
2.9.4	Plynová chromatografie.....	20
2.9.5	Hmotnostní spektrometrie.....	22
3	Experimentální část	26
3.1	Použité přístrojové vybavení, chemikálie	26
3.1.1	Chemikálie a vybavení.....	26
3.1.2	Standardy	26
3.1.3	Plyny	26
3.1.4	Přístroje	26
3.1.5	Software	26
3.1.6	Charakterizace biouhlu	27
3.1.7	Charakterizace půdy.....	27
3.2	Průběh pokusu	28

3.3	Optimalizace metody.....	28
3.3.1	Ultrazvuková extrakce	28
3.3.2	Mikrovlnná extrakce	28
3.4	Příprava vzorků pro GC-MS	30
3.4.1	Extrakce	30
3.4.2	Odpaření rozpouštědla	31
3.4.3	Přečištění vzorku.....	31
3.4.4	Kalibrační řada	32
3.4.5	Plynový chromatograf s hmotnostní spektrometrií	32
4	Výsledky a diskuse	36
4.1	Stanovení LOD a LOQ.....	36
4.2	Optimalizace metody extrakce	36
4.2.1	Opakovaná extrakce	36
4.2.2	Výběr rozpouštědla	37
4.2.3	Označení vzorků	38
4.2.4	Analýza PAHs ve vzorcích půdy, směsi půdy a biouhlu a biouhlu	39
4.2.5	Salát.....	42
4.2.6	Žížaly, půda a biouhel	45
5	Závěr	47
6	Zdroje.....	48
7	Seznam použitých zkratk.....	52
8	Přílohy	53
8.1	Optimalizace metody.....	54
8.3	Reálné vzorky.....	58

1 ÚVOD

Biouhel je tmavá tuhá látka. Vzniká při procesu pyrolýzy. Pyrolýza je tepelný rozklad materiálu bez přístupu kyslíku [1]. Pyrolýza má tři hlavní produkty. Prvním jsou organické páry, které se dají zkondenzovat. Druhým produktem jsou páry nekondenzovatelné. Posledním produktem je biouhel [2].

Jako biomasa pro výrobu biouhlu se dají využít odpadní látky, jako jsou odpady z lesnictví a zemědělství či čistírenské kaly. Proto by v budoucnu mohla pyrolýza hrát velkou roli v odpadovém hospodářství [3]. Při použití odpadních látek je nutno mít na paměti, že vlastnosti biouhlu velmi závisí na podmínkách pyrolýzy a typu použité biomasy [4].

Aplikace na půdu patří mezi nejčastější využití biouhlu, přidává se taktéž do krmiv přežvýkavců či do kompostů a hnojiv [5]. Biouhel v půdě může mít pozitivní účinky na růst rostlin, a to hlavně z důvodu zvýšené dostupnosti vody pro rostliny. Tento jev nastává díky schopnosti biouhlu zadržovat vodu v půdě [1].

Jednou z nejdůležitějších vlastností biouhlu je jeho schopnost adsorpce organických látek. Jeho velká sorpční schopnost je důsledkem povrchové struktury biouhlu. Biouhel má velkou specifickou plochu s množstvím pórů. Tyto póry se v biouhlu vyskytují ve třech velikostech, což má za následek schopnost biouhlu adsorbovat pevné, kapalné i plynné látky. V pórech se vyskytuje velká řada funkčních skupin, které způsobují hydrofilní i hydrofobní charakter biouhlu. Díky své sorpční kapacitě se biouhel využívá k sanaci půd znečištěných organickými látkami [1].

Při pyrolýze však díky nedokonalému spalování vzniká řada organických látek, jako jsou například polycyklické aromatické uhlovodíky. Tyto látky se při procesu pyrolýzy mohou sorbovat na biouhel. Použití takového typu biouhlu má za následek uvolňování organických látek do půdy. V půdě se polycyklické aromatické uhlovodíky mohou sorbovat na částice půdy. Následně se z půdy mohou vyplavovat do podzemních vod, či se dostávat do zemědělských plodin [6, 7].

Cílem této bakalářské práce bylo sepsání laterální rešerše na téma organické látky v systému půda, biouhel a salát. Dále optimalizovat metodu analýzy polycyklických aromatických uhlovodíků z půdy. A následně analyzovat vzorky půdy, biouhlu, salátu a směsi půdy s biouhlem.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Pyrolýza

Pyrolýza je proces tepelné degradace, který probíhá bez přístupu kyslíku či jiného oxidačního činidla. Jedná se o systém reakcí, které jsou z většiny endotermního charakteru. Produktem jsou tři hlavní složky. První z nich jsou organické páry vzniklé z polymerů celulózy, hemicelulózy a lignitu. Tyto páry se dají zkondenzovat za vzniku biooleje. Druhou složkou, která při pyrolýze vzniká jsou nekondenzovatelné páry, jež mohou opouštět reakční prostředí a podílet se na zajištění tepla pro část pyrolýzy. Posledním produktem je pevná látka bohatá na uhlík zvaná biouhel [2].

Reakční mechanismy pyrolýzy lze rozdělit do tří fází. V první fázi dochází k eliminaci vody, přetržení vnitřních vazeb a ke vzniku volných radikálů. V této fázi dochází také ke tvorbě funkčních skupin jako jsou karbonylové, karboxylové a hydroperoxidové skupiny. V druhé fázi vzniká primární biouhel, plynné a kapalné látky. Ve třetím kroku biouhel prochází chemickým přeskupením a taktéž zde vznikají zbytkové pevné látky bohaté na uhlík [8].

Pyrolýzních procesů je celá řada. Každý proces má jiné provozní podmínky a liší se výtěžky jednotlivých produktů [8]. Teplota karbonizace je zde zcela určující faktor a přímo ovlivňuje fyzikální vlastnosti vzniklého biouhlu [1]. Při vyšších teplotách pyrolýzy biouhel vykazuje vyšší obsah minerálních látek a popela, taktéž se zvyšuje stabilita uhlíku a celková aromaticita biouhlu. Při vyšších teplotách se také zvětšuje pórovitost produktu. Naopak při nižších teplotách stoupá obsah těkavých látek [9].

2.1.1 Rychlá pyrolýza

Při rychlé pyrolýze je účelem vytvořit co největší podíl biooleje. Pro tuto pyrolýzu jsou typické vysoké teploty od 450 do 600 °C, materiál při této teplotě setrvává méně než dvě sekundy. Za těchto podmínek nedochází k dalšímu krakování, a tak nevznikají nekondenzovatelné páry [2].

Aby byla pyrolýza proveditelná, je nutno dodržet malou velikost částic biomasy, která do děje vstupuje. To zaručí dostatečnou rychlost přestupu tepla při tak krátkém setrvání v tomto ději [2].

2.1.2 Přechodná pyrolýza

Tato reakce probíhá při 300-500 °C. Biomasa při této teplotě setrvává delší dobu, a tak se zde chemické reakce dají lépe kontrolovat a je zde širší spektrum pro optimalizaci reakce. Jelikož reakce není tak rychlá a teplota je nižší, tak vzniká z celulózy plynný siven, který lze použít k pohonu samotné reakce. Jsou zde také nižší požadavky na rychlost přestupu tepla, proto nároky na velikost vstupní biomasy nejsou tak přísné a lze použít i větší frakce. Produktem je relativně vysoký podíl biooleje, jeho výnosy jsou zde ale menší než u rychlé pyrolýzy [2].

2.1.3 Pomalá pyrolýza

Tato pyrolýza probíhá při nižších teplotách, než které se vyskytují u pyrolýzy přechodné a rychlé. Biomasa zde zůstává po delší dobu. Hlavním produktem této pyrolýzy je biouhel, vznikají zde však i páry, které lze použít na provoz pyrolytické reakce k přímému či nepřímému ohřevu. Pro tento typ lze využít velikost biomasy od malých granulek po klády stromů. Je taktéž mnohem tolerantnější k obsahu vody v biomase. Je třeba, ale myslet na fakt, že vlhkost biomasy přímo ovlivňuje vlastnosti biouhlu [2]. Vzniklý produkt má pak díky vyššímu obsahu karboxylových skupin schopnost imobilizovat těžké kovy [9]. Do této skupiny spadá i nejstarší technika pro zpracování biomasy, karbonizace, jedná se o pomalou pyrolýzu bez kondenzace produktů. Tato technika se dříve používala pro výrobu dřevěného uhlí [2].

2.1.4 Hydropyrolýza

Jedná se o relativně nový typ pyrolýzy, která probíhá v prostředí redukčního vodíku. Toto prostředí pak zabraňuje tvorbě volných radikálů. Lze zde pozorovat zvýšenou kvalitu vzniklého biooleje, jelikož vzniká snížené množství nasycených uhlovodíků. Reakčním mechanismem by zde mohlo být systematické štěpení makromolekulární struktury, které vede k tvorbě produktů s větší selektivitou [2].

2.1.5 Mikrovlnná pyrolýza

Díky použití mikrovlnného záření pro ohřev je tento druh pyrolýzy možné lehce a rychle ovládat. Také zde díky mikrovlnnému záření probíhá rychlý a selektivní ohřev biomasy, který urychluje reakční rychlosti a zvyšuje energetickou účinnost. Oproti běžným pyrolýzám produkuje menší emise, a tak lze konstatovat, že je šetrnější k životnímu prostředí. Dalším pozitivem je možnost využití biomasy s větším podílem vody, jelikož má voda větší absorpční kapacitu mikrovln než suchý materiál. Biomasu je ale nutné před samotnou pyrolýzou upravit, a to přidáním katalyzátorů a mikrovlnných absorbentů. Mezi mikrovlnné absorbenty patří oxidy a hydroxidy některých kovů, které pak způsobují v samotném biouhlu problém s jejich následným uvolňováním do životního prostředí. Dalším typem mikrovlnných absorbentů jsou absorbenty na bázi uhlíku, které jsou šetrnější k životnímu prostředí a lépe se s biomasou mísí, mají však specifické požadavky na vstupní biomasu. Produktem je biouhel s jednotnými a relativně čistými mikropóry a s větším povrchem než biouhel vzniklý pomalou pyrolýzou [10].

2.2 Biouhel

Biouhel je pevným produktem zahřívání biomasy v prostředí minimálního přístupu vzduchu či bez úplného přístupu vzduchu a při teplotách nad 250 °C. Tento proces je nazýván zuhelnatění nebo pyrolýza. Při spalování pak dochází k degradaci hemicelulózy, celulózy a ligninu, tím vznikají póry, které zvětšují povrch biouhlu [1]. Vnitřní struktura biouhlu je velice odlišná od struktury původní biomasy, biouhel totiž obsahuje velké množství organického uhlíku ve formě aromatických jader. Biouhel neobsahuje pouze uhlík, ale i fosfor, dusík, vápník a hořčík. Vlastnosti biouhlu se nedají obecně specifikovat, jelikož závisejí na typu použité biomasy a typu pyrolýzy [4].

2.2.1 Vzhled biouhlu

Biouhel je jemnozrnná porézní látka svým vzhledem podobná dřevěnému uhlí [11].

Hlavní výhodou biouhlu je jeho vysoce porézní struktura. Je zodpovědná za lepší zadržování vody a zvětšuje plochu povrchu. Díky biologické a chemické stabilitě má dvě využití. Prvním je jímka uhlíku a druhým je jeho přínos pro půdu s dlouho životností. Sekvestrace uhlíku v biouhlu umožňuje mnohem delší dobu skladování uhlíku než například zalesňování [11].

2.2.2 Vlastnosti biouhlu

Biouhel se skládá z relativně stabilního organického uhlíku, vyluhovatelného uhlíku a popelu. Tyto části pak obsahují lehce degradovatelné oxidované uhlíkové sloučeniny, aromatické a alifatické sloučeniny. Narozdíl od většiny organických hmot biouhel obsahuje velké množství aromatických sloučenin. Také obsahuje minerální frakci skládající se z mikroprvků a makroprvků. Ty z něj činí zdroj minerálních látek pro půdní mikroorganismy [12].

Pórovitost je pro biouhel zcela zásadní vlastností, je zodpovědná za většinu reaktivních ploch periferní struktury biouhlu. Tyto plochy jsou dle elektronegativity funkčních skupin, které jsou navázány na povrchu aromatických jader, rozděleny na hydrofilní a hydrofobní. Díky nim má pak biouhel heterogenní chemický povrch. Póry se zde dělí dle velikosti na mikropóry, mezopóry a makropóry. Makropóry zařizují transport do menších pórů a jsou důležité pro

pohyb kořenů půdou a pro mikroorganismy. Mezopóry adsorbují pevné a kapalné látky a mikropóry adsorbují látky plynné [1].

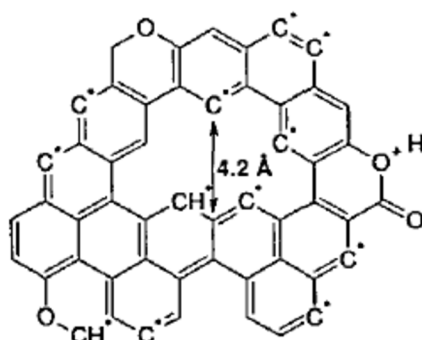
Co se týče pH biouhlu je velmi rozmanité a závisí na typu vstupní biomasy, pohybuje se v rozmezí 6,2-9,6. Kyselější typy biouhlů pocházejí ze zelené biomasy a z kořenů, zatímco zásaditější z drůbežního hnoje [13].

2.2.3 Struktura biouhlu

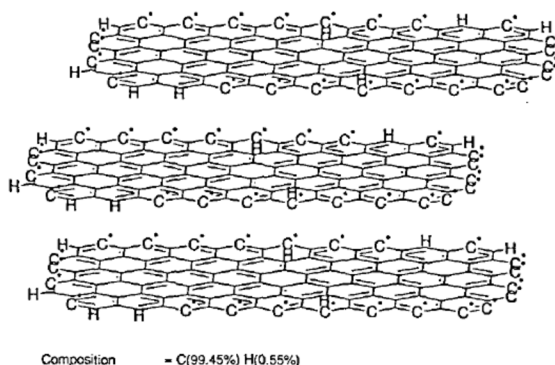
Každá částice biouhlu se skládá ze dvou hlavních frakcí. První frakcí je skládaný grafenový list a další frakcí jsou náhodně uspořádané amorfni aromatické struktury. Složení biouhlu je velmi heterogenní, jelikož obsahuje jak stabilní, tak i labilní složky. Mezi jeho hlavní složky patří uhlík, těkavé látky a v neposlední řadě minerální látky v podobě popelu. Podíl těchto složek určuje chemické a fyzikální vlastnosti a chování biouhlu jako celku [13].

Prach je jemná a ultra jemná část biouhlu skládající se z různých organických a anorganických částic v rozmezí mikro a nano velikostí. Skládá se z kulatých fullerenových nanočástic. Prach je ve srovnání s uhlíkem skvělý sorpční materiál pro širokou škálu stopových hydrofobních kontaminantů [13].

Biouhel kromě uhlíku obsahuje i další prvky jako je dusík, síra, fosfor a kyslík, tyto prvky jsou součástí heteroatomů v aromatických sloučeninách a zodpovídají za heterogenní povrch biouhlu. Obsah dusíku ve struktuře však není pro rostliny nijak přínosný, jelikož je ve větší míře přítomen ve formě pro rostliny nedostupné [13].



Obrázek 1: Struktura biouhlu. Náhodně uspořádaná amorfni aromatická struktura [13]



Obrázek 2: Struktura biouhlu. Skládaný grafenový list [13]

2.3 Zdroje pro výrobu biouhlu

Biouhel lze vyrábět z různých druhů biomasy jako je hnůj, zbytky plodin, čistírenské kaly a v neposlední řadě dřevo [14].

2.3.1 Biomasa

Biomasa je obecný termín jak pro rostlinnou, tak i živočišnou biomasu. Lignocelulózní biomasa neboli sušina z rostlin je hojným a levným zdrojem obnovitelné energie. Skládá se

z celulózy, hemicelulózy a ligninu [10]. U biomasy je dobré před pyrolýzou znát poměry celulózy, hemicelulózy a ligninu. Čím více je v biomase ligninu tím větší budou výnosy biouhlu a čím vyšší je obsah celulózy tím se biomasa rychleji pyrolyzuje [9].

Typ a složení biomasy má velký vliv na strukturu a konečné vlastnosti biouhlu. Z dřevní biomasy vzniká hrubší a odolnější biouhel. Naopak biouhly vyrobené z plodin jako je pšenice nebo kukuřice, mořských řas a hnoje jsou jemnější a méně odolné. Pro mikroorganismy ale bývají lépe rozložitelné a více bohaté na živiny. Obsah popela v biouhlu závisí na obsahu popela v biomase. Tráva, slupky, zbytky slámy a hnůj produkují biouhel s velkým obsahem popela na rozdíl od surovin ze dřeva [13].

2.3.1.1 Kal z čistíren odpadních vod

Další ze zdrojů pro výrobu biouhlu je čistírenský kal. Jelikož je v kalu velké množství těžkých kovů a patogenů nelze ho přímo aplikovat na půdu, ale pokud projde pyrolýzou, jeho složení se výrazně změní a za určitých podmínek je aplikace na půdu bezpečná. Po procesu pyrolýzy jsou těžké kovy v biouhlu stabilní a relativně nehybné. Lze je tedy bezpečně aplikovat do půdy s neutrálním až zásaditým pH, jelikož v kyselém prostředí se vyplavování některých těchto kovů rapidně zvyšuje. Vzniklý biouhel nemá tak dobré adsorpční vlastnosti jako biouhel vytvořený z biomasy, jelikož obsahuje velké množství popela [15].

2.4 Využití biouhlu

Samotný biouhel se může mísit s organickými nebo minerálními hnojivy, tyto směsi pak zvyšují úrodnost půdy a celkové výnosy plodin. Pro snížení emisí skleníkových plynů se biouhel přidává do krmiv přežvýkavců, kde i zlepšuje kvalitu samotného krmiva. Z důvodu snížení ztrát živin během kompostování se přidává i do samotného kompostu. Své využití najde i při sanaci kontaminovaných půd a sedimentů. Zde díky svému velkému povrchu a sorpční kapacitě slouží jako sorbent pro odstranění a imobilizaci organických látek, jako jsou například polycyklické aromatické uhlovodíky. Nebo se aplikuje přímo na půdu pro zvýšení její úrodnosti [5].

2.4.1 Vliv biouhlu na půdní vlastnosti

Kvůli velké specifické ploše biouhlu může docházet ke změnám fyzikálních vlastností půdy tím, že změní její strukturu a pórovitost. To může mít za následek zlepšení růstu rostlin, kvůli zvýšené dostupnosti vody v oblasti kořenů. Mezi okamžité účinky biouhlu se řadí zvýšená dostupnost živin a snížení kyselosti půd, za tyto účinky však nemůže samotný biouhel, ale popel, který je v biouhlu po pyrolýze obsažen ve velkém množství [1].

Při aplikaci biouhlu na půdu je nutno počítat se sorpcí některých pesticidů na biouhel. Tuto vlastnost mají ve větší míře převážně biouhly vyráběné za vyšších teplot. Proto je pro zemědělskou půdu lepší aplikace biouhlů vzniklých za teplot nižších. Naopak při sanaci půdy je vhodnější použít biouhel vzniklý za vyšších teplot, jelikož má větší sorpční kapacitu [9].

Aplikace biouhlu do půdy může výrazně změnit její barvu, tmavší půdy pak pohlcují více sluneční energie a takto upravená půda se pak více zahřívá. Tento jev má následně vliv na procesy tepla, může prodloužit vegetační období u rostlin v sezónních klimatických podmínkách [11].

Biouhel má menší objemovou hustotu než půda, proto jeho aplikace může způsobit snížení objemové hustoty samotné půdy. Pokud však biouhel nemá dostatečně velkou mechanickou pevnost, dochází k zaplnění půdních pórů malými částicemi biouhlu, a tak se objemová hustota půdy zvyšuje. K zahlcení půdních pórů může přispívat i těžká zemědělská technika, která přispívá ke ztuhnutí půdy a mechanické degradaci biouhlu [13].

Biouhel půdě zvyšuje plochu půdního povrchu. Tento jev vede ke zlepšení zadržování vody v půdě a provzdušňování půdy. Zvětšení půdní plochy prospívá půdním mikrobiálním společenstvům [13].

Přidáním biouhlu do půdy může mít přímé i nepřímé účinky na zadržování vody v půdě. Tento jev může být jako dlouhodobý tak i krátkodobý. Zadržování vody v půdě je dáno rozložením a propojením půdních pórů, proto je závislé na samotném typu půdy. Například v písčité půdě se výrazně vlhkost zvyšuje na rozdíl od půdy jílovité, u které nejsou pozorované žádné významné změny. V písčité půdě dochází k zadržování vody v mikropórech, což může vést k zvýšené dostupnosti vody v období sucha [13].

Částice biouhlu se v půdě vyskytují buď jako diskrétní částice nebo jako částice vázané minerálem hlavně jílu a bahna [13].

Biouhel se nepovažuje za inertní materiál. V přírodě degraduje fotochemickými a mikrobiálními procesy. Tyto procesy mohou mít za následek změnu povrchu a jeho funkčních vlastností. Rozbory potvrzují, že mikrobiální rozklad je velmi pomalý v porovnání s abiotickým rozkladem, zejména pokud se jedná o nové biouhly [13].

Lze předpokládat, že po delším období se bude u biouhlu postupně zvyšovat rozpustnost a bude docházet k vyplavování biouhlu z půdního profilu do podzemních vod. Tento jev je velmi závislý na typu biouhlu, z jaké biomasy byl vytvořen a jaký typ pyrolýzy byl použit [13].

2.4.2 Kontaminace půdy způsobená biouhlem

Výskyt těžkých kovů, polycyklických aromatických uhlovodíků (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) a dioxinů v biouhlu může vyplývat z kontaminovaných vstupních surovin nebo z pyrolýzních podmínek, které podporují jejich tvorbu. Při pomalé pyrolýze se v biouhlu můžou kromě snadno dostupných živin akumulovat i těžké kovy a PAHs [13].

V organických odpadech, jako je například čistírenský kal, se obecně vyskytuje větší množství lehkých a těžkých kovů. Tyto kovy po pyrolýze zůstávají v biouhlu. Při dnešním množství aplikace biouhlu není nutné se o kontaminaci těžkých kovů prostřednictvím biouhlu strachovat, jelikož jejich rizika jsou srovnatelná s používáním hnojiv. Riziko nastává při vyšších aplikacích biouhlu, které přesahují 250 tun na hektar [13].

Těkavé uhlovodíky, které vznikají tepelným zpracováním biomasy, mají tendenci se koncentrovat v kapalné frakci. Při chlazení se, ale mohou z kapalné frakce uvolňovat a ukládat se do pórů v biouhlu. Těkavé organické látky mají jak stimulační, tak i inhibiční účinky na produktivitu rostlin a mikrobiální procesy [16].

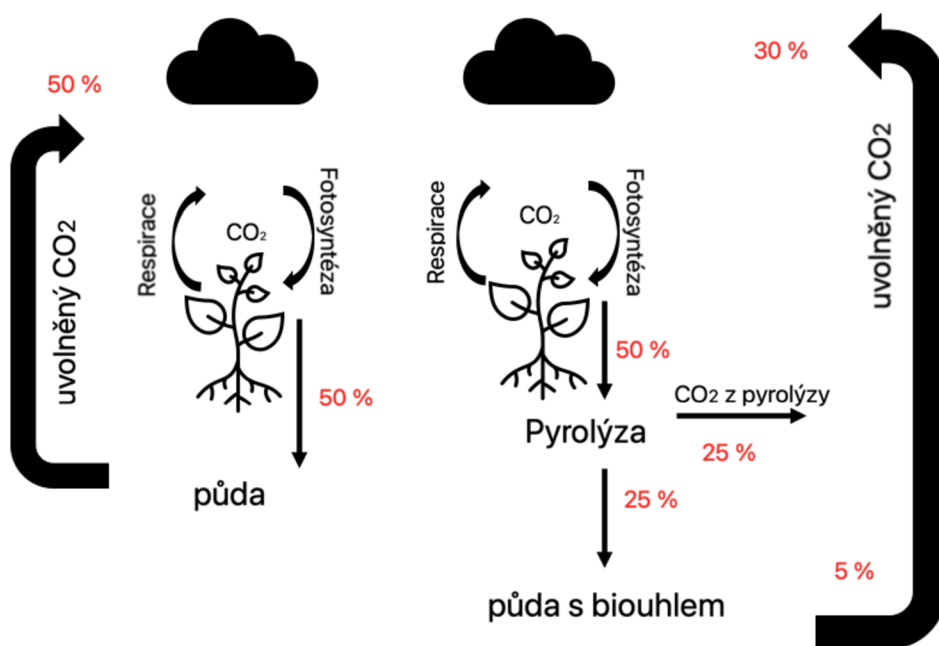
Po aplikaci biouhlu do půdy byl u více studií pozorován nárůst koncentrace PAHs. Jejich množství bylo nejvyšší po aplikaci biouhlu na půdu, ale s odstupujícím se časem se koncentrace značně snižovala. Aplikace biouhlu taktéž může snížit výskyt mikroorganismů, kteří biologicky degradují PAHs, což má za následek zvýšení akumulace PAHs v rostlinách [6].

2.4.3 Enviromentální dopady aplikace biouhlu na půdu

Při aplikaci biouhlu do půdy se výrazně snižují emise CO_2 z půdy, jelikož při aplikaci biomasy, či jiných organických produktů, se během jejich půdního rozkladu uvolňuje velké množství CO_2 . Dokonce kdyby se stejné množství biomasy zpyrolyzovalo nebo aplikovalo na půdu, množství CO_2 vyprodukované rozkladem, by bylo mnohonásobně vyšší než CO_2 vzniklé samotným pyrolýzním procesem. Například v prostředí mírného klimatu, kde rozklad v půdě neprobíhá rychlým tempem, by během dvou až pěti let byly emise z pyrolýzy nižší než při rozkladu [11].

Stávající přístupem pro odstranění uhlíku z atmosféry je pěstování rostlin, které zachycují oxid uhličitý ve své biomase nebo v půdní organické hmotě. Jedná se o metodu sekvestrace oxidu uhličitého zalesňováním. Biouhel je méně rizikovou strategií než jiné možnosti sekvestrace, jelikož se uložený uhlík nemůže uvolnit například při požárech, při přechodu

neobdělávané půdy zpět na obdělávanou nebo únikem z geologického úložiště. Rostlinná biomasa se rozkládá mnohem rychleji než biouhel. V rostlinách koluje určité množství uhlíku, které rostlina získává z oxidu uhličitého, jenž se nachází ve vzduchu. Rostliny přirozeně část tohoto množství uvolňují do půdy ve formě organických látek známých jako kořenové exudáty. V půdě jsou tyto látky zpracovány mikroorganismy zpět na oxid uhličitý, který se uvolňuje do atmosféry. Uhlík, který je v rostlině zabudován jako součást rostlinných pletiv, se všechno do atmosféry znovu uvolní, jestliže rostlina uhynie a je do půdy zaorána. Pokud rostlinu využijeme na výrobu biouhlu, který následně aplikujeme do půdy, tak uhlík zadržíme v půdě po delší dobu. Na Obrázek 3 je znázorněn koloběh uhlíku v procentuálním zastoupení. Je z něj patrné, že pokud vezmeme 50 % uhlíku z rostliny a zachytíme ho v půdě všech 50 % se zpět uvolní do atmosféry. Pokud však proběhne pyrolýza, do atmosféry se z původních 50 % uvolní pouze 30 % uhlíku. Z tohoto schéma pak vyplývá, že pokud vyřadíme uhlík z koloběhu fotosyntézy a převedeme ho do formy biouhlu, pak přímo odstraňujeme oxid uhličitý z atmosféry [14, 6].



Obrázek 3: Schéma sekvestrace uhlíku

2.5 Organické látky v biouhlu

2.5.1 Těkavé organické látky

Těkavé organické látky (volatile organic compounds, VOCs) jsou sloučeniny, které se za pokojové teploty snadno odpařují. Patří do třídy kapalných organických chemikálií s proměnlivou lipofilitou a těkavostí. Klasifikují se dle molekulární struktury nebo funkčních skupin. Do této skupiny spadají alifatické uhlovodíky, jak už chlorované či nikoliv, aromatické uhlovodíky, alkoholy, estery a aldehydy. Většina těchto sloučenin se v určité míře podílí na tvorbě přízemního ozónu [17].

Do biouhlu se těkavé organické látky dostávají v pyrolýzním procesu při rekondenzaci kapalně či plynné fáze na samotný biouhel. K výraznému poklesu koncentrace těkavých organických látek v biouhlu dochází při zvýšení teploty samotné pyrolýzy. VOCs u rostlin vykazují fytotoxicitu v podobě snížení klíčivosti semen. Při aplikaci biouhlu s obsahem VOCs na půdu, jsou negativní účinky na rostliny krátkodobé, díky degradaci a těkavosti VOCs. Přes negativní vlastnosti těchto látek se v biouhlu jejich hodnoty stále neměří [18].

2.5.2 Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs)

Základní strukturu PAHs tvoří atomy uhlíku a vodíku uspořádané do dvou a více spojených arénových kruhů [19]. Některé z nich klasifikuje Agentura pro ochranu životního prostředí Spojených států amerických (United States Environmental Protection Agency, US EPA) jako prioritní znečišťující látky, o nichž je známo, že mají akutně toxické, mutagenní, teratogenní nebo karcinogenní účinky [20].

Jedná se o organické kontaminanty vzniklé neúplným či neefektivním spalováním organického materiálu. PAHs mají nízkou rozpustnost ve vodě [21].

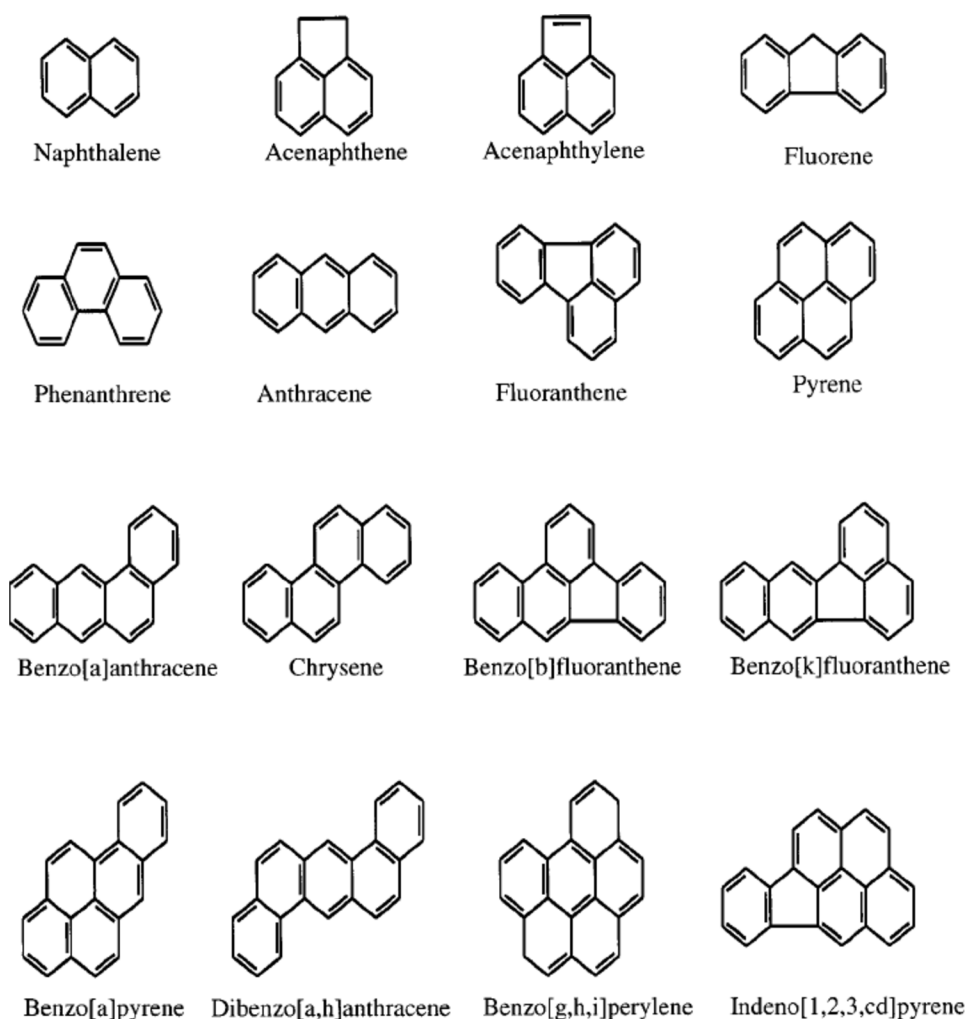
Většina PAHs, kromě nízkomolekulárních sloučenin jako je naftalen, se ve vodním prostředí sorbuje na částice či biotu. Filtrátoři, zvířata živící se vodními organismy a řasami získané filtrováním vody, mohou díky své vysoké rychlosti filtrace hromadit vysoké hladiny PAH a kvůli nízké schopnosti metabolizace je bioakumulují [21].

PAHs lze dle původu rozdělit do dvou hlavních tříd na petrogenní a pyrogenní. Petrogenní skupina PAHs pochází z ropných a vrtných činností, a to včetně ropných katastrof, úniků a znečištění z ropných rafinérií. Většina těchto PAHs je malá s dvěma až čtyřmi kruhy. Patří sem naftalen, antracen, fenantren a chrysen. Takto malé PAHs jsou pak často spojovány s akutní toxicitou a genotoxicitou, ale vykazují jen nízké karcinogenní účinky. Pyrogenní skupina je obsáhlejší, patří sem všechny PAHs spojené se spalovacími procesy, jako je znečištění z dopravy, průmyslové činnosti, spalování biomasy, ale také sem spadají lesní požáry a sopečná činnost. Do této skupiny spadají PAHs jako pyren, benzo(a)pyren, dibenzo(a,h)anthracen, benzo(ghi)perylene a další střední a velké PAHs. Tyto PAHs jsou spojovány s vysokou mutagenitou a karcinogenitou, na rozdíl od petrogenních PAHs nevykazují akutní toxicitu, přesto představují nejnebezpečnější složku výfukových emisí [22].

2.5.2.1 Šestnáct prioritních znečišťujících látek dle EPA

US EPA klasifikovala 16 PAHs jako prioritní znečišťující látky na základě toxicity, potenciálu pro expozici člověka, četnosti výskytu na místech s nebezpečnými odpady a rozsahu dostupných informací. Struktury a názvy zmíněné skupiny jsou znázorněny na Obrázek 4 [23].

Z těchto PAHs považuje US EPA sedm za pravděpodobné karcinogeny pro člověka, jedná se o chrysen, benzo(a)pyren, benzo(b)fluoranthén, benzo(k)fluoranthén, dibenzo(a,h)anthracen a indeno(1,2,3-cd)pyren. PAHs, které jsou považované za karcinogeny mají obecně vyšší molekulovou hmotnost, nižší tlak par a konstanty rozpustnosti ve srovnání s nekarcinogenními PAHs [23].



Obrázek 4: List 16 US EPA PAHs [24]

2.5.2.2 Limity PAHs pro biouhel

Jakékoliv limity pro biouhel nejsou uzákoněny. O jejich certifikaci se stará iniciativa EBC (The European Biochar Certification). Pokud biouhel splňuje dané předpoklady obdrží certifikaci. Dané limity jsou testovány akreditovanou laboratoří a odběry vzorku musí provádět akreditovaný vzorkař [25]. EBC rozděluje biouhly dle využití. Pro biouhel s aplikací v zemědělství stanovuje limitní hodnoty pro 16 US EPA PAHs $6 \pm 2,4 \text{ g} \cdot \text{t}^{-1}$ sušiny [26].

2.6 Transformace polycyklických aromatických uhlovodíků v životním prostředí

V životním prostředí se PAHs transformují chemickými a biologickými procesy [22].

Chemické reakce jsou katalyzovány slunečním zářením a zahrnují odpařování, oxidaci a nitraci. Skupina nitro-derivátů polycyklických aromatických uhlovodíků (nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons, nitro-PAHs) vzniká interakcí PAHs s dusíkem a kyselinou dusičnou, které jsou volně dostupné v atmosféře. Nitro-PAHs vznikají i ve spalovacích procesech, při nichž dochází ke vzniku dinitrosloúčenin. Tyto sloučeniny pak způsobují astma, alergie a rakovinu plic. Samotné nitro-PAHs způsobují mutagenitu. Oxidované polycyklické aromatické uhlovodíky (oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons, oxy-PAHs) vznikají v atmosféře interakcí s ozónem, tuto reakci katalyzuje UVA záření. Tyto deriváty mohou také vznikat při studeném startování dieselových motorů. Oxy-PAHs mají podobnou genotoxicitu jako nitro-PAHs [22].

V atmosféře se PAHs spontánně chemicky rozkládají, jedinou výjimkou je halogenace, kterou katalyzují plísňové druhy, a metoxylace. Metoxylovaná forma PAH vzniká transformací za pomoci houby outkovky pestré během jejich enzymatických aktivit.

Reakce v atmosféře se řídí pár základními pravidly. Prvním pravidlem je velikost molekuly, čím větší molekula PAHs je tím se zvyšuje její potenciál na pohlcování světelné energie a tím se zvyšuje její fotoreaktivita. Druhým pravidlem je stabilita PAHs v životním prostředí, se zvyšující se aromaticitou se PAHs stává stabilnějším v životním prostředí a jeho poločas rozpadu se zvyšuje [22].

2.6.1 Osud PAHs v životním prostředí

PAHs se hromadí v blízkosti míst s frekventovanou automobilovou dopravou jako jsou silnice a parkoviště. Za pomoci splachu při deštích či tání sněhu se PAHs dostávají do vodních systémů. Do vody se PAHs dostávají v pevné formě navázané na pevných částicích, a tak se akumulují v korytech vodních toků a mořských sedimentech [22].

PAHs se pak dle adsorpce dělí do dvou hlavních kategorií. První skupinou jsou PAHs s nízkou molekulovou hmotností, skládající se z dvou až tří benzenových kruhů, které se adsorbují na písčovou frakci přímo při odtoku z cesty. Zatímco druhá skupina PAHs s vysokou molekulovou hmotností, s šesti až sedmi kruhy, se do značné míry adsorbují na povrchu jemných částic. V letním období se velká část PAHs odpařuje do atmosféry, jedná se hlavně o PAHs s nízkou molekulovou hmotností [22].

PAHs je v půdě vázána na půdní částice. Nejdůležitější faktory, které mobilitu PAHs ovlivňují, je velikost sorbujících se částic a velikost půdních pórů. Tendence PAHs sorbovat se na půdu závisí jak na vlastnostech PAHs, tak na vlastnostech půdy. Důležitý je také rozdělovací koeficient oktanol-voda, jenž souvisí s rozpustností organických sloučenin ve vodě. Jestliže se hodnota koeficientu zvyšuje, snižuje se rozpustnost ve vodě a zvyšuje se tendence sorpce na půdu [7].

Velká část PAHs usazených v sedimentech jsou nehybné, jelikož jejich nepolární struktury jim brání rozpouštět se ve vodě. Některé PAHs s nižší molekulovou hmotností se v malém množství do vody rozpouští a začleňují se tak do pórové vody, kde jsou pak biologicky dostupné pro celou řadu organismů. Při výskytu organických koloidů v sedimentu se PAHs na tyto koloidy mohou sorbovat. Tyto koloidy se lépe přenášejí pórovou strukturou sedimentu, a tak se zvyšuje mobilita samotných PAHs v sedimentech [7].

2.6.1.1 Degradace PAHs v životním prostředí

Degradace PAHs v životním prostředí zahrnuje biodegradaci, fotooxidaci, adsorpci, vyplavování a bioamukulaci [7].

Při biodegradaci, hlavně pokud se jedná o anaerobní degradaci, musí být PAHs pro bakterii dostupné. PAHs jsou pro bakterie dostupné, jestliže jsou ve fázi plynné nebo kapalné. Pokud jsou PAHs sorbované na půdu nejsou pro bakterie biodostupné. Jedním z faktorů biodostupnosti PAHs je jejich rozpustnost ve vodě, která je závislá na molekulové hmotnosti PAHs. PAHs však z půdy i sami desorbují, kdy množství desorbovaných PAHs z půdy s časem klesá. Při biodegradaci může u bakterií docházet ke kompetitivní inhibici, kdy bakterie naleznou chemickou látku, která je pro ni lepším zdrojem potravy, než jsou PAHs [7].

Fotolýza je definována jako destrukce sloučeniny z reakcí iniciovaných pohlcením světla. K těmto reakcím dochází, když světlo pohlcené PAHs excituje elektrony uvnitř molekuly. Tato excitace vytváří nestabilní strukturální uspořádání. V důsledku tohoto uspořádání lze na sloučeninu působit fyzikálními a chemickými procesy. K fotolýze dochází jsou-li PAHs nasorbovány na částice v půdě či v atmosféře. Tyto reakce jsou účinnější se zvětšujícím se povrchem částic. Fotolýza také probíhá rychleji na světlém podkladu oproti podkladu tmavému. U fotolýzy také platí, že záleží na struktuře PAHs. Obecně platí, že lineární a

dvoukruhové PAHs se rozkládají rychleji. Taktéž je účinnější u sloučenin s nízkou molekulovou hmotností jako je například naftalen, protože je biologicky dostupnější a má tak delší dobu expozice slunečním zářením. Jestliže jsou PAHs sorbovány uvnitř částice, a ne na jejím povrchu, nejsou pro sluneční paprsky dostupné, a tak k fotolýze nedochází [7].

2.6.1.2 Limity pro PAHs v životním prostředí

Dle vyhlášky č. 153/2016 Sb. je jako preventivní hodnota obsahů rizikových látek v zemědělské půdě určena koncentrace pro směs PAHs 1 mg/kg sušiny. Do této směsi PAHs se řadí anthracen, benzo(a)anthracen, benzo(b)fluoranthen, benzo(k)fluoranthen, benzo(a)pyren, benzo(ghi)perylene, fenanthren, fluoranthen, chrysen, indeno(1,2,3-cd)pyren, naftalen a pyren. Tato vyhláška stanovuje další limitní hodnotu pro PAHs, jedná se o indikační hodnotu rizikových látek, kdy při jejich překročení může být ohroženo zdraví lidí a zvířat. Tato hodnota je pro benzo(a)pyren stanovena na 0,5 mg/kg sušiny a pro směs PAHs na 30 mg/kg. Do této směsi pak spadá antracen, benzo(a)anthracen, benzo(b)fluoranthen, benzo(k)fluoranthen, benzo(a)pyren, benzo(ghi)perylene, fenanthren, fluoranthen, chrysen, indeno(1,2,3-cd)pyren, naftalen a pyren [27].

Hodnotu normy environmentální kvality pro útvary povrchových vod stanovuje nařízení vlády č. 401/2015 Sb. Toto nařízení stanovuje roční průměr sumy PAHs, který nesmí přesáhnout 0,1 µg/l. Do této sumy PAHs pak spadá benzo(b)fluoranthen, benzo(k)fluoranthen, benzo(a)pyren, benzo(ghi)perylene a indeno(1,2,3-cd)pyren [28].

Dle metodického pokynu Ministerstva životního prostředí se indikátory znečištění zemin dělí do dvou skupin první skupinou jsou průmyslově využívaná území a skupinou druhou jsou ostatní plochy. Na rozdíl od ostatních nařízení a vyhlášek jsou v tomto pokynu PAHs sledovány jednotlivě, a ne jako skupina. Jednotlivé limity jsou uvedeny v Tabulka 1 [29].

Tabulka 1: Limity pro zeminu v hodnotách mg/kg sušiny [29]

PAH	průmyslové zeminu	ostatní zeminu
acenaften	33 000	3 400
anthracen	170 000	17 000
benz(a)anthracen	2,1	0,15
benzo(a)pyren	0,21	0,015
benzo(b)fluoranthen	2,1	0,15
benzo(k)fluoranthen	21	1,5
dibenzo(a,h)anthracen	0,21	0,015
fluoren	22 000	2 300
fluoranthen	22 000	2 300
chrysen	210	15
indeno(123cd)pyren	2,1	0,15
naftalen	18	3,6
pyren	17 000	1 700

2.6.2 Účinky PAHs na lidský organismus

Lidé mohou být PAHs spojenými s biouhlem vystaveny buď vdechnutím částice nebo nepřímo požitím ovoce nebo zeleniny pěstované na půdě s biouhlovou úpravou. PAHs se

dostávají i do vody díky jejich vyplavování z půdy. U většiny lidí tak dochází k expozici PAHs pravidelně. Výzkumy dokonce ukázaly zjištěitelné množství PAHs ve všech lidských orgánech.

Díky své vysoké rozpustnosti v tucích se PAHs snadno vstřebávají v trávicím traktu savců. Orgány bohaté na tukovou tkáň mohou sloužit jako sklady PAHs a postupně se z nich mohou uhlovodíky uvolňovat [16, 7].

Vliv PAHs na lidské organismy záleží na délce a cestě expozice a množství nebo koncentraci. Taktéž záleží na typu PAHs, kterým je člověk vystaven a také na relativní toxicitě jednotlivých PAHs. Mezi krátkodobé účinky na lidské zdraví při vysokých koncentracích patří podráždění očí, nevolnost, zvracení a průjem. Při dlouhodobé expozici mají PAHs za následek snížení imunitní funkce, dýchací potíže a poškození ledvin a jater [16, 7].

Nemetabolizované PAHs mohou mít toxické účinky, hlavním problémem jsou však jejich metabolity, mezi které se řadí epoxidy a dihydrodioly. Ty jsou pak schopny vázat se na buněčné proteiny a DNA. Díky této vlastnosti dochází k biochemickým poruchám a výskytu poškozených buněk, které pak vedou k mutacím, nádorům a rakovině [16, 7].

Typ rakoviny pak závisí na typu expozice. Při vdechování se vyskytuje rakovina plic, při požití rakovina žaludku a při kontaktu s kůží rakovina kůže. Jednotlivé typy rakovin se vyskytly u laboratorních zvířat při dlouhodobé expozici s vysokou koncentrací PAHs [16, 7].

2.6.2.1 Ekotoxikologie PAHs

Toxicita pro vodní organismy je ovlivněna metabolismem a fotooxidací. V přítomnosti ultrafialového světla jsou PAHs obecně jedovatější. PAHs mají středně vysokou až vysokou akutní toxicitu pro vodní organismy a ptáky. S výjimkou silně kontaminovaných půd nemají PAHs toxické účinky na bezobratlé [7].

PAHs jsou v životním prostředí mírně perzistentní a lze je bioakumulovat. Očekává se, že koncentrace PAHs zjištěné u ryb a korýšů budou mnohem vyšší než v prostředí, kde byly organismy odebrány [7].

2.7 Rostliny pěstované na půdě s biouhlem

Koncentrace PAHs v rostlinách při použití biouhlu v půdě je závislá na mnoha faktorech. Prvním faktorem je typ biouhlu. Ukázalo se, že nezávisí na koncentraci PAHs v biouhlu, ale na jejich biologické dostupnosti. Taktéž ne u všech biouhlů bylo potvrzeno zvýšení koncentrace PAHs v rostlině při aplikaci biouhlu do půdy. Dalším faktorem jsou rostliny samotné, byly nalezeny rozdíly v koncentracích PAHs mezi různými druhy rostlin pěstovaných na stejném typu půdy. Posledním faktorem jsou samotné PAHs. S vyšší molekulární hmotností PAHs se snižuje jejich biodostupnost u rostlin. Rostliny pěstované na půdě s biouhlem obsahují vyšší koncentrace LMW-PAHs, koncentrace HMW-PAHs se při aplikaci biouhlu nikterak nezvyšují [30].

Během růstu rostliny buď aktivně nebo pasivně uvolňují kořenové exudáty. Jedná se o organické sloučeniny. Tímto způsobem se do půdy uvolňuje 20–30 % uhlíku fixovaného fotosyntézou v rostlinných výhoncích. Kořenové exudáty urychlují koloběh živin, růst rostlin a rhizosférickou mikrobiální aktivitu. Navíc mohou zlepšit desorpci organických znečišťujících látek z environmentálních matic. Exudáty zlepšují i uvolňování PAHs z biouhlu. Uvolněné PAHs se pak do rostlin vstřebávají za pomoci kořenů a odtud se přesouvají do výhonků [6].

2.8 Vliv biouhlu na žížaly

Žížaly jsou z půdní fauny používanými organismy pro půdní ekotoxikologii, a to hlavně kvůli své citlivosti vůči půdním znečišťujícím látkám a ekologické roli v půdě. Jejich relativně vysoký obsah lipidů má za následek akumulaci lipofilních toxických látek v jejich tkáních. Mnoho drobných savců a ptáků se žížalami živí, a to přispívá k transportu kontaminantů z půdy do potravních řetězců [31, 32].

Žížaly jsou vystaveny toxickým účinkům biouhlu zejména z důvodu konzumace mikrobu. Tyto mikroby se hojně vyskytují na biouhlových plochách. Žížaly pak bioakumulují PAHs, které se v biouhlu nacházejí. Koncentrace akumulovaných PAHs závisí na množství biouhlu obsaženého v půdě a na typu půdy. Ukázalo se, že v písčité půdě je akumulace mnohem vyšší než v půdě jílovitého charakteru. Důvodem je interakce PAHs s minerály jílu, tímto procesem se pak snižuje dostupnost PAHs pro žížaly. Negativní účinky má biouhel na žížaly už při koncentraci 100 tun na hektar, tato koncentrace má u většiny rostlin příznivé účinky a běžně se používá na zemědělskou půdu [31, 32].

U žížal bylo pozorováno vyhýbání se půdě s biouhlem. Jestliže by se biouhel aplikoval na zemědělské půdy ve větším měřítku, mělo by to za následek snížení žížalí populace nebo jejich menších aktivit na ošetřených půdách. Důvodem pro vyhýbání se ošetřeným půdám je celá řada. Prvním a asi nejdůležitějším je uvolňování toxických chemikálií z biouhlu a jeho nízká nutriční hodnota. Dalším důvodem by u mnoha biouhlů mohla být jejich velikost částic, která je srovnatelná s velikostí částic písku, které žížaly nepreferují [31, 32].

2.9 Analýza PAHs v půdě, rostlinách a biouhlu

Při analýze PAHs z pevné matrice jsou potřeba čtyři kroky. Prvním je extrakce, druhým přečištění extraktu, třetím krokem je odpaření rozpouštědel a posledním je kvantitativní stanovení za pomoci vysokoúčinné kapalinové chromatografie či za využití plynové chromatografie spojené s hmotnostní spektrometrií [33, 34].

2.9.1 Extrakce

Bez ohledu na použitou metodu je rozhodujícím faktorem rozpouštědlo. Tento fakt pak ovlivňuje účinnost celé extrakce. Je proto velmi obtížné rozhodnout o nejlepší metodě pro daný účel. Účinnost rozpouštědel taktéž velmi závisí na typu biomasy, ze které byl daný biouhel vyroben, proto rozpouštědlo vhodné pro jeden typ biouhlu nemusí být vhodné pro typ jiný [33].

2.9.1.1 Soxhletova extrakce

Při tomto typu extrakce je zapotřebí velký objem rozpouštědel (100–400 ml), a poměrně dlouhá doba (6–48 h). Tento typ však není závislý na matici a po extrakci není nutná filtrace. Jako rozpouštědla se zde používají toluen, methanol, dichlormethan, hexan, propanol, ethanol. Tyto rozpouštědla se využívají vždy ve směsi dvou kapalin v různém poměru. Účinnost jednotlivých směsí se liší pro každý typ PAHs, a proto neexistuje nejúčinnější směs pro jakékoliv stanovení. Při delší době extrakce se zlepšuje extrahovatelnost PAHs. Po dosažení 36 hodin se však hodnoty nezvyšují, a proto není nutné extrakci provádět po delší dobu [33].

Tato extrakce ve spojení se 100 % toluenem byla doporučena pro extrakci PAHs z biouhlu EBC [33].

2.9.1.2 Extrakce za zvýšeného tlaku a teploty

c (Accelerated solvent extraction, ASE) má oproti Soxhletově extrakci výhody v kratší době extrakce a nižší spotřebě rozpouštědel. Při extrakci půdy je extrahovatelnost PAHs dvakrát vyšší než při Soxhletově extrakci u biouhlu, ale výrazně závisí na použitém rozpouštědle. Pro extrakci biouhlu se pak více používá extrakce Soxhletem než ASE [33].

2.9.1.3 Ultrazvuková extrakce

Extrakce ultrazvukem je dalším typem extrakce. Je však závislá na matici vzorku a obsahu kontaminujících látek. Při této metodě je po extrakci nutná filtrace či využití centrifugy. Co se týká extrahovatelnosti PAHs je na tom ultrazvuková extrakce podobně jako extrakce Soxhletem. Zde taktéž závisí na jednotlivých PAHs [33].

2.9.1.4 Mikrovlnná extrakce

Mikrovlnná extrakce se běžně využívá k extrakci cílových sloučenin z pevných matic. Na rozdíl od klasických metod vodivého ohřevu, mikrovlny rychle a současně ohřívají celý vzorek. Tímto způsobem zkracují dobu extrakce a množství rozpouštědel. Navíc zajišťuje selektivní interakci s polárními molekulami, což zvyšuje extrakční účinnost PAHs [33].

2.9.2 Přečištění vzorku

K přečištění vzorků se využívá kolonová chromatografie se silikagelovou náplní. Přečištění se provádí zejména u rostlinných vzorků, ale můžeme se s ním setkat i u vzorků biouhlu [35, 33].

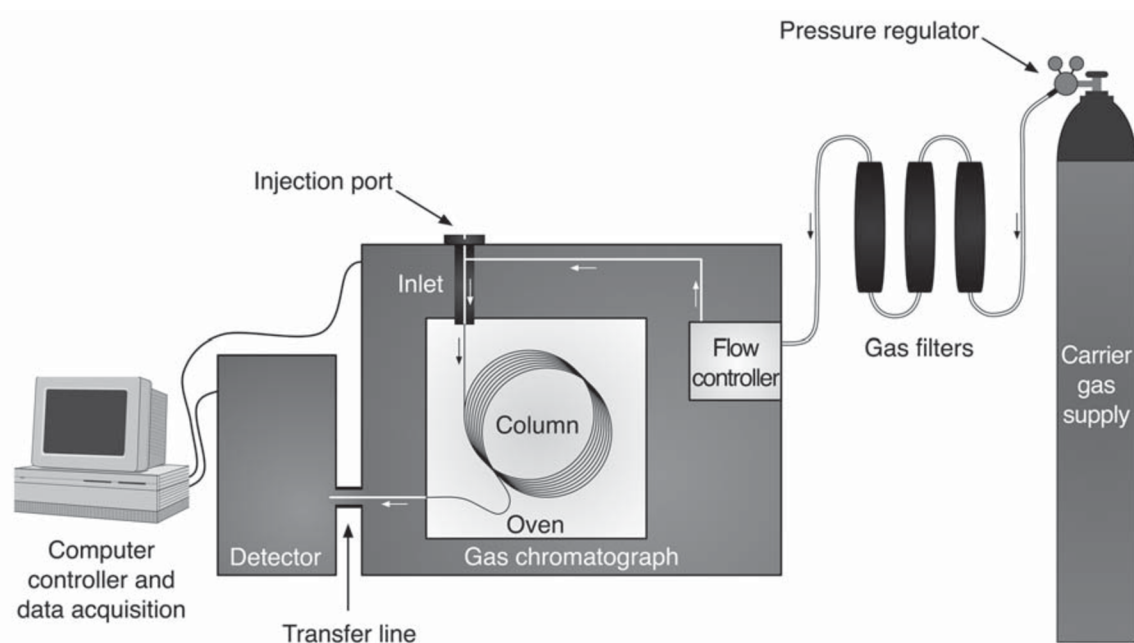
2.9.3 Zakoncentrování vzorku

Po extrakci je nutný krok odpaření rozpouštědel. K odpařování se využívá buď proud dusíku nebo rotační odparka. Při použití odparky je nutno dbát na správný proces odpařování, jelikož při drastičtějším odpařování dochází ke ztrátám velké části PAHs. Odpaření se provádí z důvodu zakoncentrování extraktu PAHs [34].

2.9.4 Plynová chromatografie

U plynového chromatografu se složky separují na základě rozdělení mezi plynnou mobilní fází a stacionární fází udržovanou v koloně. Vstříkování vyžaduje odpaření vzorku a jeho následné přenesení na počátek kolony. Složky ze vzorku se kolonou pohybují díky plynné mobilní fázi, které se říká nosný plyn. Analyty se pak v koloně rozdělí díky jejich interakci se stacionární fází. Rozdělení je zde založeno na základě relativní rozpustnosti v kapalně fázi a relativním tlaku par samotného analytu. Analyty jsou unášeny nosným plynem do detektoru. Detektor zaznamenává odezvu na danou vlastnost. Výsledným záznamem je nejčastěji intenzita signálu v závislosti na retenčním čase nebo objemu [36].

Plynová chromatografie se využívá zejména pro analýzu permanentních plynů, volatilních a semivolatilních látek a ve spojení s hmotnostní spektrometrií patří dnes mezi nejpoužívanější metodu pro stanovení PAHs [36].



Obrázek 5: Schéma plynové chromatografie. Převzato z [37].

2.9.4.1 Mobilní fáze

Jako mobilní fáze se využívá inertní nosný plyn, jako je helium, dusík nebo vodík. Typ a čistota mobilní fáze závisí na použitém detektoru. Množství a tlak plynu je řízen elektrickým průtokoměrem, ten zajišťuje konstantní průtok plynu, a tak dochází ke konzistentnímu průtoku plynu uvnitř kolony [36].

2.9.4.2 Dávkování vzorku

Autosamplery se využívají ke vstříku vzorku do odpařovací komory. Využívají se kvůli jejich rychlému a konstantnímu způsobu dávkování, během kterého dochází jen k minimálnímu odpařování na hrotě jehly. Kvůli jejich lepší přesnosti jsou výsledky více reprodukovatelné a předchází se i lidské chybě při manuálním nástřiku. Jehla nabere vzorek, pak propíchně silikonové či gumové septum a vstříkne vzorek do odpařovací komory [36].

Odpařovací komora obsahuje trubičku z křemenného skla, liner. Liner umožňuje rychlé odpaření vzorku a přenos vzorku s mobilní fází do hlavy kolony. Výběr vhodného lineru je zásadní pro následné měření. Pro výběr je nutné vzít v úvahu množství vstříkovaného vzorku a jeho expanzi objemu při zahřátí. Pokud by byl objem lineru příliš malý, docházelo by ke ztrátě vzorku a to by mělo za následek špatnou reprodukovatelnost výsledků. Naopak při výběru lineru s příliš velkým objemem by docházelo ke vzniku velkého mrtvého objemu, který prodlužuje dobu přenesení vzorku na hlavu kolony [36].

2.9.4.3 Kolona

Dnes se ve větší míře používají kapilární kolony (fused silica column typu WCOT). Vnitřní průměry kolon se pohybují od 0,1 do 0,53 mm. Kolona s nejmenším průměrem má nejmenší kapacitu pro vzorek a není vhodná pro stopovou analýzu. Nejčastěji používané kolony se pohybují od 0,25 do 0,32 mm a představují nejlepší kompromis mezi rozlišením, množstvím vzorku, rychlostí analýzy a snadnou obsluhou. Kolona s průměrem 0,53 mm se zřídka používá z důvodu ztráty rozlišení [36].

Délka kolony je dalším důležitým faktorem pro separaci analytů, čím je kolona delší tím je separace analytů účinnější. S prodlužující se kolonou se prodlužuje retenční čas, a tím se prodlužuje i čas samotné analýzy. Pokud však chceme dosáhnout velkého rozlišení, je nutné použít dlouhou kolonu. Pro většinu aplikací se používají kolony o délce 30 m. Krátké kolony lze využít v případě analýzy s omezeným počtem analytů. Kolony o délce 60 m a delší jsou spojeny s analýzou vzorků, kde je potřeba zajistit vysokou separační účinnost [36].

Tloušťka filmu je u většiny kolon 0,25 μm . Taková tloušťka je vybrána ze dvou hlavních důvodů. Prvním je, že kolona s touto tloušťkou filmu je prakticky využitelná při normálních provozních teplotách. Druhým je snížení tzv. krvácení kolony (column bleed), jelikož je krvácení kolony přímo úměrné s množstvím stacionární fáze v koloně. Krvácení kolony je proces, při kterém stacionární fáze degraduje a eluuje z kolony. Poté se nosným plynem a analytem dostává do detektoru, kde dochází k její detekci. Krvácení kolony je způsobeno zahříváním kolony při vyšších teplotách než je doporučeno nebo zahříváním kolony bez přítomnosti toku nosného plynu a nebo vystavením příliš vysokému či nízkému pH [36].

Teplota kolony je spolu se stacionární fází nejdůležitějším faktorem pro oddělení analytů. Se zvyšující se teplotou se snižují retenční časy a retenční faktory. Teploty kolony závisí na bodu varu složek vzorku a stupni rozlišení potřebnému pro každou složku. Na nepolárních stacionárních fázích je pořadí eluce úzce spojeno s těkavostí analytu, kde analyty eluují podle těkavosti. Pokud je vzorek složen z analytů s různými body varu je možné provést analýzu při jedné teplotě neboli izotermicky. U směsi složené z analytů při podobném bodu varu je nutné teplotu naprogramovat, aby se zvyšovala buď kontinuálně nebo krokově během celého procesu separace. Tato metoda začíná se vstříkáním za nízké teploty. Do metody je pak posléze zakomponován teplotní gradient, který napomáhá oddělit analyty se středními a vysokými body

varu díky delší retenci na stacionární fázi. Lineární teplotní gradient je využíván u analytů s velkým rozsahem bodu varů. U některých vzorků je nutné naprogramovat nelineární teplotní program nebo sérii krokových lineárních nárůstů [36].

Většina systémů plynové chromatografie umožňuje kolonu ohřát od 30°C (tato teplota je dána teplotou laboratoře) do 350°C. Horní mez se nedá z technických důvodů přesáhnout, jelikož se jedná o maximální teplotu při, které lze pracovat s tavenými kapilárními kolonami z oxidu křemičitého. Maximální teplota se musí taktéž řídit provozní teplotou stacionární fáze [36].

2.9.5 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie je široce používaná metoda pro identifikaci látek, určování jejich struktury případně izotopového složení, ale je i metodou vhodnou pro kvantifikaci vybraných analytů. Existuje celá řada různých přístrojů, lišící se jednotlivými součástmi. Dnes je MS velmi často spojen s další analytickou technikou, zejména chromatografií do tzv. spřažených (tandemových) technik. Je možné používat techniku GC/MS i LC/MS, obě varianty se liší uspořádáním přístroje [38].

Hlavními částmi přístroje jsou iontový zdroj, hmotnostní analyzátor a detektor. Analyty jsou vháněny do iontového zdroje, kde se z nich vytvářejí ionty. Ionty jsou poté urychleny do hmotnostního analyzátoru, kde dochází k iontové separaci za pomoci magnetického nebo elektrického pole. Z hmotnostního analyzátoru jsou separované ionty vedeny do detektoru nejčastěji elektronásobiče [38].

V samotném přístroji je nízký tlak a vakuum, díky těmto podmínkám se předchází odklonění iontů z jejich dráhy a srážkám iontů s atmosférickými molekulami [38].

2.9.5.1 Ionizace

V tomto oddíle budou popsány typy ionizací, které jsou spojovány s plynovou chromatografií [38].

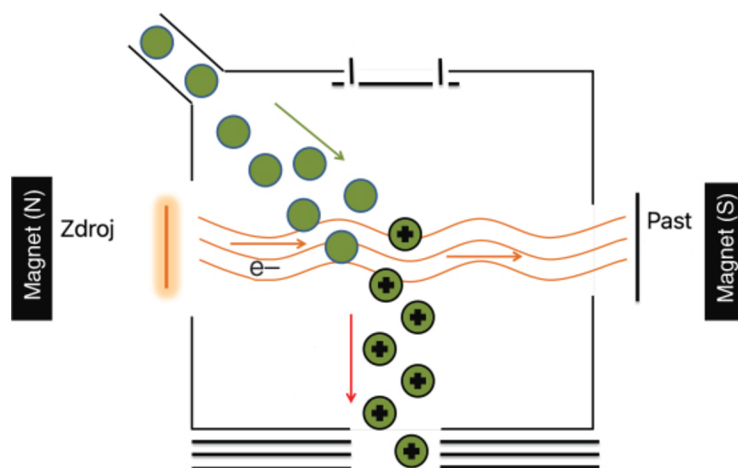
2.9.5.2 Elektronová ionizace

Elektronová ionizace je metoda, jenž patří mezi jeden z nejstarších a nejrozšířenějších způsobů ionizace v hmotnostních spektrometrech. Ionizační energie je analytům dodána prostřednictvím elektronů z vlákna. Zdrojem elektronů je tenké vlákno z rhenia, které je žhaveno a taktéž slouží jako katoda. Takto vzniklé elektrony vstupují do ionizační komory, kde jsou urychleny rozdílem potenciálů mezi vláknem a ionizační komorou. Elektrony, které se v komoře nespotebují, jsou zachytávány elektronovou pastí, jenž je umístěna mimo ionizační komoru a nese malý kladný potenciál [38].

Nosný plyn s analyty vstupuje do ionizační komory malým otvorem, kde dojde k interakci s malým svazkem elektronů. Při interakci elektronů s elektrony molekulového orbitalu dojde k vymrštění jednoho z elektronů, většinou se jedná o elektron z nevazebných orbitalů heteroatomů a vzniká tak radikál kationt. Poté jsou vzniklé ionty tlačeny do výstupní štěrbině iontového zdroje. Kromě vzniku molekulového radikál kationtu, který nese informaci o molekulové hmotnosti, dochází také kvůli velkému přebytku energie k fragmentacím molekul a vzniku iontů se sudým počtem elektronů [38].

Celá komora je vyhřívána na teplotu 300°C, aby nedocházelo ke kondenzaci vzorku. A je udržována při tlaku 1^{-10} Pa, aby se minimalizovaly kolize iontů a molekul ze vzduchu [38].

Použití elektronové ionizace je omezeno na látky spíše nepolárního charakteru a s molekulovou hmotností nižší, než je 1000 Da. Díky vysokému množství použité energie dochází k fragmentaci molekul při iontové tvorbě. Díky velké fragmentaci vznikají vysoce diagnostická hmotnostní spektra s více signály m/z , která jsou spojená s konkrétními fragmenty [38].

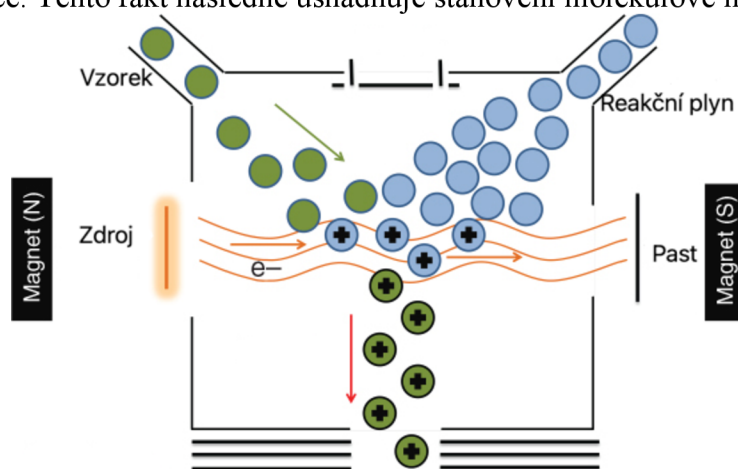


Obrázek 6: Schéma elektronové ionizace. Převzato a upraveno z [38]

2.9.5.3 Chemická ionizace

Stejně jako u elektronové ionizace je zde použito vlákno rhenia k produkci elektronů, které jsou pak vháněny do komory. Do komory se společně s vzorkem vhání reakční plyn. Jako plyn používán amoniak či methan a do komory je vháněn v přebytku ku vzorku. Jelikož je plyn v přebytku, elektrony ho ionizují přednostně. Dochází pak k ion-molekulárním reakcím, kde je nejčastější reakcí protonu z ionizovaného plynu na molekulu analytu [38].

Ve srovnání s elektronovou ionizací zde dochází ke vzniku iontů za nižších energetických procesů, což má za následek menší fragmentaci. Nedostatek fragmentace sice omezuje informace o struktuře molekuly, ale intenzita signálu molekulového iontu je větší než u elektronové ionizace. Tento fakt následně usnadňuje stanovení molekulové hmotnosti [38].



Obrázek 7: Chemická ionizace. Upraveno a převzato z [38]

2.9.5.4 Hmotnostní analyzátor

Funkcí hmotnostního analyzátoru je oddělit ionty vznikající v iontovém zdroji na základě jejich poměru m/z . Všechny analyzátorů pracují ve velkém vakuu, aby se předešlo kolizím analyzovaných iontů. Pracuje na základě, že mobilní iont lze odlišit od jiného iontu na základě rozdílů kinetické energie, hybnosti a rychlosti [38].

Rozsah hmotnosti analyzátoru udává maximální a minimální hodnotu m/z , kterou je přístroj schopný stanovit. Rozlišovací schopnost analyzátoru hmotnosti značí jeho schopnost oddělit dva sousední hmotové ionty [38].

Nominální hmotnost iontu nebo molekuly označuje hmotnost nejhojnějšího izotopu každého prvku zaokrouhlená na nejbližší celé číslo [38].

2.9.5.5 Kvadrupólový hmotnostní spektrometr

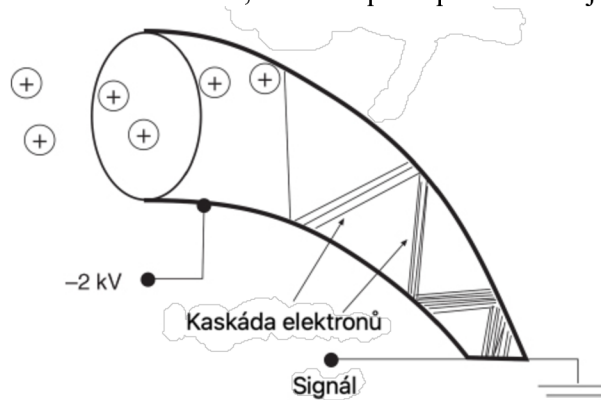
Dnes se jedná o nejrozšířenější hmotnostní analyzátor. Je složen ze čtyř rovnoběžných kruhových kovových tyčí. Tyto tyče jsou rozmístěny tak aby elektrické pole mezi nimi bylo hyperbolické. Elektrické pole vytvořené mezi tyčemi funguje jako filtr tím způsobem, že umožňuje iontům s určitou m/z procházet mezerou mezi tyčemi. Řízením poměru napětí, lze vytvořit úzký filtr, který propustí jen určitý typ iontů s poměrem m/z . Další ionty s rozdílným poměrem se srazí s tyčemi a neutralizují se. Rozsah analyzátoru hmotnosti se řídí velikostí tyčí, vzdáleností mezi nimi a frekvencí [38].

2.9.5.6 Detektor

Detektor poskytuje informace o četnosti iontů po výstupu z hmotnostního analyzátoru. Paprsek iontů se převádí na elektrický signál, který je později zobrazen na softwaru počítače. Signál iontů je, ale často moc slabý na detekci, a proto je nutné ho zesílit [38].

Elektronový násobič se používá k zesílení signálu a funguje na procesu sekundární elektronové emise. Iontový paprsek zasáhne dynodu, která emituje sekundární elektrony. Tyto nově vzniklé elektrony pak narážejí na povrch dalších dynod, které taktéž emitují elektrony. Takováto kaskáda elektronového proudu dorazí nakonec elektronového násobiče k anodě a zde je dále umocněna elektronickým násobičem [38].

Dalším konstrukčním typem elektronového násobiče je soustava ve tvaru rohu. Zde jsou jednotlivé dynody nahrazeny jednou spojitou dynodou, která se nachází na celém povrchu. Jak lze na obrázku vidět, tak ionty jsou vháněny do systému, kde dynoda emituje elektrony, které se odrážejí, a tak vytvoří kaskádu elektronů, které se postupně dostávají k anodě [38].

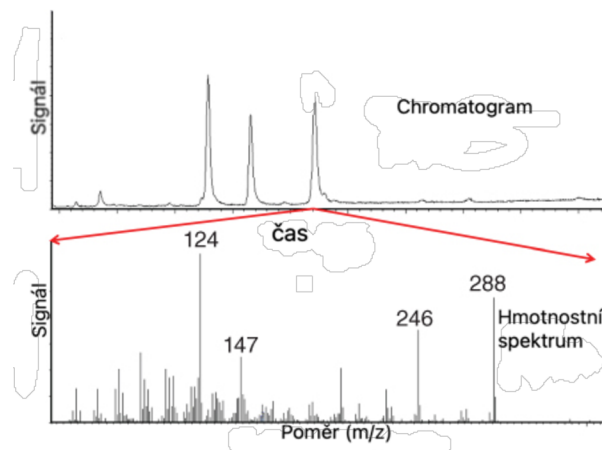


Obrázek 8: Elektronový násobič. Převzato a upraveno z [38]

2.9.5.7 Výstup z hmotnostního spektrometru

Hmotnostní spektrum je graf intenzity signálu ku poměru m/z a je hlavním výstupem hmotnostního spektrometru. Základní pík je pík s nejvyšší intenzitou ve spektru molekuly, ale nemusí se jednat o molekulový iont [38].

Chromatografický záznam typu TIC (total ion current) je závislost signálu ku času. Tento graf je výsledkem spojení plynové chromatografie či kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie. Je to součet všech signálů m/z , které jsou v daném čase zaznamenány hmotnostním spektrometrem [38, 39].



Obrázek 9: Rozdíl mezi hmotnostním spektrem a chromatogramem. Převzato a upraveno z [38]

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité přístrojové vybavení, chemikálie

3.1.1 Chemikálie a vybavení

- Dichlormethan pro HPLC, HiPerSolv CHROMANORM
- Hexan $\geq 97\%$, CHROMASOLV pro HPLC (GC), Sigma-Aldrich
- Isooktan pro analýzu, MERCK
- Aceton technický, VER BDH CHEMICALS
- Silikagel Sigma-Aldrich
- Mořský písek praný, PENTA
- Stříkačkové filtry CHS FilterPure, 13 mm, 0,22 μm , PTFE hydrofobní (CHROMSERVIS)

3.1.2 Standardy

- PAH-Mix 9, LS20950009CY, 10 ng/ μl v cyklohexanu
- Deuterated PAH standard, 5 látek, 2000 $\mu\text{g/ml}$ v metylen chloridu, 011317

3.1.3 Plyny

- Dusík 4.7
- Helium 6.0

3.1.4 Přístroje

- Analytické váhy (Kern 770)
- Multiwave 3000, Microwave reaction system (Anton Paar)
- Rotační vakuová odparka Rotavapor, R-205 (Büchi)
- Regulátor vakua, V-800 (Büchi)
- Plynový chromatograf: SCION 436-GC (Bruker)
- Hmotnostní spektrometr: EVOQ TQ (Bruker)

3.1.5 Software

- TASQ-TQ Batch Processing
- TASQ Client
- MSWS (Bruker)

3.1.6 Charakterizace biouhlu

Biouhel byl dodán z Mendlovy Univerzity. Je vyroben pyrolýzou zemědělských odpadů při teplotě přibližně 600 °C. [40]

Tabulka 2: Charakterizace použitého biouhlu [40]

sušina [%]	67-75
plocha povrchu [m ² ·g ⁻¹]	289
obsah popela při spalovací teplotě 550 °C [%]	11,7
TC [g·kg ⁻¹]	866
TOC [g·kg ⁻¹]	74
Celkový dusík [g·kg ⁻¹]	13,2
Celkový fosfor [g·kg ⁻¹]	6,2
Síra [g·kg ⁻¹]	neměřitelné
Vápník [g·kg ⁻¹]	8,1
Hořčík [g·kg ⁻¹]	6,7
Draslík [g·kg ⁻¹]	24,4

3.1.7 Charakterizace půdy

Půda byla odebrána v kraji Vysočina v městě Jemnice a v hloubce 0–25 cm. Odběr a charakterizace půdy byla provedena Ing. Janem Fučíkem.

Tabulka 3: Charakterizace půdního typu

Půdní druh	FLUVISOL
Půdní typ	Hlína
Písek [%]	52,1
Prach [%]	32,7
Jíl [%]	15,3

Tabulka 4: Charakterizace půdy získaná z vodného výluhu

pH [-] v pufru	6,47
EC [mS·cm ⁻¹]	0,29
Organická hmota [%]	5,12
Organický uhlík [%]	2,98
MWHC [%]	44,00
Celkový dusík [%]	0,13
Celkový fosfor [mg·kg ⁻¹]	46,69
Ca [mg·kg ⁻¹]	388,24
K [mg·kg ⁻¹]	135,83
Mg [mg·kg ⁻¹]	57,13
Na [mg·kg ⁻¹]	44,96
NH ⁴⁺ [mg·kg ⁻¹]	6,77
NO ³⁻ [mg·kg ⁻¹]	188,95
PO ₄ ³⁻ [mg·kg ⁻¹]	194,21

Tabulka 5: Charakterizace půdy získaná z kyselinového výluhu

Celkový fosfor [mg·kg ⁻¹]	2822,4
Ca [mg·kg ⁻¹]	388,2
K [mg·kg ⁻¹]	1594,2
Mg [mg·kg ⁻¹]	7158,1
Na [mg·kg ⁻¹]	87,1
NH ⁴⁺ [mg·kg ⁻¹]	89,6
PO ₄ ³⁻ [mg·kg ⁻¹]	1972,8

3.2 Průběh pokusu

Vzorky byly odebrány ze dvou pokusů v prvním pokusu se na hlíně s rozdílným podílem biouhlu pěstoval salát po dobu 28 dnů. Před pokusem byla půda vysušena a následně zavlažena na 40 % MWHC (maximální kapilární vodní kapacita) půdy. MWHC půdy bylo před pokusem stanoveno na 44 %. Do každé nádoby bylo naváženo 500 g suché půdy či směsi půdy s biouhlem. Na začátku bylo do jedné nádoby nasázeno 5 salátů, po dvou týdnech byl v nádobě ponechán pouze salát jeden. Saláty byly pěstovány v growboxy za stabilní teploty 21±1 °C, a vlhkosti 45 %. Světelný cyklus byl nastaven na 16 hodin světla a 8 hodin tmy. Nádoby se salátem každé tři dny měnily pozice. Každý den byly saláty zalévány 25 ml kohoutkové vody. Na začátku bylo do jedné nádoby nasázeno 5 salátů, po dvou týdnech byl v nádobě ponechán pouze jeden salát.

V druhém pokusu byly v hlíně s biouhlem chovány žížaly po dobu 21 dnů. Použité vzorky byly z pokusů, které prováděl Ing. Jan Fučík.

3.3 Optimalizace metody

Na začátku práce byla provedena optimalizace extrakce PAHs z půdy a biouhlu.

3.3.1 Ultrazvuková extrakce

Do plastové uzavíratelné centrifugační zkumavky byly na analytických vahách naváženy tři gramy biouhlu. Poté byl vzorek zalit 30 ml směsí acetonu a hexanu v poměru 1:1. Zkumavky byly přemístěny do ultrazvukové lázně, kde probíhala extrakce po dobu 30 minut. Vzorky byly přemístěny do centrifugy, aby se zajistilo usazení biouhlu.

Po usazení biouhlu se kapalná fáze přelila do baňky s plochým dnem na 50 ml.

3.3.2 Mikrovlnná extrakce

Při mikrovlnné extrakci byl použit přístroj na mikrovlnný rozklad. Při optimalizaci se testovaly rozdíly mezi jednonásobnou extrakcí a extrakcí dvojnásobnou. Taktéž se testovaly různá rozpouštědla v rozdílném poměru.

3.3.2.1 Jednonásobná extrakce

Na analytických vahách byly naváženy 2 gramy půdy. Navážka byla kvantitativně převedena do teflonové patrony. Do patrony bylo za pomoci Hamiltonovy stříkačky převedeno 10 µl interního standardu a 50 µl běžného standardu. Poté bylo do patrony umístěno magnetické míchadélko a 30 ml směsí hexanu a acetonu v poměru 1:1. Teflonová patrona byla uzavřena těsnícím teflonovým víčkem a byla zašroubována do ochranného obalu. Patrona pak byla vložena do rotoru. Rotor s čtyřmi patronami, kde tři patrony obsahovaly vzorek a jedna pouze

rozpouštědlo se senzorem na měření tlaku a teploty, byl uzavřen víkem a umístěn do přístroje na mikrovlnný rozklad.

V přístroji byly analyty zahřívány na teplotu 110 °C, při této teplotě byly zadrženy po dobu 20 minut. Poté nastalo chlazení do 40 °C. Po dosažení této teploty byly vzorky vytaženy z přístroje. Teflonové patrony byly otevřeny a z teflonového víčka byla za pomoci stříčky s acetonem smyta zachycená část vzorku zpět do patrony. Kapalný vzorek byl z patrony přelit do baňky s plochým dnem.

3.3.2.2 Dvojnásobná extrakce

Při dvounásobné extrakci se postupovalo obdobně jako při extrakci jednonásobné. Rozdíl nastal až na konci. Po přelití kapalného vzorku do baňky byla do teflonové patrony nalita směs rozpouštědel. Patrona se vzorkem byla poté znovu umístěna do přístroje na mikrovlnný rozklad a byl proveden stejný typ extrakce jako při první extrakci. Poté byl kapalný vzorek přelit do stejné baňky.

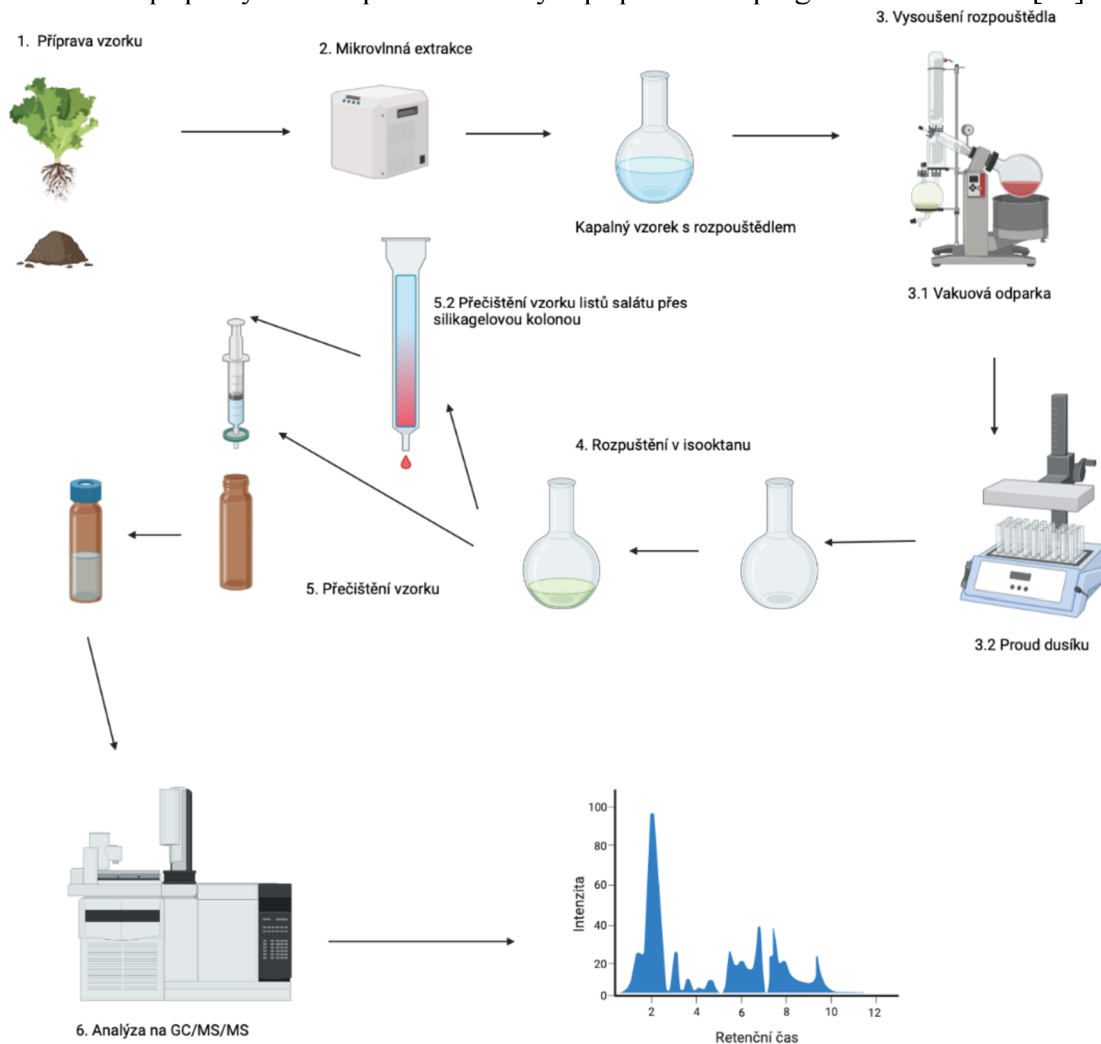
3.3.2.3 Rozdíly v použitých rozpouštědlech a jejich poměrech

Jelikož je do přístroje na mikrovlnný rozklad nutno použít směs, která obsahuje minimálně 25 % polárního rozpouštědla. Byl v každé směsi pro tento účel použit aceton.

Při optimalizaci směsi rozpouštědel byla použita vždy jednonásobná i dvounásobná extrakce pro každou směs rozpouštědel. První směs rozpouštědel byl aceton s hexanem v poměru 1:1. Druhá směs byl taktéž aceton s hexanem v poměru 7:3. Další směs byla s acetonem, hexanem a dichlormethanem v poměru 7:1:2. Poslední směs, která byla použita byla s acetonem, hexanem a dichlormethanem v poměru 5:2:3

3.4 Příprava vzorků pro GC/MS

Schéma přípravy vzorku pro GC/MS byla připravena v programu BioRender [41].



Obrázek 10: Schéma přípravy vzorků

Ze vzorků byla odstraněna voda. U hlíny a biouhlu byly vzorky ponechány při laboratorní teplotě, dokud se voda neodpařila. U listů a kořenů salátu byla pro odstranění vody použita lyofilizace.

Při analýze směsi biouhlu a půdy se napřed odebralo část vzorku směsi a poté byl ze směsi vybrán biouhel za pomoci pinzety.

3.4.1 Extrakce

Na analytických vahách byl do teflonových patron navážen vzorek. Množství daného vzorku je znázorněno v Tabulka 6. Do každé patrony bylo napipetováno 10 μ l interního standardu, taktéž do nich bylo vloženo magnetické míchadélko. Do patrony bylo poté nalito 30 ml směsi acetonu a hexanu v poměru 1:1. Patrona byla uzavřena teflonovým víčkem a poté byla vložena do ochranného obalu a umístěna do rotoru. Rotor byl uzavřen víkem a vložen do přístroje na mikrovlnný rozklad. V přístroji byly analyty zahřívány na teplotu 110 $^{\circ}$ C, při této teplotě byly zadrženy po dobu 20 minut. Poté nastalo chlazení do 40 $^{\circ}$ C. Po dosažení této teploty byly vzorky vytaženy z přístroje. V rotoru se při každé extrakci nacházely čtyři patrony, z toho tři byly se vzorkem v poslední patroně bylo pouze rozpouštědlo a senzor na měření tlaku a teploty.

Tabulka 6: Navážky dle typu vzorku

Typ vzorku	navážka [g]
půda	2
směs půdy s biouhlem	1
biouhel	0,5
listy salátu	0,5
kořeny salátu	0,5

3.4.2 Odpaření rozpouštědla

Z teflonové patrony byl po extrakci v přístroji na mikrovlnný rozklad kapalný vzorek převeden do baňky s plochým dnem na 50 ml. Při použití ultrazvuku byl vzorek nejprve přemístěn do centrifugy a až poté byl převeden do baňky s plochým dnem na 50 ml.

Kapalný vzorek byl odpařen na rotační vakuové odparce, tak aby na dně baňky zbývala stále část vzorku. Zbýlá část byla dosušena pod dusíkem. Do vysušeného vzorku byl pomocí Hamiltonovy stříkačky přidán 1 ml isooktanu. V isooktanu byl vzorek ponechán po dobu minimálně 5 minut.

3.4.3 Přečištění vzorku

Po rozpuštění vzorku v isooktanu byl vzorek za pomoci Pasteurovy pipety přenesen do plastové stříkačky opatřené teflonovým filtrem s velikostí pórů 0,22 μm . Přes tento filtr byl vzorek přefiltrován do vialky, která byla uzavřena víčkem se septem.

3.4.3.1 Využití silikagelu

Pro přečištění vzorku listů salátu byla použita kolonová chromatografie se silikagelovou náplní.

Kolona byla připravena do skleněné chromatografické kolony. Na dno kolony byla umístěna vata vyčištěná v acetonu, poté byla přidána lžička písku. Na tyto dvě vrstvy byla nalita směs 3 g silikagelu rozmíchaného v 25 ml hexanu. Hexan byl poté z kolony odpuštěn tak, aby jeho hladina byla ve stejné výšce jako byla výška usazeného silikagelu.

Po vysušení vzorku pod proudem dusíku, byl vzorek rozpuštěn v 1 ml hexanu a kvantitativně převeden na počátek silikagelové kolony. Na silikagelovou kolonu bylo poté nalito 10 ml hexanu. Ten se jako odpad odpustil. Poté bylo na kolonu nalito 15 ml směsi hexanu a dichlormethanu v poměru 1:1. Tato směs se pak odpouštěla do připravené velké vialky. Vzorek ve vialce byl po ukončení chromatografie vysušen pod proudem dusíku do sucha a byl rozpuštěn v 1 ml isooktanu. Následně byl vzorek přečištěn přes teflonový filtr.

3.4.4 Kalibrační řada

Do vialek byla připravena kalibrační řada. Příprava probíhala ředěním standartu isooktanem a celkem bylo připraveno 9 bodů kalibrační řady jednotlivé koncentrace lze vyčíst z Tabulka 7. Poté bylo do každé vialky napipetováno tolik interního standartu, aby byla jeho výsledná koncentrace 100 ng/ml.

Tabulka 7: Koncentrace kalibrační řady

Číslo	Koncentrace [ng/ml]
1	1
2	10
3	50
4	100
5	250
6	500
7	750
8	1000
9	2000

3.4.5 Plynový chromatograf s hmotnostní spektrometrií

Plynový chromatograf EVOQ GC/TQ (Bruker) obsahoval křemennou kapilární kolonu speciálně navrženou pro analýzu PAHs, jednalo se přesně o Rxi-PAH (30 m×0,25 mm ID; 0,1 µm). Vzorčky byly dávkovány za pomoci autosampleru a jako nosný plyn bylo použito helium. Jednotlivé data analýzy obsahuje Tabulka 8. Teplotní program nastavený pro termostat, který plynový chromatograf obsahoval je v Tabulka 9. Plynový chromatograf je tandemově spojený s hmotnostním spektrometrem, který využívá elektronovou ionizaci a dva po sobě následující kvadrupóly.

Tabulka 8: Data k analýze na GC/MS/MS

Průtok nosného plynu [ml/min]	1,2
Objem nástřiku [µl]	1
Teplota injektoru [°C]	270
Teplota transfer line [°C]	270
Doba analýzy [min]	30,33

Tabulka 9: Teplotní program

Teplota [°C]	Rychlost ohřívání [°C/min]	Konstantní teplota [min]
80		1
250	15	7
340	10	2

3.4.5.1 Metoda pro stanovení PAHs

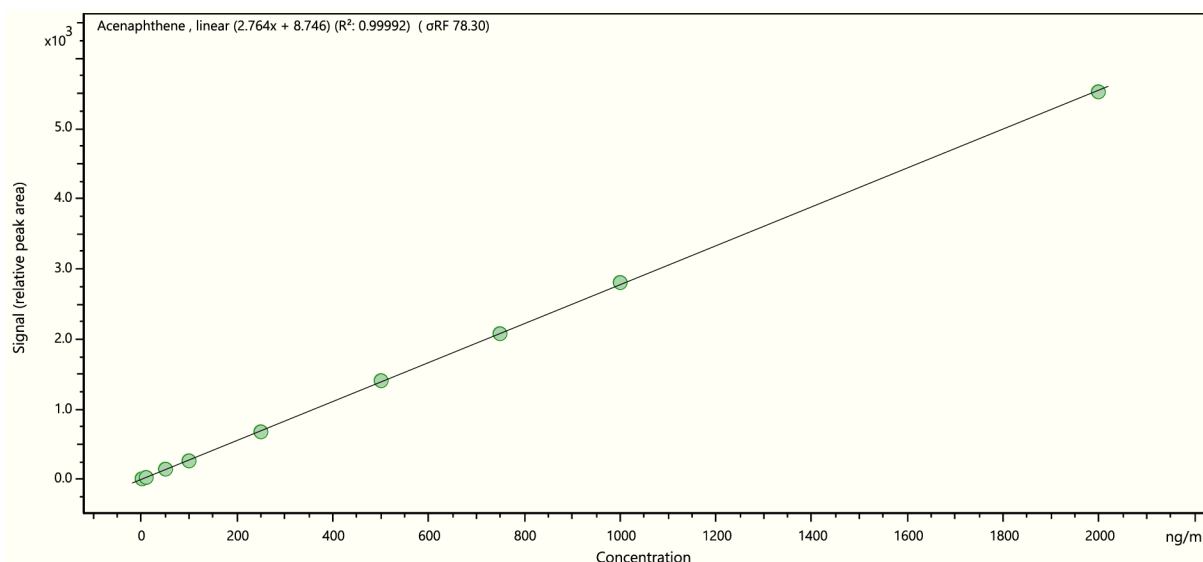
Pro stanovení PAHs ve vzorku byla použita metoda z diplomové práce Davida Bočána [42]. Pro každou látku byl stanoven retenční čas, prekurzor, produkt a energie přechodů. Hodnoty pro jednotlivé látky jsou znázorněny v Tabulka 10.

Tabulka 10: Kvantifikační přechody a retenční časy pro jednotlivé analyty

Název analytu	Kvantifikační přechod			retenční čas [min]
	Prekurzor [m/z]	Produkt [m/z]	CE [V]	
Acenaften	154	153	20	7,62
Acenaften-D10	164	160	40	7,56
Acenaftylen	152	151	30	7,40
Anthracen	178	152	25	10,34
Benzo(a)anthracen	228	226	40	16,17
Benzo(a)pyren	252	250	40	23,39
Benzo(b)fluoranthen	252	250	40	22,01
Benzo(ghi)perylene	276	274	55	27,21
Benzo(k)fluoranthen	252	250	40	22,01
Chrysen	228	226	40	16,48
Chrysen-D12	240	240	10	16,48
Dibenz(ah)anthracen	278	276	40	26,58
Fluoranthen	202	200	40	12,29
Fluoren	166	165	25	8,46
Indeno(1,2,3-cd)pyren	276	274	55	26,53
Naftalen	128	102	30	4,81
Naftalen-D8	136	134	35	4,76
Perylene-D12	264	264	10	23,67
Fenanthren	178	152	25	10,34
Fenanthren-D10	188	184	30	10,19
Pyren	202	200	30	23,48

3.4.5.2 Kalibrace

Před každým měřením na GC/MS/MS bylo nutné nejprve změřit kalibrační řadu. Následně byla v programu TASQ vytvořena kalibrační závislost plochy píku standardu a interního standardu na koncentraci. Příklad kalibrační závislosti vytvořené daným programem je na Obrázek 11. Kalibrační závislost byla u všech analytů lineární. Rovnice přímek a jejich hodnoty spolehlivost pro jednotlivé analyty byly vyneseny do tabulky (viz Tabulka 11).



Obrázek 11: Kalibrační závislost pro Acenaften

Název analytu	Rovnice přímky	Hodnota spolehlivosti
Acenaften	$y = 2,7504x + 8,2341$	0,9999
Acenaftylen	$y = 1,0550x + 2,8203$	0,9993
Anthracen	$y = 1,5949x + 11,068$	0,9991
Benzo(a)anthracen	$y = 0,1892x + 1,0239$	0,9991
Benzo(a)pyren	$y = 0,2829x - 2,4833$	0,9926
Benzo(b)fluoranthen	$y = 0,3470x + 1,1321$	0,9897
Benzo(ghi)perylen	$y = 0,3669x - 16,520$	0,9947
Benzo(k)fluoranthen	$y = 0,6404x + 1,1906$	0,9966
Chrysen	$y = 0,2300x + 1,0710$	0,9965
Dibenz(ah)anthracen	$y = 0,2335x - 10,525$	0,9813
Fluoranthen	$y = 0,2142x + 1,7363$	0,9994
Fluoren	$y = 3,7240x + 16,836$	0,9991
Indeno(1,2,3-cd)pyren	$y = 0,1594x - 0,1558$	0,9793
Naftalen	$y = 2,0295x + 5,9660$	0,9989
Fenanthren	$y = 1,8415x + 11,896$	0,9999
Pyren	$y = 0,7764x + 5,0994$	0,9998

Tabulka 11: Data kalibračních závislostí

3.4.5.3 Vyhodnocování v programu TASQ

Pro program TASQ byla vytvořena metoda pro vyhodnocení jednotlivých PAHs. Ke každému analytu byl přiřazen jeden deuterovaný PAH ze sady interního standardu. Díky poměru známé koncentrace interního standardu před extrakcí a koncentrace po vyhodnocení GC/MS/MS, byl program schopný vyhodnotit skutečnou koncentraci jednotlivých analytů. Jelikož byl použit inertní standard pouze s pěti PAHs, byly k jednotlivým analytům přiřazeny deuterované PAHs dle jejich strukturní podobnosti. Jednotlivé analyty s jejich interním standardem jsou znázorněny v Tabulka 12.

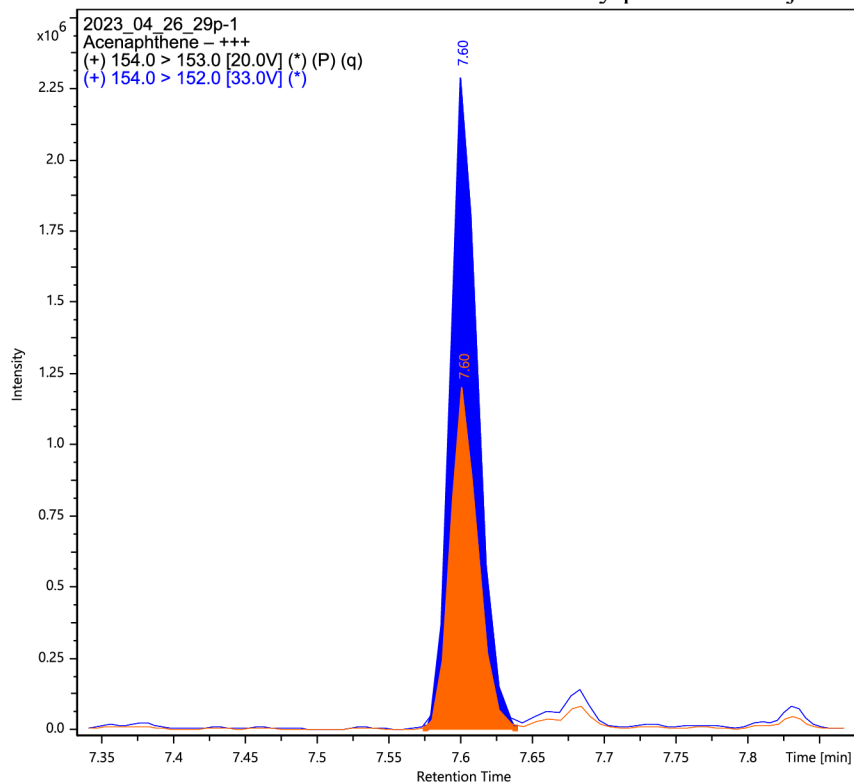
Program TASQ je schopen integrovat většinu píků bez problému (viz. Obrázek 12), ale u analytů, kde není separace úplná až na nulovou linii, jedná se například o benzo(b)fluoranthen

a benzo(k)fluoranthen, často dochází k chybě. Proto je nutné všechny píky překontrolovat a v případě chyby provést integraci ručně.

Tabulka 12: Analyty a jejich interní standardy

Název analytu	Interní standard
Acenaften	Acenaften-d10
Acenaftylen	Acenaften-d10
Anthracen	Fenanthren-d10
Benzo(a)anthracen	Chrysen-d12
Benzo(a)pyren	Perylen-d12
Benzo(b)fluoranthen	Perylen-d12
Benzo(ghi)perylene	Perylen-d12
Benzo(k)fluoranthen	Perylen-d12
Chrysen	Chrysen-d12
Dibenz(ah)anthracen	Perylen-d12
Fluoranthen	Chrysen-d12
Fuoren	Fenanthren-d10
Indeno(1,2,3-cd)pyren	Perylen-d12
Naftalen	Nafthalen-D8
Fenanthren	Fenanthren-d10
Pyren	Perylen-d12

U jednotlivých analytů byl vždy sledován kvantifikační a kvalifikační iont. Na Obrázek 12, kde se jedná o pík acenaftenu, jsou vidět dva překrývající se píky. Větší modrý pík představuje odezvu kvantifikačního iontu a menší oranžový pík znázorňuje iont kvalifikační.



Obrázek 12: Integrovaný pík Acenaftenu

4 VÝSLEDKY A DISKUSE

4.1 Stanovení LOD a LOQ

Před zpracováním výsledků je nutno stanovit mez detekce (limit of detection, LOD) a mez kvantifikace (limit of quantification, LOQ) pro jednotlivé analyty. LOD odpovídá koncentraci, pro kterou je signál statisticky významně odlišný od šumu. LOQ je koncentraci, kterou lze s jistotou změřit pomocí přístroje za daných podmínek. LOQ a LOD byly stanoveny dle technické normy DIN 32645. Hodnoty LOD a LOQ jsou znázorněny v Tabulka 13.

Tabulka 13: Hodnoty LOQ a LOD pro jednotlivé analyty

Název analytu	LOD [ng/ml]	LOQ [ng/ml]
Acenaften	1,0	1,5
Acenaftylen	0,6	0,9
Anthracen	1,2	1,7
Benzo(a)anthracen	1,0	1,5
Benzo(a)pyren	1,1	1,7
Benzo(b)fluoranthen	1,5	2,3
Benzo(ghi)perylene	1,0	1,5
Benzo(k)fluoranthen	1,5	2,3
Chrysen	1,2	1,8
Dibenz(ah)anthracen	0,8	1,2
Fluoranthen	1,4	2,0
Fluoren	2,0	3,0
Indeno(1,2,3-cd)pyren	1,2	1,8
Naftalen	4,5	6,8
Fenanthren	2,2	3,3
Pyren	2,3	3,5

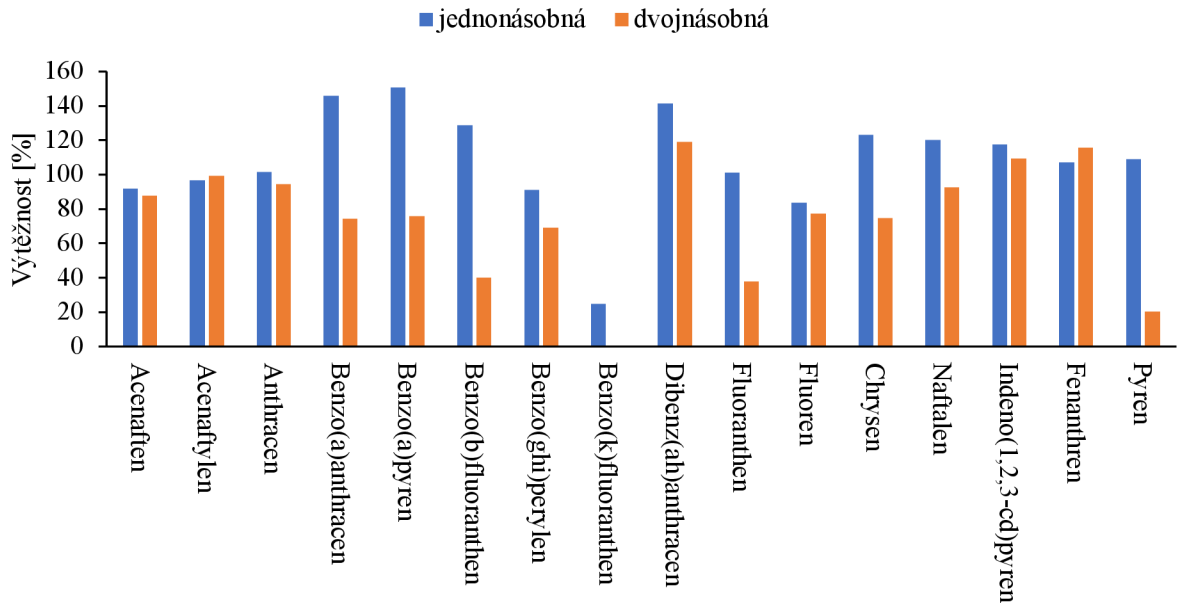
4.2 Optimalizace metody extrakce

Při optimalizaci metody byly vyzkoušeny dvě metody extrakce biouhlu. První metodou byla extrakce v ultrazvuku a druhou metodou mikrovlnná extrakce. Výhodou ultrazvukové extrakce, byla možnost vyšší navážky biouhly. Při mikrovlnné extrakci se při vyšší navážce než 0,5 g vzorek nerovnoměrně prohříval mikrovlnami, a tak docházelo k nečekaným zvýšením tlaku během extrakce. Výtěžnost obou typů extrakcí se velmi lišila v závislosti na jednotlivých PAHs.

Nakonec byla vybrána metoda mikrovlnné extrakce, protože měla lépe kontrolovatelné podmínky a výtěžnost jednotlivých PAHs byla dostatečná.

4.2.1 Opakovaná extrakce

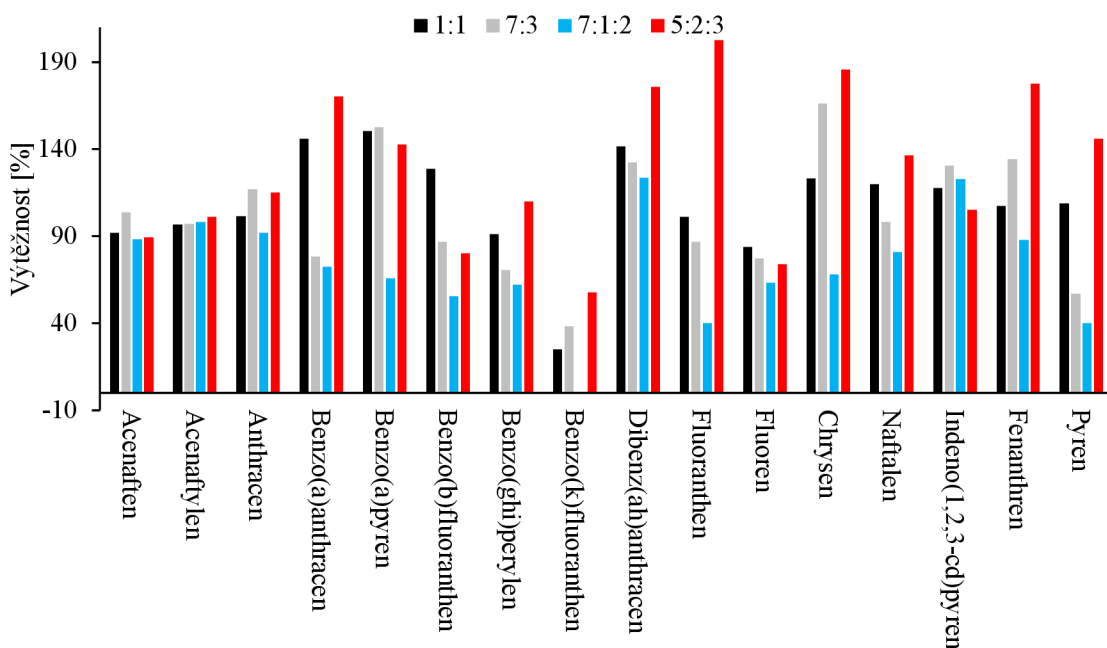
Byly srovnány výtěžnosti jednonásobné a dvojnásobné extrakce pro všechny typy směsí rozpouštědel. Po porovnání se výtěžnosti některých PAHs tak nelišili. Dokonce výtěžnost jednonásobné extrakce byla u některých analytů vyšší. Proto se pro analýzu vzorků pro lepší výtěžnost a menší časovou náročnost vybrala jednonásobná extrakce. Na Obrázek 13 je graf porovnání výtěžnosti jednonásobné a dvojnásobné extrakce pro směs acetonu a hexanu v poměru 1:1.



Obrázek 13: Graf rozdílu mezi jednonásobnou a dvojnásobnou extrakcí

4.2.2 Výběr rozpouštědla

Při porovnávání směsí rozpouštědel byla sledována výtěžnost extrakce, samotný průběh mikrovlnné extrakce a v neposlední řadě byl brán ohled na toxicitu použitých rozpouštědel. Na Obrázek 13 je graf výtěžností vzorku půdy pro jednotlivé směsi, kde první číslo představuje aceton druhé hexan a třetí dichlormethan. Z grafu je patrné, že nejlepší výtěžnosti měl aceton s hexanem v poměru 1:1 a aceton s hexanem a dichlormethanem v poměru 5:2:3. Při mikrovlnné extrakci však u vzorků biouhlu docházelo ve směsích s dichlormethanem k nečekaným zvýšením tlaku a nevratným poškozením extrakčních patron. Pro extrakci vzorků byla tedy vybrána směs acetonu s hexanem v poměru 1:1, díky lepšímu průběhu mikrovlnné extrakce a také menší ekotoxicitě v porovnání se směsí s chlorovaným rozpouštědlem.



Obrázek 14: Graf výtěžnosti pro jednotlivé směsi rozpouštědel

4.2.3 Označení vzorků

Při analýze bylo analyzováno velké množství reálných vzorků, proto byla sestrojena tabulka pro lepší orientaci (viz. Tabulka 14).

Tabulka 14: Seznam reálných vzorků

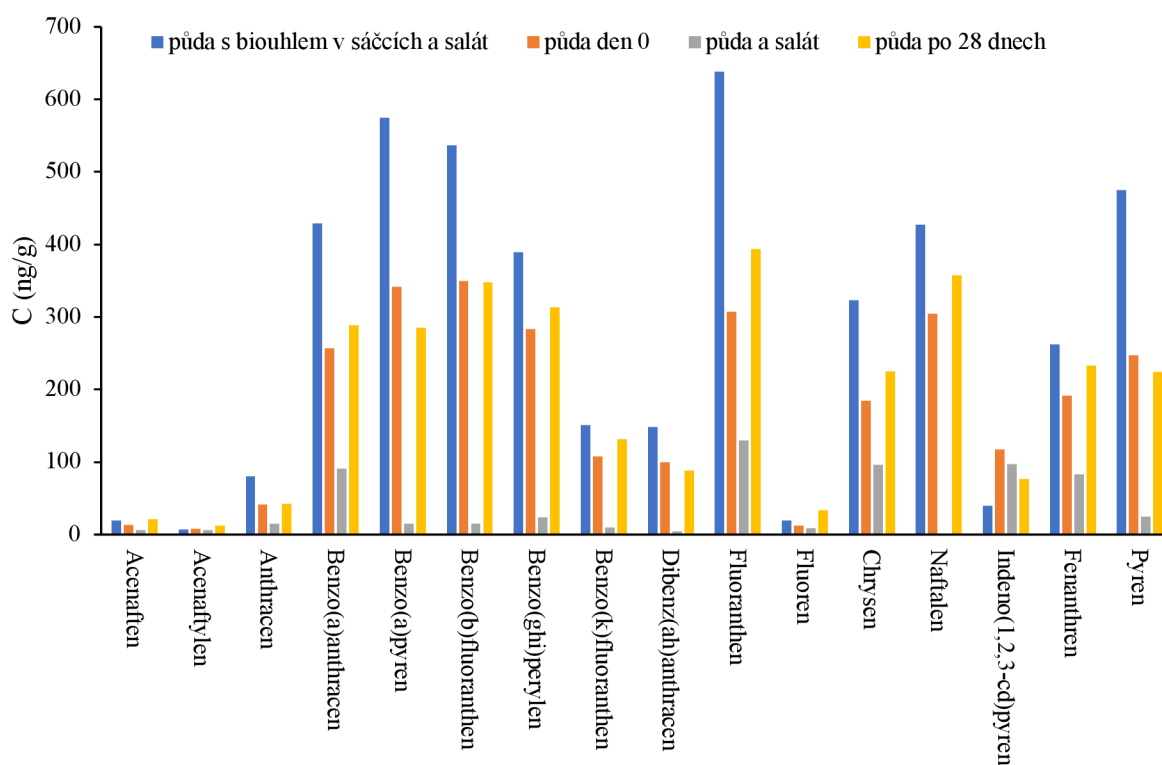
půda	
<i>typ vzorku</i>	<i>označení</i>
půda, která prošla 28denním experimentem	půda po 28 dnech
půda se sáčky biouhlu, na které rostl salát	půda s biouhlem v sáčcích a salát
půda odebraná před začátkem experimentu	půda den 0
půda na které rostl po 28 dní salát	půda a salát
2% směs půdy s biouhlem	
<i>typ vzorku</i>	<i>označení</i>
směs odebraná před začátkem experimentu	směs den 0
směs která prošla 28denním experimentem	směs
směs na které byl pěstován salát po 28 dnů	směs a salát
Biouhel	
<i>typ vzorku</i>	<i>označení</i>
biouhel odebraný před začátkem experimentu	biouhel den 0
biouhel vybraný z 2 % směsi, která prošla 28denním experimentem	biouhel (ze směsi 2 %)
biouhel vybraný z 1 % směsi, která prošla 28denním experimentem	biouhel (ze směsi 1 %)
biouhel odebraný ze sáčků, které prošly v půdě 28denním experimentem	biouhel (sáčky)
Salát (kořeny i listy)	
<i>typ vzorku</i>	<i>označení</i>
salát pěstovaný po dobu 28 dnů na půdě	půda
salát pěstovaný po dobu 28 dnů na 2 % směsi	2 % směs půdy s biouhlem
salát pěstovaný po dobu 28 dnů na půdě se sáčky s biouhlem	půda + biouhel v sáčcích
Substráty se žížalami	
<i>typ vzorku</i>	<i>označení</i>
půda ve které byly po 21 dnů chovány žížaly	půda se žížalami
2 % směs půdy s biouhlem, která prošla 21denním experimentem	2 % směs půdy s biouhlem

4.2.4 Analýza PAHs ve vzorcích půdy, směsi půdy a biouhlu a biouhlu

Koncentrace PAHs byly analyzovány u třech typů vzorků: čistá půda, na které byl v boxu pěstován salát (v grafu: půda a salát); půda, na které rostl salát a biouhel plněný v čajových papírových sáčcích (1 %) (v grafu: půda s biouhlem v pytlíkách a salát); čistá půda bez pěstování salátu, ale která prošla stejným světelným procesem a zaléváním jako půdy se salátem (v grafu půda po 28 dnech). Dále byla zjišťována koncentrace u původní půdy, která byla odebrána na začátku pokusu před navážením půdy do misek, tato půda je dále označena jako půda den 0.

Byly analyzovány koncentrace PAHs i ve vzorcích biouhlu, a to jak ve vzorku původním, tak po pěstebním cyklu se salátem.

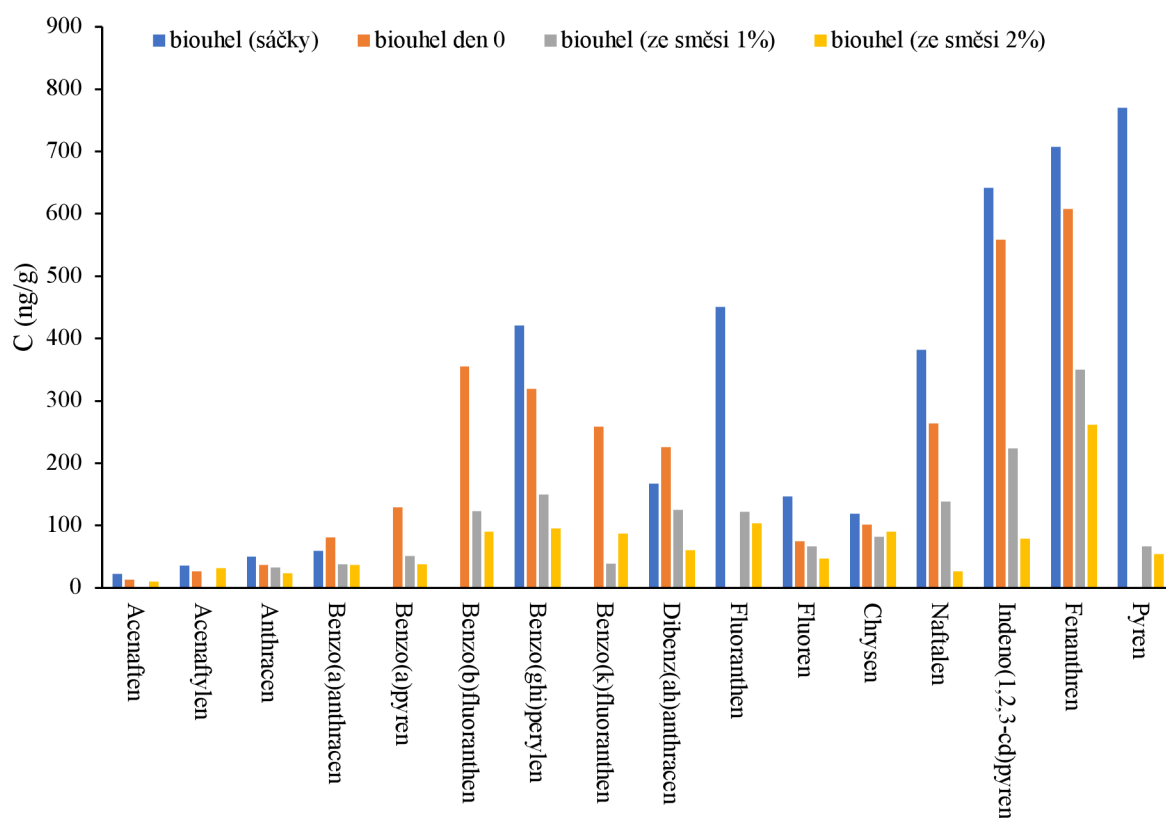
U půdy s biouhlem a salátem bylo pozorováno u řady PAHs zvýšení jejich koncentrace oproti půdě ze dne 0. Naopak byl zaznamenán velký pokles PAHs v půdě, na které byl pěstovaný salát. U půdy, která byla zalévána a jinak nebyla upravena, nebyly pozorovány zásadní rozdíly.



Obrázek 15: Graf koncentrací jednotlivých PAHs v půdě

Při analýze biouhlu byly analyzovány vzorky, které byly odebrány před začátkem experimentu, v grafu jsou označeny jako den 0. Dále byly analyzovány vzorky z čajových sáčků naplněných biouhlem, které byly umístěny v půdě, na které rostl salát. Další vzorek byl biouhel, který byl vybrán z 2 % směsi půdy s biouhlem, na které rostl salát. Poslední vzorek byl vybrán biouhel z 1 % směsi půdy s biouhlem.

Z Obrázek 16 je patrné, že koncentrace se u jednotlivých biouhlů měnila v závislosti na jednotlivých PAHs. Výsledky však nejsou tak průkazné, protože při měření byly zaznamenány rozdíly v koncentracích u stejných vzorků, které se lišili velikostí částic biouhlu. Je to dáno heterogenním charakterem tohoto materiálu. Nicméně před aplikací do půdy jsme se rozhodli vzorek biouhlu nijak neupravovat, protože takto by byl dávkován i v reálném systému. Byly zaznamenány vyšší koncentrace PAHs u vzorků s menšími částicemi než u vzorků s částicemi většími.

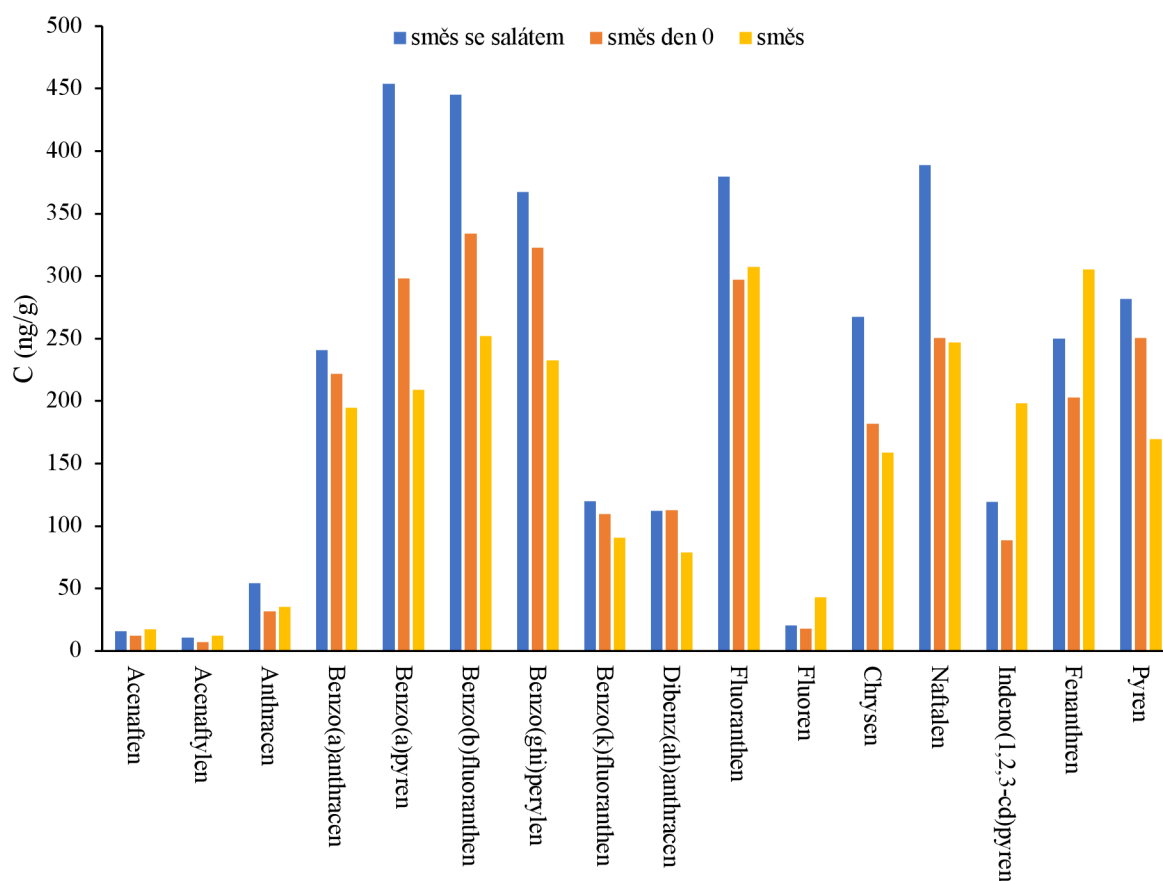


Obrázek 16: Graf jednotlivých koncentrací PAHs v biouhlu

Při experimentech, kdy byl biouhel rovnoměrně rozmíchán se vzorkem půdy, bylo přistoupeno k celkové analýze této směsi. Byly použity vzorky 2 % směsi půdy s biouhlem, kde na první směsi se pěstoval salát (v grafu: směs se salátem), druhá směs prošla stejným procesem jako při pěstování salátu, ale salát na ní nerostl (v grafu: směs), a třetí směs byla odebrána před započítáním pokusu (v grafu: směs den 0).

Dle grafu (viz. Obrázek 17) jsou nevyšší koncentrace PAHs ve směsi na které byl pěstován salát. Tento fakt by mohl být vysvětlen přítomností kořenových exudátů, které ovlivňují dostupnost PAHs v půdě. V půdě se pak nacházelo větší množství PAHs a metoda extrakce vykazovala lepší extrahovatelnost PAHs z půdy než z biouhlu, proto by mohla být koncentrace PAHs ve směsi se salátem vyšší než v počáteční směsi.

Směsi před a po proběhnutém pokusu vykazují změny koncentrací PAHs. Při pokusu došlo ke snížení koncentrací velké části PAHs. V zobrazeném grafu (viz. Obrázek 17) lze tuto skutečnost vidět na nižších koncentracích PAHs u směs oproti směs den 0. Mohlo by se jednat o sorpci PAHs na biouhel, ale tato spekulace není prokazatelná.

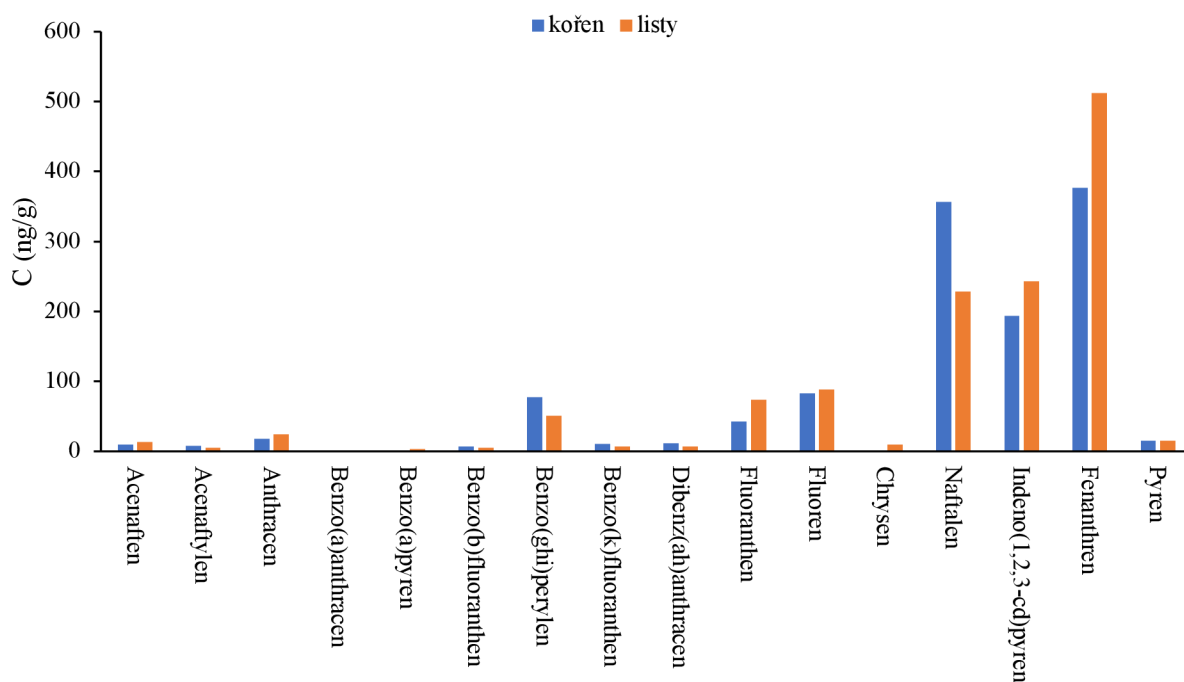


Obrázek 17: Graf koncentrací jednotlivých PAHs ve 2 % směsi půdy s biouhlem

4.2.5 Salát

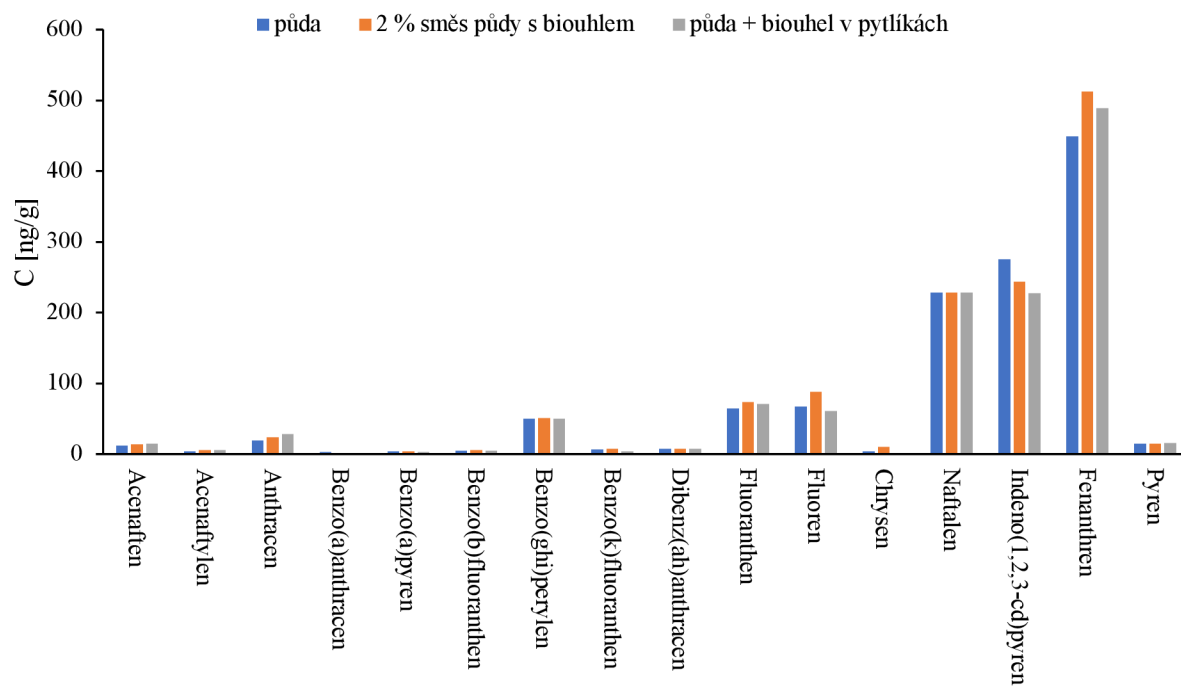
U salátu byly analyzovány vzorky listů a kořenů. První vzorek představoval salát pěstovaný na půdě. U druhého vzorku byl salát pěstován na 2% směsi půdy s biouhlem. U posledního vzorku byl salát pěstován na půdě s čajovými pytlíky s biouhlem.

Z grafu (viz. Obrázek 18) je patrné, že koncentrace PAHs v listech a salátech se liší. Nelze konstatovat, že v kořenech by bylo více PAHs než v listech. Měřením se zjistilo, že saláty obsahovaly více PAHs s nižší molekulovou hmotností než PAHs s molekulovou hmotností vyšší. Výjimkou byl indeno(1,2,3-cd)pyren.



Obrázek 18: Graf koncentrací PAHs v kořenech a listech u salátu pěstovaném na 2 % směsi půdy s biouhlem

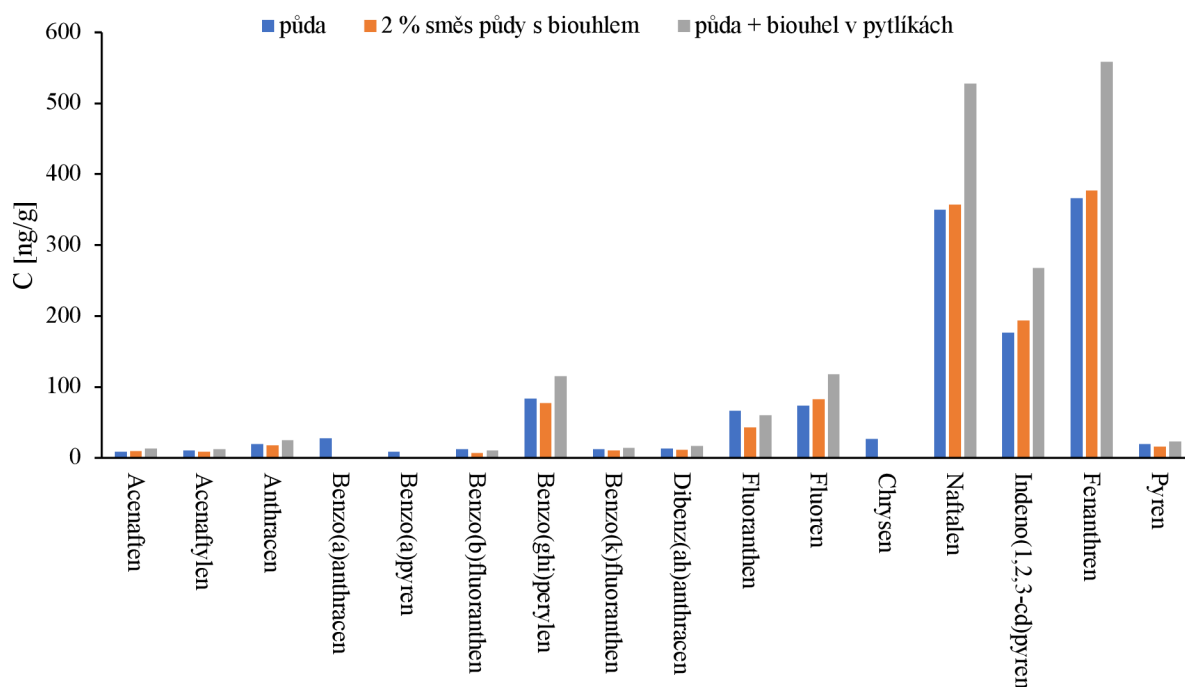
Při porovnání vzorků listů salátů mezi sebou (viz. Obrázek 19) nejsou patrné zásadní rozdíly mezi saláty pěstovanými na půdě s biouhlem nebo na půdě bez biouhlu.



Obrázek 19: Koncentrace PAHs v listech salátů pěstovaných na různých substrátech

Při porovnání vzorků kořenů salátů je patrná zvýšená koncentrace u salátů pěstovaných na půdě s čajovými pytlíky plnými biouhlu. Tyto výsledky jsou zejména zajímavé z důvodu, že procentuální zastoupení biouhlu v daném vzorku je 1 % a ve vzorcích pěstovaných na směsi půdy s biouhlem je zastoupení biouhlu 2 %. Z měření je taktéž patrné, že došlo ke snížení koncentrace určitých PAHs při přidání biouhlu. Biouhly jsou v některých případech schopny snížit biodostupnost PAHs, tento fakt by mohl vysvětlovat snížení koncentrace u daných PAHs.

Dle studie [43], kde pěstovali salát po dobu 8 týdnů na půdě a na 2 % směsi půdy se salátem, bylo naměřeno všech 16 US EPA PAHs ve všech vzorcích. V této studii biouhel výrazně snížil bioamukulaci PAHs v salátu. Tento výsledek s našim experimentem vůbec nekoreluje. Velkým rozdílem je typ použitého biouhlu, kde ve studii byl použit biouhel vyrobený z čistírenských kalů a při jiných podmínkách pyrolýzy než biouhel použitý v tomto experimentu.



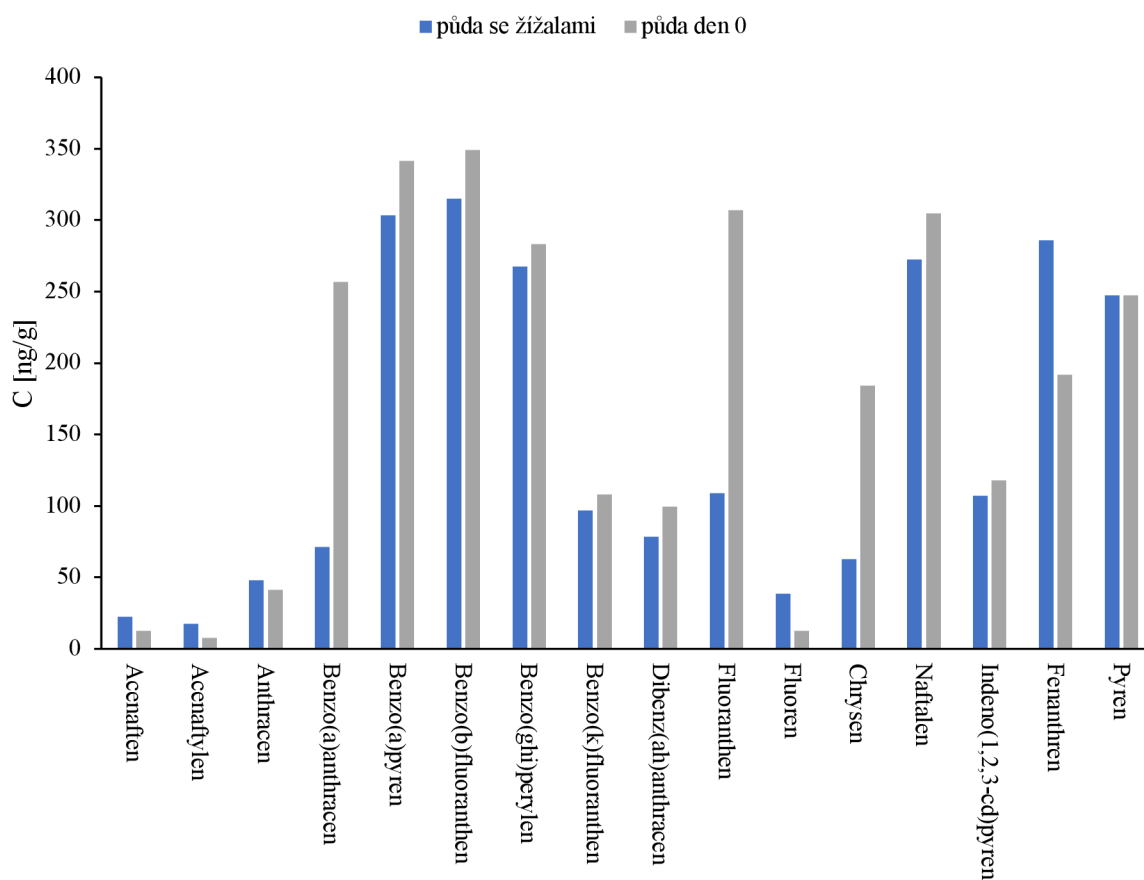
Obrázek 20: Porovnání koncentrací PAHs v kořenech salátu pěstovaných na různých substrátech

4.2.6 Žížaly, půda a biouhel

Experiment se žížalami a se saláty probíhal za jiných podmínek. Byl rozdíl v teplotě, vlhkosti, množství půdy a nádobách. Proto výsledky získané z analýzy vzorků se salátem nemohou být srovnávány s výsledky substrátu s žížalami.

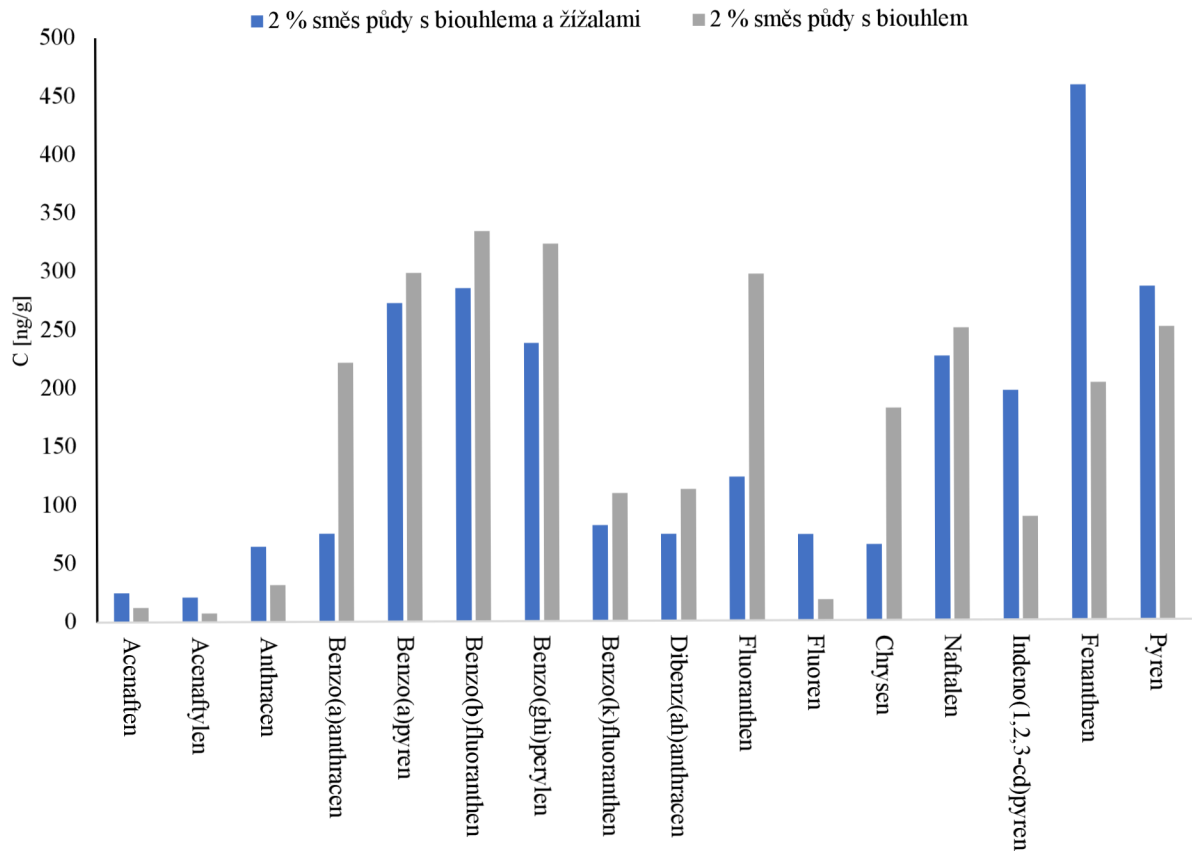
Koncentrace PAHs v půdě se žížalami byla u většiny PAHs nižší než u půdy odebrané před zahájením pokusu. Mohlo k tomu dojít z důvodu akumulace PAHs v tělech žížal.

Dle studie [44] nemělo přidání žížal do půdy na koncentraci PAHs žádný významný efekt, menší efekt se dostavil až po 56 dnech, a to hlavně v biodostupné frakci PAHs. Tyto data však vůbec nekorelují s naším experimentem. Velký rozdíl mezi studií a tímto experimentem byl nalezen v znečištění použité půdy, kde ve studii použily půdu asi 200krát znečištěnější, než byla půda použita v tomto pokusu. Proto rozdíly, které ve studii zaznamenaly nemusely být tak významné jako v tomto experimentu.



Obrázek 21: Graf koncentrací PAHs v půdě se žížalami a bez nich

Při porovnání koncentrací 2 % směsi půdy s biouhlem, ve které žily žížaly, se směsí, která byla odebrána před experimentem, lze dojít k závěru, že u velké části PAHs došlo k zmenšení jejich koncentrace. Pravděpodobně došlo k fotodegradaci PAHs.



Obrázek 22: Graf koncentrací PAHs ve 2 % směsi půdy s biouhlem

5 ZÁVĚR

V této bakalářské práci byla provedena optimalizace metody pro stanovení PAHs ve vzorcích biouhlu a půdy, případně jejich směsi. Byly provedeny reálné experimenty, kdy byl sledován vliv přidaného biouhlu na koncentraci PAHs v půdě a salátu v různých uspořádáních experimentu.

Při optimalizaci byly vyzkoušeny dva typy extrakce, mikrovlnná a ultrazvuková. Byla vybrána mikrovlnná extrakce z důvodu lepší kontrolovatelnosti procesu. Dále při mikrovlnné extrakci byla porovnána jednonásobná a dvojnásobná extrakce, kde byla pro menší časovou náročnost a podobnou výtěžnost vybrána extrakce jednonásobná. Posledním krokem optimalizace byl výběr rozpouštědel, kde byly použity směsi acetonu, hexanu a dichlormethanu v různém poměru. Pro další analýzu byla vybrána směs acetonu s hexanem v poměru 1:1.

Vybranou metodou bylo analyzováno velké množství vzorků půd, směsí půdy s biouhlem, listů a kořenů salátů.

Z měření vyplynulo, že vzorky půdy s biouhlem v čajových pytlících, na které rostl salát, vykazují nejvyšší koncentrace PAHs. Následně saláty z tohoto systému vykazovaly nejvyšší koncentrace PAHs v kořenech. Překvapivý výsledek byl u listů salátů, kde se koncentrace PAHs v salátech pěstovaných na půdě významně nelišily od salátů pěstovaných na směsi půdy s biouhlem.

U vzorků směsí půdy s biouhlem byly zjištěny vyšší koncentrace ve směsi, v níž byl pěstován salát než samotné směsi bez salátu. Ve vzorcích salátu pak byly nalezeny PAHs, které se do salátu dostaly pravděpodobně ze směsi, na které byl salát pěstován, proto by se dalo předpokládat, že koncentrace PAHs budou ve směsi se salátem nižší, než ve směsi bez salátu bylo tomu však naopak. Tento výsledek by se dal vysvětlit lepší extrahovatelností PAHs z půdy než z biouhlu. Ve směsi se salátem se díky kořenovým exudátům do půdy dostalo více PAHs, a proto se daly lépe extrahovat než PAHs v samotné směsi bez salátu.

U vzorků půd, na kterých byly chovány žížaly, se koncentrace PAHs snížily v porovnání se koncentrací PAHs v půdě na začátku experimentu. Stejný výsledek byl pozorován u směsí půdy s biouhlem.

6 ZDROJE

- [1] PETTER, Fabiano A a Beata E MADARI. Biochar: Agronomic and environmental potential in Brazilian savannah soils. *Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental* [online]. 2012, **16**(7), 761–768. ISSN 1415-4366. Dostupné z: doi:10.1590/S1415-43662012000700009
- [2] DHYANI, Vaibhav a Thallada BHASKAR. A comprehensive review on the pyrolysis of lignocellulosic biomass. *Renewable energy* [online]. 2018, **129**, 695–716. ISSN 0960-1481. Dostupné z: doi:10.1016/j.renene.2017.04.035
- [3] TAGLIAFERRO, Alberto ; Giorcelli, Mauro ; Bartoli, Mattia. *Biochar* [online]. B.m.: IntechOpen, 2023. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.100763
- [4] LEHMANN, Johannes a Stephen JOSEPH. *Biochar for Environmental Management: Science, Technology and Implementation* [online]. London: London: Taylor and Francis, 2015. Dostupné z: doi:10.4324/9780203762264
- [5] HILBER, Isabel, Philipp MAYER, Varvara GOULIARMOU, Sarah E HALE, Gerard CORNELISSEN, Hans-Peter SCHMIDT a Thomas D BUCHELI. Bioavailability and bioaccessibility of polycyclic aromatic hydrocarbons from (post-pyrolytically treated) biochars. *Chemosphere (Oxford)* [online]. 2017, **174**, 700–707. ISSN 0045-6535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2017.02.014
- [6] WANG, Jian, Kang XIA, Michael Gatheru WAIGI, Yanzheng GAO, Emmanuel Stephen ODINGA, Wanting LING a Juan LIU. Application of biochar to soils may result in plant contamination and human cancer risk due to exposure of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environment International* [online]. 2018, **121**, 169–177. ISSN 0160-4120. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.09.010
- [7] ABDEL-SHAIFY, Hussein I a Mona S M MANSOUR. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egyptian journal of petroleum* [online]. 2016, **25**(1), 107–123. ISSN 1110-0621. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejpe.2015.03.011
- [8] OCHIT, Dooshyantsingh, Anurita SELVARAJOO a Senthil Kumar ARUMUGASAMY. Pyrolysis of Biomass. In: [online]. Cham: Cham: Springer International Publishing, 2017, s. 215–229. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-49595-8_10
- [9] NOVOTNY, Etelvino Henrique, Claudia Maria BRANCO DE FREITAS MAIA, Marcia Thais DE MELO CARVALHO a Beata Emoeke MADARI. BIOCHAR: PYROGENIC CARBON FOR AGRICULTURAL USE - A CRITICAL REVIEW. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* [online]. 2015, **39**(2), 321–344. ISSN 0100-0683. Dostupné z: doi:10.1590/01000683rbc20140818
- [10] LI, Jing, Jianjun DAI, Guangqing LIU, Hedong ZHANG, Zuopeng GAO, Jie FU, Yanfeng HE a Yan HUANG. Biochar from microwave pyrolysis of biomass: A review. *Biomass & bioenergy* [online]. 2016, **94**, 228–244. ISSN 0961-9534. Dostupné z: doi:10.1016/j.biombioe.2016.09.010
- [11] SOHI, Saran, Elisa LOPEZ-CAPEL, Evelyn KRULL a Roland BOL. *Biochar, climate change and soil: A review to guide future research*. 2009.
- [12] GAŁWA-WIDERA, Monika. Biochar – Production, Properties, and Service to Environmental Protection against Toxic Metals. In: [online]. Chichester, UK: Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2021, s. 53–75. Dostupné z: doi:10.1002/9781119670391.ch3
- [13] VERHEIJEN, F.G.A., Jeffery, S., Bastos, A.C., van der Velde, M., and Diafas, I. Biochar Application to Soils - A Critical Scientific Review of Effects on Soil Properties, Processes and Functions. *EUR*. 2009, 2183–2207. ISSN 1018-5593.

- [14] *Bioenergy: carbon neutral (reduces emissions from fossil fuels)* [online]. nedatováno. Dostupné z: www.ipcc.ch/SPM2feb07.pdf
- [15] AGRAFIOTI, Evita, George BOURAS, Dimitrios KALDERIS a Evan DIAMADOPOULOS. Biochar production by sewage sludge pyrolysis. *Journal of analytical and applied pyrolysis* [online]. 2013, **101**, 72–78. ISSN 0165-2370. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaap.2013.02.010
- [16] DUTTA, Tanushree, Eilhann KWON, Satya Sundar BHATTACHARYA, Byong Hun JEON, Akash DEEP, Minori UCHIMIYA a Ki-Hyun KIM. Polycyclic aromatic hydrocarbons and volatile organic compounds in biochar and biochar-amended soil: a review. *GCB Bioenergy* [online]. 2017, **9**(6), 990–1004. ISSN 1757-1693. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1111/gcbb.12363>
- [17] ANAND, S Satheesh a Harihara M MEHENDALE. Volatile Organic Compounds (VOC). In: Philip WEXLER, ed. *Encyclopedia of Toxicology (Second Edition)* [online]. New York: Elsevier, 2005, s. 450–455. ISBN 978-0-12-369400-3. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/B0-12-369400-0/01015-2>
- [18] BUSS, Wolfram, Ondřej MAŠEK, Margaret GRAHAM a Dominik WÜST. Inherent organic compounds in biochar—Their content, composition and potential toxic effects. *Journal of environmental management* [online]. 2015, **156**, 150–157. ISSN 0301-4797. Dostupné z: doi:10.1016/j.jenvman.2015.03.035
- [19] WILSON, Susan C a Kevin C JONES. Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. *Environmental pollution (1987)* [online]. 1993, **81**(3), 229–249. ISSN 0269-7491. Dostupné z: doi:10.1016/0269-7491(93)90206-4
- [20] *United States Environmental Protection Agency (EU EPA)*. [online]. [vid. 2023-05-09]. Dostupné z: <https://www.epa.gov/>
- [21] PÉREZ-FERNÁNDEZ, Begoña, Lucía VIÑAS, M Ángeles FRANCO a Jesica BARGIELA. PAHs in the Ría de Arousa (NW Spain): A consideration of PAHs sources and abundance. *Marine pollution bulletin* [online]. 2015, **95**(1), 155–165. ISSN 0025-326X. Dostupné z: doi:10.1016/j.marpolbul.2015.04.028
- [22] MANZETTI, Sergio. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Environment: Environmental Fate and Transformation. *Polycyclic aromatic compounds* [online]. 2013, **33**(4), 311–330. ISSN 1040-6638. Dostupné z: doi:10.1080/10406638.2013.781042
- [23] BOJES, Heidi K a Peter G POPE. Characterization of EPA's 16 priority pollutant polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in tank bottom solids and associated contaminated soils at oil exploration and production sites in Texas. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* [online]. 2007, **47**(3), 288–295. ISSN 0273-2300. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2006.11.007>
- [24] ROGERS, Shane, S ONG, B KJARTANSON, Johanshir GOLCHIN a G STENBACK. Natural Attenuation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Contaminated Sites: Review. *Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management* [online]. 2002, **6**. Dostupné z: doi:10.1061/(ASCE)1090-025X(2002)6:3(141)
- [25] *THE EUROPEAN BIOCHAR CERTIFICATE (EBC)* [online]. [vid. 2023-05-13]. Dostupné z: <https://www.european-biochar.org/en/home>
- [26] EBC (2012-2023) „European Biochar Certificate - Guidelines for a Sustainable Production of Biochar." *Carbon Standards International (CSI), Frick, Switzerland*. (<http://european-biochar.org>). Version 10.3 from 5th Apr 2022. nedatováno.
- [27] VYHLÁŠKA 153 ze dne 9. května 2016 o stanovení podrobností ochrany kvality zemědělské půdy a o změně vyhlášky č. 13/1994 Sb., kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu. *Ministerstvo životního prostředí stanoví podle § 22 odst. 1 písm. b) a c) zákona č. 334/1992 Sb., o ochraně zemědělského*

- půdního fondu, ve znění zákona č. 41/2015 Sb.*: [online]. [vid. 2023-05-12]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-153>
- [28] NAŘÍZENÍ VLÁDY, 401 ze dne 14. prosince 2015 o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech. *Vláda nařizuje podle § 31, § 32 odst. 2 a 3, § 34 odst. 2, § 38 odst. 5 a 8 a § 39 odst. 3 zákona č. 254/2001 Sb., o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon), ve znění zákona č. 20/2004 Sb. a zákona č. 150/2010 Sb.*: [online]. [vid. 2023-05-13]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2015-401>
- [29] Věstník Ministerstva životního prostředí. *Ieden 2014 - částka 1* [online]. [vid. 2023-05-13]. Dostupné z: [https://www.mzp.cz/web/edice.nsf/975999522D9B19C3C1257C710050418A/\\$file/Vestn%C3%ADk_01_2014_final.pdf](https://www.mzp.cz/web/edice.nsf/975999522D9B19C3C1257C710050418A/$file/Vestn%C3%ADk_01_2014_final.pdf)
- [30] ZHANG, Fengsong, Guixiang ZHANG a Xiaoyong LIAO. Negative role of biochars in the dissipation and vegetable uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in an agricultural soil: Cautions for application of biochars to remediate PAHs-contaminated soil. *Ecotoxicology and environmental safety* [online]. 2021, **213**, 112075. ISSN 0147-6513. Dostupné z: doi:10.1016/j.ecoenv.2021.112075
- [31] SANCHEZ-HERNANDEZ, Juan C, Juan Manuel RÍOS, Andrés Maximiliano ATTADAMO, Alessio MALCEVSCI a Ximena ANDRADE CARES. Assessing biochar impact on earthworms: Implications for soil quality promotion. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 2019, **366**, 582–591. ISSN 0304-3894. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.12.032>
- [32] MALEV, O, M CONTIN, S LICEN, P BARBIERI a M DE NOBILI. Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons and survival of earthworms (*Eisenia andrei*) exposed to biochar amended soils. *Environmental science and pollution research international* [online]. 2016, **23**(4), 3491–3502. ISSN 0944-1344. Dostupné z: doi:10.1007/s11356-015-5568-2
- [33] WANG, Congying, Yingdi WANG a H.M.S.K. HERATH. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in biochar – Their formation, occurrence and analysis: A review. *Organic Geochemistry* [online]. 2017, **114**, 1–11. ISSN 0146-6380. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2017.09.001>
- [34] PARIS, Alice, Jérôme LEDAUPHIN, Pauline POINOT a Jean-Luc GAILLARD. Polycyclic aromatic hydrocarbons in fruits and vegetables: Origin, analysis, and occurrence. *Environmental Pollution* [online]. 2018, **234**, 96–106. ISSN 0269-7491. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.028>
- [35] KRAJIAN, H a A ODEH. Polycyclic aromatic hydrocarbons in medicinal plants from Syria. *Toxicological and environmental chemistry* [online]. 2013, **95**(6), 942–953. ISSN 0277-2248. Dostupné z: doi:10.1080/02772248.2013.840375
- [36] FORBES, Shari. Gas Chromatography. In: *Analytical Techniques in Forensic Science* [online]. 2021, s. 327–363. ISBN 9781119373421. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1002/9781119373421.ch13>
- [37] STAUFFER, Eric, Julia A DOLAN a Reta NEWMAN. Gas Chromatography and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. In: [online]. United States: United States: Elsevier, 2008, s. 1. Dostupné z: doi:10.1016/B978-012663971-1.50012-9
- [38] PARKIN, Mark C. a Alan BRAILSFORD. Mass Spectrometry. In: *Analytical Techniques in Forensic Science* [online]. 2021, s. 219–265. ISBN 9781119373421. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1002/9781119373421.ch10>
- [39] GROSS, Jürgen H. *Mass Spectrometry: A Textbook*. Cham: Cham: Springer International Publishing AG, 2017.

- [40] HOLATKO, Jiri, Martin BRTNICKY, Adnan MUSTAFA, Antonin KINTL, Petr SKARPA, Pavel RYANT, Tivadar BALTAZAR, Ondrej MALICEK, Oldrich LATAL a Tereza HAMMERSCHMIEDT. Effect of Digestate Modified with Amendments on Soil Health and Plant Biomass under Varying Experimental Durations. *Materials* [online]. 2023, **16**(3), 1027. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma16031027
- [41] *BioRender: Scientific Image and Illustration Software* [online]. [vid. 2023-05-22]. Dostupné z: <https://app.biorender.com/illustrations/646a70f0fca5d464da4f4145>
- [42] BOČÁN, David. *Charakterizace organických látek v biouhlu a jejich uvolňování v půdním ekosystému*. B.m.: Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická. 2022
- [43] KHAN, Sardar, Ning WANG, Brian J REID, Alessia FREDDO a Chao CAI. Reduced bioaccumulation of PAHs by *Lactuca sativa* L. grown in contaminated soil amended with sewage sludge and sewage sludge derived biochar. *Environmental Pollution* [online]. 2013, **175**, 64–68. ISSN 0269-7491. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.12.014>
- [44] GOMEZ-EYLES, Jose L, Tom SIZMUR, Chris D COLLINS a Mark E HODSON. Effects of biochar and the earthworm *Eisenia fetida* on the bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons and potentially toxic elements. *Environmental Pollution* [online]. 2011, **159**(2), 616–622. ISSN 0269-7491. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.09.037>

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

PAHs	polycyklické aromatické uhlovodíky
VOCs	těkavé organické látky
Nitro-PAHs	nitroderiváty polycyklických aromatických uhlovodíků
US EPA	Agentura pro ochranu životního prostředí Spojených států Amerických
EBC	Evropská biouhlová certifikace
Oxy-PAHs	oxidované polycyklické aromatické uhlovodíky
DNA	deoxyribonukleová kyselina
LMW-PAHs	polycyklické aromatické uhlovodíky s nízkou molekulární hmotností
HMW-PAHs	polycyklické aromatické uhlovodíky s vysokou molekulární hmotností
ASE	extrakce za zvýšeného tlaku a teploty
LC/MS	kapalinová chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií
GC/MS	plynová chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií
TC	celkový uhlík
TOC	celkový organický uhlík
MWHC	maximální kapilární vodní kapacita
LOD	limit detekce
LOQ	limit kvantifikace
CE	kolizní energie

8 PŘÍLOHY

Z důvodu úspory místa byly analyty zapsány do tabulek dle čísel.

Tabulka 15: Číselné označení analytů

1	Acenaften
2	Acenaftylen
3	Anthracen
4	Benzo(a)anthracen
5	Benzo(a)pyren
6	Benzo(b)fluoranthren
7	Benzo(ghi)perylene
8	Benzo(k)fluoranthren
9	Dibenz(ah)anthracen
10	Fluoranthren
11	Fluoren
12	Chrysen
13	Naftalen
14	Indeno(1,2,3-cd)pyren
15	Fenanthren
16	Pyren

8.1 Optimalizace metody

Tabulka 16: Směs rozpouštědel (aceton a hexan 1:1)

Jednonásobná extrakce hexan a aceton (1:1) s interním standardem																
číslo analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
průměr [ng/ml]	29,0	14,3	93,8	606	616	292	434	238	172	918	30,2	473	406	49,2	335	499
směrodatná odchylka [ng/ml]	3,38	0,69	0,07	0,95	51,5	13,8	52,7	35,9	17,7	11,7	1,63	19,0	35,6	0,88	7,32	32,9
Dvojnásobná extrakce hexan a aceton (1:1) s interním standardem																
číslo analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
průměr [ng/ml]	37,7	14,9	88,3	653	655	311	457	229	184	872	35,9	471	505	43,4	355	489
směrodatná odchylka [ng/ml]	7,18	0,47	10,3	43,4	15,5	10,8	30,0	3,90	4,50	59,3	6,69	55,3	17,7	0,44	39,8	23,2
Dvojnásobná extrakce hexan a aceton (1:1) s interním i normálním standardem																
číslo analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
průměr [ng/ml]	477	511	561	1025	1035	510	803	201	780	1061	422	844	968	590	933	590
směrodatná odchylka [ng/ml]	15,1	3,50	10,9	42,0	35,6	24,7	4,73	7,42	5,75	43,5	14,8	8,57	8,09	12,1	66,6	39,2
Jednonásobná extrakce hexan a aceton (1:1) s interním i normálním standardem																
číslo analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
průměr [ng/ml]	492	489	563	1522	1481	1019	889	362	806	1644	442	1191	1039	637	782	1014
směrodatná odchylka [ng/ml]	2,57	11,4	38,9	172	171	88,6	174	52,4	76,0	180,7	7,07	117	209	57,4	79,7	97,4
Výtěžnost [%]																
jednonásobná	92	97	101	146	151	129	91	25	142	101	84	123	120	118	107	109
dvojnásobná	88	99	94	74	76	40	69	-6	119	38	77	75	93	109	116	20

Tabulka 17: Směs rozpouštědel (aceton a hexan 7:3)

Dvojnásobná extrakce hexan a aceton (3:7) s interním i normálním standardem																
číslo analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
průměr [ng/ml]	552	570	584	985	991	558	873	270	817	1160	479	893	1006	647	1037	755
směrodatná odchylka [ng/ml]	70,1	57,9	54,6	167	153	68,8	110	75,7	72,9	216	16,2	106	117	86,2	109	148
Jednonásobná extrakce hexan a aceton (3:7) s interním i normálním standardem																
číslo analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
průměr [ng/ml]	541	510	676	981	1429	680	884	525	878	1345	402	1353	978	773	1078	863
směrodatná odchylka [ng/ml]	90,2	29,2	187		525	187		232	157		41,4	564		202		
Výtěžnost [%]																
jednonásobná	104	97	117	78	153	87	71	38	132	87	77	166	98	131	134	57
dvojnásobná	106	111	104	105	96	72	92	6	125	96	92	99	117	117	139	69

Tabulka 18: Směs rozpouštědel (aceton, hexan a dichlormethan 5:2:3)

Dvojnásobná extrakce aceton, hexan a dichlormethan (5:2:3) s interním i normálním standardem																
číslo analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
průměr [ng/ml]	494	531	550	1021	1043	564	894	293	830	1125	330	912	1037	672	944	761
směrodatná odchylka [ng/ml]	30,6	62,9	19,4	18,4	28,6	7,06	42,3	8,84	9,28	54,2	72,3	13,5	47,8		34,8	24,2
Jednonásobná extrakce aceton, hexan, dichlormethan (5:2:3) s interním i normálním standardem																
číslo analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
průměr [ng/ml]	508	533	652	1344	1266	625	1004	563	1072	1693	408	1344	1165	618	1247	1151
směrodatná odchylka [ng/ml]	59,0	24,4		120				263	293	138	137	347			119	13,8
Výtěžnost [%]																
jednonásobná	89	101	115	170	143	80	110	58	176	203	74	186	137	105	178	146
dvojnásobná	95	102	99	122	108	74	97	16	128	118	63	114	123	126	145	85

Tabulka 19: Směs rozpouštědel (aceton, hexan a dichlormethan 7:1:2)

Dvojnásobná extrakce aceton, hexan a dichlormethan (7:1:2) s interním i normálním standardem																
číslo analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
průměr [ng/ml]	476	512	580	1061	1087	578	886	321	776	1276	426	977	987	637	1108	868
směrodatná odchylka [ng/ml]	5,28	8,22	67,3	127	156	30,7	102	52,3	85,9	213	40,3	44,4	158	34,4	224	117
Jednonásobná extrakce aceton, hexan, dichlormethan (7:1:2) s interním i normálním standardem																
číslo analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
průměr [ng/ml]	484	525	567	966	1006	546	873	277	758	1099	341	868	984	705	952	771
směrodatná odchylka [ng/ml]	38,5	10,9	23,7	62,5	70,2	38,4	38,4	31,7	21,1	84,3	122,	86,0	49,9	108,6	48,8	71,0
Výtěžnost [%]																
jednonásobná	88	98	92	72	66	55	62	-9	123	40	63	68	81	123	88	40
dvojnásobná	88	98	95	38	31	43	22	-14	102	59	79	49	52	107	129	41

8.3 Reálné vzorky

Tabulka 20: Vzorky z experimentu se žížalami

půda se žížalami																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	119	n.d.	n.d.
	22,4	17,7	47,4	71,5	295	306	262	91,9	86,0	110	40,6	60,8	265	113	296	239
	21,9	16,8	48,1	71,2	311	324	273	101	70,7	107	36,8	64,2	280	89,9	276	256
průměr [ng/g]	22,2	17,3	47,8	71,4	303	315	268	96,7	78,3	109	38,7	62,5	273	107	286	247
směrodatná odchylka [ng/g]	0,37	0,67	0,47	0,22	11,24	12,82	7,59	6,69	10,83	2,29	2,64	2,43	10,51	15,27	13,66	11,89
2 % směs půdy s biouhlem a žížalami																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	24,2	19,6	54,7	n.d.	235	n.d.	n.d.	71,3	74,0	103	n.d.	56,3	n.d.	199	406	n.d.
		22,4	71,1	77,7	300	295	239	90,9	n.d.	146	75,4	68,0	227	224	492	293
	25,1	20,4	67,5	73,0	281	275	236	83,4	74,2	120	71,8	61,3	225	193	475	277
průměr [ng/g]	24,6	20,8	64,4	75,4	272	285	238	81,9	74,1	123	73,6	64,7	226	196	457	285
směrodatná odchylka [ng/g]	0,59	1,41	8,63	3,33	33,46	14,57	2,15	9,92	0,17	21,85	2,53	4,72	1,21	4,34	45,66	11,43
2 % směs půdy s biouhlem po 21 dnech																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	n.d.	n.d.	90,9	111	428	457	385	140	120	180	68,5	98,2	395	872	577	420
	55,6	32,6	n.d.	n.d.	n.d.	622	415	n.d.	122	n.d.	n.d.	n.d.	443	n.d.	699	n.d.
	51,6	35,2	82,5	104	404	419	336	139	n.d.	192	61,3	86,8	343	986	487	401
průměr [ng/g]	53,6	33,9	86,7	107	416	438	379	140	121	186	64,9	92,5	394	929	588	410
směrodatná odchylka [ng/g]	2,79	1,77	5,93	4,83	17,00	27,05	39,84	0,74	1,88	8,60	5,08	8,10	50,00	80,95	106,31	13,39

Tabulka 21: Vzorčky z experimentu se salátem. Část první

listy salátu pěstovaného na půdě																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	12,3	3,55	22,6	6,46	3,53	4,98	50,3	7,19	7,28	71,9	71,5	7,03	229	277	467	15,5
	11,6	4,01	16,4	n.d.	n.d.	n.d.	49,7	5,89	7,10	56,3	62,0	n.d.	227	273	430	12,9
průměr [ng/g]	11,9	3,78	19,5	3,23	3,53	4,98	50,0	6,54	7,19	64,1	66,7	7,03	228	275	449	14,2
směrodatná odchylka [ng/g]	0,46	0,33	4,36	4,57			0,36	0,92	0,13	11,08	6,69		1,20	2,64	25,69	1,81
kořeny salátu pěstovaného na půdě																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	7,63	11,5	19,9	41,3	10,01	16,0	95,3	14,8	14,7	75,0	70,3	41,0	384	177	352	21,1
	9,52	8,25	19,3	13,9	6,38	8,49	71,8	10,1	10,5	58,3	77,0	11,5	316	176	380	17,4
průměr [ng/g]	8,57	9,87	19,6	27,6	8,20	12,3	83,5	12,4	12,6	66,7	73,7	26,3	350	176	366	19,2
směrodatná odchylka [ng/g]	1,34	2,29	0,47	19,41	2,57	5,33	16,61	3,32	2,98	11,81	4,74	20,88	47,56	0,45	19,57	2,64
kořen salátu pěstovaného na 2 % směsi půdy s biouhlem																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	8,21	7,14	16,41	<LOQ	<LOQ	7,03	73,9	9,50	10,4	41,7	78,7	<LOQ	339,1	178,2	363	14,8
	10,67	9,02	19,24	n.d.	<LOQ	<LOQ	81,2	11,1	11,9	43,6	86,5	n.d.	374,7	208,7	390	15,9
průměr [ng/g]	9,44	8,08	17,83			7,03	77,5	10,3	11,2	42,6	82,6		356,9	193,5	377	15,4
směrodatná odchylka [ng/g]	1,74	1,32	2,00				5,17	1,10	1,06	1,39	5,55		25,14	21,58	18,73	0,78
list salátu pěstovaného na 2 % směsi půdy s biouhlem																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	13,44	5,43	24,00	n.d.	3,54	5,29	50,70	7,18	7,20	73,2	88,3	9,96	228	243	512	14,8
	15,05	4,35	39,57	n.d.	<LOQ	5,29	60,43	n.d.	14,2	98,8	81,0	n.d.	220	639	554	40,4
průměr [ng/g]	13,44	5,43	24,00		3,54	5,29	50,70	7,18	7,20	73,24	88,25	9,96	228,34	243,19	512,14	14,80
směrodatná odchylka [ng/g]	1,14	0,76	11,01				6,88		4,93	18,07	5,13		5,97	279,65	29,90	18,09

Tabulka 22: Vzorky z experimentu se salátem. Část druhá

list salátu pěstovaného na půdě se sáčky biouhlu																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	13,9	4,88	33,8	n.d.	2,69	3,91	49,2	<LOQ	7,21	73,2	71,5	n.d.	229	454	513	15,7
	14,5	5,37	22,8	n.d.	3,53	5,21	51,4	7,28	7,22	68,8	49,4	n.d.	227	n.d.	464	15,5
průměr [ng/g]	14,2	5,13	28,3		3,11	4,56	50,3	7,28	7,22	71,0	60,4		228	454	489	15,6
směrodatná odchylka [ng/g]	0,45	0,34	7,78		0,59	0,92	1,54		0,01	3,15	15,63		1,84		34,86	0,19
kořen salátu pěstovaného na půdě se sáčky biouhlu																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	12,6	12,4	24,9	n.d.	<LOQ	10,6	115	14,2	16,7	60,3	118	n.d.	528	267	558	22,5
půda odebrána před experimentem																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	n.d.	8,56	65,9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	135	n.d.	n.d.
	10,9	8,53	26,9	210	288	312	262	n.d.	91,6	285	10,9	169	277	179	181	216
	14,0	n.d.	32,0	237	325	363	289	103	97,6	332	13,3	187	312	173	211	253
	13,8	7,42	24,7	221	306	347	282	98,0	97,0	304	13,1	177	299	86,6	169	241
	n.d.	6,74	57,4	350	442	n.d.	n.d.	127	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	62,0	n.d.	n.d.
	12,1	5,95	40,4	265	345	375	300	104	111	n.d.	13,3	203	330	69,8	205	279
průměr [ng/g]	12,7	7,44	41,2	257	341	349	283	108	99,4	307	12,6	184	305	117,6	192	247
směrodatná odchylka [ng/g]	1,46	1,14	16,94	56,37	60,34	27,47	15,76	12,72	8,42	23,89	1,17	14,56	22,51	51,94	19,73	26,12

Tabulka 23: Vzorky z experimentu se salátem. Část třetí

2 % směs půdy s biouhlem odebrána před experimentem																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	12,4	7,85	32,5	225	308	341	324	98,2	101	311	17,5	176	216	92,1	219	n.d.
	10,7	7,40	27,9	214	294	338	335	114	129	267	n.d.	183	283	n.d.	197	242
	10,5	6,96	26,9	204	285	319	311	100	95,8	283	n.d.	167	239	97,5	181	246
	14,3	6,40	32,1	227	306	336	321	114	107	313	17,8	184	263	76,2	216	264
	12,5	n.d.	38,0	238	n.d.	n.d.	n.d.	121	131	310	18,2	198	n.d.	89,2	201	249
	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	87,5	n.d.
průměr [ng/g]	12,1	7,15	31,5	221	298	334	323	109	113	297	17,8	182	250	88,5	203	250
směrodatná odchylka [ng/g]	1,57	0,62	4,40	12,68	10,78	9,80	9,66	9,71	16,33	20,68	0,36	11,17	29,14	7,85	15,54	9,33
Biouhel odebraný před experimnetem																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	16,1	32,7	35,5	77,33	142	360	282	254	222	n.d.	108	86,9	198	699	727	2049
	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	335	n.d.	n.d.	1369	n.d.	n.d.	284	n.d.	n.d.	5724
	17,8	21,7	41,8	80,83	116	297	340	263	228	1158	n.d.	88,3	309	689	n.d.	6620
	9,2	21,4	n.d.	98,38	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	65,3	129	n.d.	446	546	n.d.
	n.d.	35,9	31,6	74,10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	93,3	n.d.	469	n.d.	n.d.
	8,9	17,9	n.d.	73,47	n.d.	329	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1234	52,1	109	n.d.	486	549
průměr [ng/g]	13,0	25,9	36,3	80,82	129	355	319	259	225	1254	75,0	101	263	558	607	6172
směrodatná odchylka [ng/g]	4,61	7,89	5,14	10,25	18,16	55,01	32,15	6,39	4,37	106,76	28,98	17,64	58,03	125,39	103,52	633,39

Tabulka 24: Vzorčky z experimentu se salátem. Část čtvrtá

biouhel ze sáčků po 28denním experimentu																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	22,3	31,8	50,2	60,6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	359	150	117	n.d.	n.d.	708	722
	24,0	37,2	n.d.	57,8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	435	143	120	n.d.	642	n.d.	n.d.
	20,8	38,3	50,1	n.d.	n.d.	n.d.	420	n.d.	167	556	n.d.	n.d.	382	641	706	817
průměr [ng/g]	22,4	35,8	50,2	59,2			420		167	450	147	119	382	641	707	769
směrodatná odchylka [ng/g]	1,60	3,51	0,13	2,04						99,09	4,36	1,69		0,70	0,95	67,81
2 % směs po 28denním experimentu, na které rostl salát																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	17,5	9,83	57,7	294	419	405	342	122	113	398	20,4	241	367	114	225	285
	n.d.	n.d.	74,9	n.d.	488	486	392	143	138	468	n.d.	294	410	n.d.	275	361
	13,6	11,9	30,1	187	n.d.	n.d.	n.d.	95,0	83,9	273	20,4	n.d.	n.d.	124	n.d.	199
průměr [ng/g]	15,5	10,9	54,3	241	454	445	367	120	112	380	20,4	267	389	119	250	282
směrodatná odchylka [ng/g]	2,77	1,45	22,61	75,68	48,46	57,15	35,06	23,83	27,16	98,87	0,01	37,51	30,53	7,42	35,63	81,01
biouhel vybraný z 2 % směsi na které rostl salát																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	9,38	44,0	20,7	36,6	35,8	88,6	97,5	86,0	61,6	99,0	45,7	89,8	28,8	67,8	236	54,7
	11,1	19,6	24,9	37,7	38,8	91,3	92,2	88,5	59,6	108	48,8	90,8	24,7	89,6	287	53,3
průměr [ng/g]	10,22	31,8	22,8	37,1	37,3	90,0	94,9	87,3	60,6	104	47,3	90,3	26,7	78,7	262	54,0
směrodatná odchylka [ng/g]	1,19	17,24	2,99	0,81	2,12	1,89	3,77	1,79	1,40	6,46	2,16	0,66	2,89	15,41	36,24	1,02

Tabulka 25: Vzorčky z experimentu se salátem. Část pátá

1 % směs půdy s biouhlem po 28denním experimentu																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	12,4	10,9	30,0	192	302	n.d.	268	102	85,7	259	n.d.	171	269	88,4	171	208
	18,1	12,6	39,5	221	315	374	297	111	78,7	319	15,6	191	294	137	167	243
	15,5	n.d.	40,5	263	n.d.	400	315	118	89,1	355	16,6	n.d.	320	287	n.d.	279
průměr [ng/g]	15,3	11,7	36,7	225	308	387	293	110	84,5	311	16,1	181	294	171	169	243
směrodatná odchylka [ng/g]	2,84	1,16	5,81	36,02	9,18	17,95	23,83	7,95	5,35	48,59	0,67	14,04	25,69	103,69	2,82	35,26
biouhel vybraný z 1 % směsi po 28denním experimentu																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	44774	90173	27,7	27,7	30,9	97,0	n.d.	36,3	109	n.d.	64,1	n.d.	119	206	295	n.d.
	68455	n.d.	n.d.	n.d.	71,1	135	146	41,8	121	129	69,3	84,4	138	242	354	67,6
	122322	91069	37,9	46,9	n.d.	136	154	n.d.	145	114	n.d.	80,1	159	n.d.	400	64,2
průměr [ng/g]	78517	90621	32,8	37,3	51,0	122	150	39,0	125	122	66,7	82,2	139	224	350	65,9
směrodatná odchylka [ng/g]	39741,22	632,95	7,19	13,55	28,40	22,03	5,62	3,91	18,26	10,55	3,66	3,05	20,31	25,47	52,71	2,39
půda po 28denním experimentu, na které byl pěstován salát																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	8,62	8,22	20,2	132	21,9	22,3	35,0	14,5	5,78	n.d.	12,2	112	n.d.	126	122	34,6
	6,37	7,34	15,4	97,7	17,3	17,8	31,6	11,6	5,11	150	12,5	83,7	n.d.	117	104	22,4
	10,5	9,60	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	149	n.d.	n.d.
	4,29	4,09	10,0	65,8	10,9	11,1	17,4	7,20	2,87	121	6,08	n.d.	n.d.	62,6	60,8	17,2
	3,07	3,54	7,44	47,1	8,3	8,57	15,3	5,6	2,46	72,1	6,05	n.d.	n.d.	56,2	50,1	n.d.
	5,11	4,69	19,9	112	16,5	15,3	20,6	10,2	3,75	176	7,97	92,0	n.d.	72,8	78,2	24,0
průměr [ng/g]	6,32	6,25	14,6	90,9	15,0	15,0	24,0	9,81	3,99	130	8,97	96,1		97,1	83,0	24,6
směrodatná odchylka [ng/g]	2,77	2,48	5,73	34,37	5,40	5,41	8,81	3,52	1,42	44,61	3,21	14,82		38,31	29,88	7,30

Tabulka 26: Vzorčky z experimentu se salátem. Část šestá

půda po 28denním experimentu																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	28,1	13,4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	167	n.d.	n.d.	37,3	n.d.	n.d.	68,0	n.d.	n.d.
	20,9	11,5	40,4	261	264	317	291	103	80,8	348	32,1	203	333	85,8	232	185
	14,8	11,7	43,8	316	306	378	336	125	94,8	439	31,5	248	383	76,4	233	262
průměr [ng/g]	21,3	12,2	42,1	289	285	348	313	132	87,8	393	33,6	225	358	76,7	233	224
směrodatná odchylka [ng/g]	6,68	1,06	2,44	39,28	29,59	43,32	31,72	32,38	9,95	64,41	3,23	31,32	35,25	8,89	0,38	54,51
2 % směs po 28denním experimentu																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	17,5	n.d.	33,0	193	208	250	239	88,9	n.d.	312	40,6	157	248	n.d.	305	171
	17,4	11,9	35,1	196	199	254	226	92,5	78,9	302	45,8	160	246	144	313	167
	n.d.	12,8	37,4	n.d.	221	n.d.	n.d.	n.d.	79,0	n.d.	42,9	n.d.	n.d.	252	298	n.d.
průměr [ng/g]	17,4	12,3	35,2	195	209	252	232	90,7	78,9	307	43,1	158	247	198	305	169
směrodatná odchylka [ng/g]	0,13	0,66	2,20	1,72	11,17	2,98	9,75	2,53	0,06	6,49	2,61	1,85	1,18	76,65	7,67	3,18
Biouhel vybraný ze sáčků, které byly v půdě, na které rostl salát																
název analytu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
C [ng/g]	21,6	6,99	88,9	419	593	526	397	156	n.d.	569	19,9	334	423	43,0	274	417
	n.d.	6,99	71,6	439	557	547	381	145	132	n.d.	18,6	312	431	35,9	250	n.d.
	27,7	22,3	61,7	271	315	308	258	n.d.	83,0	447	40,7	n.d.	230	n.d.	297	253
	24,1	18,8	58,0	357	369	372	n.d.	109	100	494	n.d.	304	276	n.d.	309	285
průměr [ng/g]	24,4	13,8	70,0	371	506	482	364	137	105	503	26,4	317	340	39,5	282	318
směrodatná odchylka [ng/g]	3,08	7,96	13,81	75,49	120,30	95,58	43,89	24,37	25,09	61,51	12,39	15,62	102,28	4,96	26,04	87,31