



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

VLIV MIKROBIÁLNÍ DEGRADACE BIOUHLU V PŮDĚ NA JEHO FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ CHARAKTERISTIKY

THE INFLUENCE OF MICROBIAL DEGRADATION OF BIOCHAR IN SOIL ON ITS PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Marie Kurková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Michal Kalina, Ph.D.

BRNO 2022

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1627/2021 Akademický rok: 2021/22
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Bc. Marie Kurková**
Studijní program: Spotřební chemie
Studijní obor: Spotřební chemie
Vedoucí práce: **Ing. Michal Kalina, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Vliv mikrobiální degradace biouhlu v půdě na jeho fyzikálně–chemické charakteristiky

Zadání diplomové práce:

- 1) Vypracovat literární rešerši na problematiku působení mikrobiální degradace na fyzikálně–chemické charakteristiky biouhlu.
- 2) Optimalizovat nastavení experimentu pro posouzení vlivu činnosti mikroorganismů na fyzikálně–chemické charakteristiky biouhlu a vyluhování látek z biouhlu.
- 3) Vlastní laboratorní experimenty.
- 4) Kritické zhodnocení získaných výsledků a formulace závěrů vzhledem k potenciálnímu praktickému využití biouhlu jakožto půdního kondicionéru v zemědělství.

Termín odevzdání diplomové práce: 13.5.2022:

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

Bc. Marie Kurková
studentka

Ing. Michal Kalina, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2022

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato diplomová práce studuje jednotlivé činitele, které mohou působit na biouhel v půdě a působit jeho degradaci. Mezi tyto činitele patří závlaha, kořenové exsudáty a působení mikroorganismů. V experimentální části byla degradace biouhlu v půdním prostředí studována dvojitým způsobem, nejprve bez působení mikroorganismů, kdy vliv závlahy byl simulován výluhy biouhlů v ultračisté destilované vodě a modelové dešťové vodě, a vliv kořenových exsudátů byl simulován extrakcemi biouhlů v kyselině citronové, jakožto modelového kořenového exsudátu kukuřice seté. Extrahované roztoky biouhlů bez předchozí kultivace v půdě byly charakterizovány pomocí pH, vodivosti, UV-VIS analýzy a prvkové analýzy. U zbytků biouhlů po extrakcích byla charakterizována morfologie pomocí SEM, strukturní změny pomocí FTIR a obsah organiky a minerální části pomocí TGA analýzy. Na vzorcích biouhlů po kultivaci v půdě byly provedeny extrakce za stejných podmínek a byly provedeny tytéž analýzy. Vlivem kultivace v půdě u biouhlů došlo ke změně prvkového složení, poklesu alkality biouhlu a byly pozorovány změny poměru organické hmoty a minerální složky. Pokles pH a vodivosti biouhlů souvisí zejména s vyluhováním draslíku. Strukturní a morfologická analýza naznačila, že vlivem promývání ani kultivací v půdě nedochází k výraznější degradaci jeho struktury, ale dochází k částečnému zanášení porů biouhlů nízkomolekulárními nečistotami z půdy. Tyto výsledky naznačují krátkodobé působení biouhlů v půdách jakožto zdroj živin (draslík, fosfor) a naopak dlouhodobé působení jakožto půdní kondicionér.

KLÍČOVÁ SLOVA

Biouhel, kořenové exsudáty, mikroorganismy, extrakce, organická hmota.

ABSTRACT

This master's thesis studies the different factors that can affect biochar in soil and cause its degradation. These factors include irrigation, root exudates and the action of microorganisms. In the experimental part, the degradation of biochar in the soil environment was studied in two ways, firstly without the action of microorganisms, where the effect of irrigation was simulated by leaching biochar in ultrapure distilled water and model rainwater, and the effect of root exudates was simulated by extracting of biochar in citric acid as a model root exudate of maize sown. The extracted biochar solutions without prior cultivation in soil were characterized by pH, conductivity, UV-VIS analysis and elemental analysis. The biochar residues after extractions were characterized for morphology by SEM, structural differences by FTIR, and organic and mineral content by TGA analysis. The biochar samples after cultivation in soil were subjected to extractions under the same conditions and the same analyses were performed. The effect of cultivation in soil on biochar resulted in a change in elemental composition, a decrease in biochar alkalinity and changes in the ratio of organic matter and mineral fraction were observed. The decrease in pH and conductivity of biochar was mainly related to potassium leaching. The structural and morphological analysis indicated that there is no significant degradation of the structure of the biochar due to washing or cultivation in soil, but there is a partial fouling of the biochar pores by low molecular weight impurities from the soil. These results suggest a short-term action of biochar in soils as a source of nutrients (potassium, phosphorus) and, conversely, a long-term action as a soil conditioner.

KEY WORDS

Biochar, root exudates, microorganisms, extraction, organic matter.

KURKOVÁ, Marie. *Vliv mikrobiální degradace biouhlu v půdě na jeho fyzikálně-chemické charakteristiky*. Brno, 2022. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Michal Kalina.

PROHLÁŠENÍ

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

.....

podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Na prvním místě bych chtěla velice poděkovat mému vedoucímu Ing. Michalu Kalinovi, Ph.D. za jeho odborné vedení, čas a trpělivost. Dále bych ráda poděkovala paní Leoně Kubíkové a Ing. Šárce Sovové za pomoc s měřením experimentální části. Také bych chtěla velice poděkovat celé mojí rodině a partnerovi za podporu během celé doby studia.

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	9
2.1	Definice biouhlu.....	9
2.1.1	Fyzikální vlastnosti	9
2.1.2	Chemické složení	10
2.2	Historie biouhlu.....	10
2.3	Výroba biouhlu	11
2.3.1	Pyrolýza.....	11
2.3.2	Vliv podmínek pyrolýzy na vlastnosti biouhlu	11
2.3.3	Vliv charakteru použité biomasy na vlastnosti biouhlu	12
2.4	Vliv biouhlu na půdní charakteristiky.....	12
2.5	Vliv biouhlu na půdní mikroorganismy	13
2.6	Využití biouhlu	13
2.7	Půda.....	13
2.7.1	Vznik půdy	13
2.7.2	Stavba a složení půdy.....	14
2.7.3	Vlastnosti půdy.....	15
2.7.4	Funkce půdy	15
2.7.5	Vztah mezi půdou a rostlinou.....	15
2.7.6	Rhizosféra.....	16
2.8	Půdní organismy	16
2.8.1	Půdní mikroorganismy	17
2.8.2	Rozdělení půdní bioty	17
3	SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	19
4	CÍL PRÁCE.....	22
5	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	23
5.1	Použité chemikálie, přístroje a pomůcky	23
5.2	Charakteristika vlastností použitých biouhlů.....	23
5.3	Předpříprava vzorků pro experimenty bez předchozích kultivace.....	24
5.4	Sekvenční vyluhování látek z biouhlu	26
5.4.1	Dlouhodobé sekvenční louhování látek z biouhlu	27
5.4.2	Jednorázové vyluhování látek z biouhlu	28

5.5	Vyluhování látek z biouhlů po kultivaci v půdě	28
5.5.1	Charakteristika použitých biouhlů po kultivaci v půdě.....	28
5.5.2	Předpříprava vzorků biouhlů po kultivacích pro vyluhovací experimenty	29
5.5.3	Krátkodobé louhování látek z biouhlů po kultivaci v půdách.....	30
5.6	Charakterizace výluhů z biouhlů a pevných vzorků biouhlů.....	30
5.6.1	Metody charakterizace výluhů z biouhlů	30
5.6.2	Metody charakterizace pevných biouhlů.....	31
6	VÝSLEDKY A DISKUZE	32
6.1	Charakterizace výluhů z biouhlů bez předchozí kultivace v půdě.....	32
6.1.1	Stanovení pH roztoků při dlouhodobých experimentech.....	32
6.1.2	Stanovení vodivosti vyluhovaných roztoků při dlouhodobých experimentech	34
6.1.3	Prvková analýza vyluhovaných roztoků po extrakcích bez předchozí kultivace	35
6.1.4	Změny obsahu organické hmoty ve výluzích bez kultivace v půdě.....	39
6.2	Charakterizace biouhlů po extrakcích bez předchozí kultivace v půdě	39
6.2.1	Charakterizace morfologie biouhlů bez předchozí kultivace v půdě	39
6.2.2	TGA analýza biouhlů bez předchozí kultivace v půdě	40
6.2.3	Stanovení vnitřních strukturních změn biouhlů bez předchozí kultivace v půdě	44
6.3	Charakterizace výluhů po extrakcích s předchozí kultivací biouhlů v půdě.....	46
6.3.1	Stanovení pH a vodivosti biouhlů kultivovaných v půdě	46
6.3.2	Prvková analýza roztoků po extrakcích s předchozí kultivací v půdě	47
6.3.3	Sledování změny obsahu organické hmoty ve výluzích biouhlů kultivovaných v půdě	50
6.4	Charakterizace zbytků biouhlů kultivovaných v půdě po extrakcích	51
6.4.1	Charakterizace morfologie biouhlů po předchozí kultivací v půdě	51
6.4.2	TGA analýza na vzorcích biouhlů s předchozí kultivací v půdě	53
6.4.3	Stanovení strukturních změn biouhlů s předchozí kultivací biouhlů v půdě	53
7	ZÁVĚR.....	56
	SEZNAM LITERATURY	58
	SEZNAM ZKRATEK.....	63
	PŘÍLOHY	64

1 ÚVOD

Pozitivního vlivu biouhlu na zvýšený růst rostliny, zlepšení kvality půdy a její úrodnosti si všimli již naši předci. Lidé využívali biouhel již před tisíci lety. Zejména v oblastech vlhkých tropů, se uhel vyrobený z biomasy hojně užíval. V těchto oblastech se díky práci zemědělců vytvořily černé půdy, které se nevyčerpaly ani během několika let po odlesnění a jsou tedy úrodné v dlouhodobém měřítku. Nezávisle na tropech ve světě existují zemědělci, kteří uhel do půdy přidávají stále, protože tento postup zdědili po svých předcích [1].

Dnes je biouhel opět vysoce aktuální téma. Využívá se k obnově a rekultivaci zemědělské půdy, která je mnohdy nevhodným obděláváním ve špatném stavu. Zemědělská výroba je v dnešní době zaměřená hlavně na produkci, ale na udržení a vylepšení kvality orné půdy se zapomíná. Také pokračující eroze, ať už se jedná o odnos půdy vodou, větrem či nevhodnou orbou, půdě příliš neprospívá. Mezi další faktory snižující kvalitu půdy také patří její stlačování těžkou mechanizací, nadměrné či nedostatečné hnojení, dále pak její zasolování, okyselování a rovněž znečišťování cizorodými látkami (např. Cu, Hg, Cd, Pb, Ni, As, CO₂, H₂S, CO, SO₂, BO₃³⁻, PO₄³⁻) [2, 3]. Kvalitu a množství orné půdy, také snižuje zvětšující se území zastavěných zemědělských ploch. Snižování plochy orné půdy vede zemědělce k tomu, že se snaží maximalizovat úrodnost své půdy, ale je to na úkor její kvality.

Ke snížení kvality půdy také přispívá zemědělské sucho, ke kterému dochází v důsledku interakce mezi klimatem a půdním prostředím. Díky své poréznosti má biouhel schopnost pojmout a udržet vodu v půdě a uchovat ji i pro období sucha. Zároveň také stabilizuje v půdě velké množství uhlíku, který se tak neuvolňuje do atmosféry, díky čemuž napomáhá v boji proti klimatickým změnám [4].

Biouhel vylepšuje vlastnosti půdy ve více směrech. Je však také důležité, zaměřit se na vzájemný vztah mezi biouhlem a půdními mikroorganismy. Přestože půdní mikroorganismy představují velmi malou část půdy, tak jejich význam pro zdraví a kvalitu půdy je obrovský [5].

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Definice biouhlu

Biouhel (v angličtině „biochar“) je forma dřevěného uhlí, která se vyrábí tepelnou degradací organických látek (často se využívají odpadní biomasy z odvětví průmyslu a zemědělství jako jsou zbytky plodin, hnůj, dřevní štěpka) v prostředí bez nebo s omezeným obsahem kyslíku. Biouhel se využívá především jako půdní kondicionér [6].

2.1.1 Fyzikální vlastnosti

Fyzikální vlastnosti biouhlu mohou přímo i nepřímo souviset se způsobem, jakým ovlivňuje půdní systémy [7]. Mohou ovlivňovat jeho mobilitu v životním prostředí, kdy díky porozitě biouhlu dochází k jeho snazšímu odnosu větrem či vodou. Fyzikální vlastnosti rovněž ovlivňují interakce s půdní vodou, minerály a živinami a také mohou určovat jeho vhodnost jakožto ekologického úkrytu pro půdní mikroby a mykorhizní houby tím, že poskytuje povrch, prostor pro růst a úkryt před predátory. Aby biouhel představoval vhodné útočiště pro mikroby je potřeba, aby měl vhodné pH [8].

Mezi nejdůležitější fyzikální vlastnosti biouhlu patří: sypná hustota, hustota částic, velikost částic, makro a mikro-pórovitost, specifický povrch a kapacita zadržení vody [8].

Hustota biouhlu

Biouhel lze charakterizovat třemi druhy hustoty [9]:

- skeletální,
- sypnou,
- obalovou.

Sypná hustota je definována objemem nádoby použité k uchování vzorku, kdy je zde započítán i objem uvnitř pórů a mezi částicemi vzorku uvnitř nádoby. Sypná hustota biouhlu se využívá jako definice hustoty při výrobě a prodeji biouhlu v USA. Někdy se také dále rozlišuje na hustotu suché hmoty, hustotu při expedici a hustotu při vybalování. Tento pojem slouží hlavně jako informace pro kupující [9].

Skeletální hustota se také nazývá skutečná hustota nebo hustota částic, protože nezahrnuje dutiny a prostor pórů, a měří se tedy pouze objem pevného materiálu. Tato hustota přímo souvisí se složením pevného materiálu. Může poskytnout informaci o obsahu popela a rozsahu pyrolýzy, protože hustota popela (minerálů) je mnohem vyšší než u organických materiálů. Je to z toho důvodu, že molekulové hmotnosti kovů jsou vyšší než molekulové hmotnosti H, C, O a N. Zároveň také biouhly s vyšší hustotou skeletu jsou ty, které byly vyrobeny pyrolýzou při vyšších teplotách nebo delší dobou setrvání v pyrolýzní jednotce. Skeletová hustota se obvykle měří heliovou pyknometrií [9,10].

Poslední ze zmiňovaných hustot je hustota obalová. Ta rozlišuje, zda se u prázdného prostoru jedná o póry mezi částicemi nebo póry v částicích. U porézních materiálů, jako je biouhel, je obalová hustota číselně někde mezi sypnou hustotou a hustotou skeletu. Znalost této hustoty umožňuje výpočet porozity uvnitř částic biouhlu. Ta je důležitá pro pochopení účinků biouhlu na vlastnosti půdy, které se týkají pórů. Jedná se o kapacitu zadržení vody, mikrobiální útočiště a schopnost provzdušňování [9].

Pórovitost biouhlu

Biouhel je pórovitý materiál. Póry v biouhlu dělíme dle jejich velikosti do tří základních skupin [11]:

- makropóry (1000–0,05 μm),
- mesopóry (0,05–0,002 μm),
- mikropóry (0,05–0,0001 μm).

Většina porů v biouhlu jsou makropóry. Pórovitost biouhlu lze měřit více způsoby. Lze je měřit pyknometricky nebo např. sorpcí plynného dusíku a rtuťovou porozimetrií [10].

Velikost porů je důležitá pro sorpci kovů, např. biouhel s malou velikostí porů nemůže zachytit velký sorptiv, bez ohledu na jejich náboje a polaritu. Velikost porů ovlivňuje např. teplota pyrolýzy [12].

2.1.2 Chemické složení

Jedná se o heterogenní látku bohatou na aromatický uhlík a minerály [13]. Organické složky biouhlu lze rozdělit do dvou hlavních částí: pevný uhlík a mineralizovatelný uhlík. Pevný uhlík je odolný vůči rozpadu po celá desetiletí až tisíciletí. Mineralizovatelný (někdy také označovaný jako labilní) uhlík je ve formě organických sloučenin, které jsou dostupné pro mikroorganismy a rostliny [8].

Biouhel je vysoce stabilní a skládá se z více jak 65 hm. % z uhlíku. Jeho přesné chemické složení je vysoce závislé na surovinách a podmínkách pyrolýzy [14]. Obecně složení biouhlu zahrnuje prvky jako uhlík, vodík, kyslík, dusík, síra, fosfor, draslík, vápník, hořčík, sodík a křemík. Jak již bylo zmíněno, nejvyšší zastoupení má uhlík, dále pak vodík a kyslík. Minerální prvky se vyskytují hlavně v popelu. Obsah draslíku, vápníku, hořčíku a sodíku se liší dle výběru biomasy, ze které byl biouhel vyroben. Dusík je přítomen hlavně na povrchu biouhlu v heterocyklické struktuře C–N. Uhlík v biouhlu je převážně aromatického charakteru. Je uložen v nepravidelných aromatických kruzích [15].

Povrchové funkční skupiny biouhlu

Biouhel obsahuje velké množství funkčních skupin. Většina z těchto funkčních skupin obsahuje kyslík (karboxylové, hydroxylové a karbonylové skupiny) nebo jsou alkalického charakteru. Díky těmto skupinám má biouhel dobré absorpční vlastnosti, hydrofobní i hydrofilní charakter a iontově-výměnnou kapacitu [15].

Počet funkčních skupin na povrchu biouhlu souvisí s teplotou karbonizace. S rostoucí teplotou karbonizace klesá počet C–O, C–H a O–H vazeb. Počet funkčních vazeb obsahujících kyslík (karboxylové, hydroxylové) také klesá, naproti tomu počet alkalických skupin roste. Počet a hustota funkčních skupin se tedy snižuje s rostoucí teplotou karbonizace [15].

2.2 Historie biouhlu

Záznamy o využití biouhlu jakožto tzv. půdního kondicionéru sahají od jeho přirozeného výskytu ve stepních černozemích až po tzv. *Terra Pretta* (portugalsky „černá země“). V 60. letech minulého století objevil vědec Wim Sombroek v brazilském povodí Amazonky půdu bohatou na černou hmotu. Tato půda v povodí Amazonky vznikla před více než

2500 lety technikou cílené aplikace dřevěného uhlí do půdy za účelem zlepšení její úrodnosti. Domorodí indiáni zde vyráběli dřevěné uhlí, které mísili s organickou hmotou a rozbitou keramikou. Tento produkt pak zapracovávali na svá pole. *Terra Preta* zůstává až do dnešního dne vysoce úrodná, a to i při malé nebo žádné aplikaci hnojiv. Obsah organických látek, dusíku, fosforu, draslíku a dalších rostlinných výživových prvků byl v této půdě v porovnání s okolní neošetřovanou půdou extrémně vysoký [15–17].

2.3 Výroba biouhlu

Biouhel se vyrábí pyrolýzou biomasy. Pyrolýza je proces, při kterém se organické látky štěpí při teplotách od 350 °C do 1000 °C a tento proces je doprovázen nízkým obsahem kyslíku [13]. Existuje velké množství biomas, které mohou sloužit jako výchozí surovina pro výrobu biouhlu. Jedná se o zbytky plodin, dřevěnou biomasu, stelivo pro zvířata a pevné odpady ze zemědělství a dalších průmyslových odvětví [18].

2.3.1 Pyrolýza

Pyrolýza je termochemický rozklad paliva za zvýšených teplot a bez přístupu (nebo za omezeného přístupu) vnějšího kyslíku. Tento proces začíná sušením biomasy. Produkt se dále zahřívá, což způsobuje uvolnění těkavých látek z pevného produktu. Tyto těkavé sloučeniny mohou tvořit permanentní plyny (jako jsou např. CO₂, CO, CH₄ a H₂) nebo kondenzovatelné organické sloučeniny (např. CH₃COOH a CH₃OH). Dále pak následují reakce v plynné fázi jako je krakování a polymerace [11].

Lze rozlišit tři produkty procesu: permanentní plyny, jednu či více kapalných fází (dehet a voda) a pevný zbytek. Reakční cesty produktů si částečně konkurují. Vznikající spektrum produktů může být tedy ovlivněno podmínkami procesu jako je teplota pyrolýzy a doba zdržení [11].

2.3.2 Vliv podmínek pyrolýzy na vlastnosti biouhlu

Vlastnosti biouhlu se dají ovlivnit změnou mnoha podmínek výrobního procesu. Největší vliv na změnu vlastností biouhlu při výrobním procesu má však teplota. Zejména pak poměrně úzké teplotní rozmezí od 200 °C do 400 °C [11]. Na vlastnosti výsledného produktu má také vliv doba, jakou bude pyrolýza probíhat a charakter zdrojové biomasy, ze které se biouhel pyrolýzou vyrábí [19].

Vliv rychlosti pyrolýzy

Podle rychlosti ohřevu a finální teploty dané pyrolýzou rozdělujeme pyrolýzu na pomalou a rychlou. Při pomalé pyrolýze teplota vzrůstá pozvolna a finální teplota se pohybuje okolo 800 °C. Při této pyrolýze vzniká 35 hm. % biouhlu, 30 hm. % oleje a 30 hm. % plynu. U rychlé pyrolýzy je teplotní nárůst rychlejší a vyznačuje se také krátkou dobou zdržení v reaktoru (v řádách sekund). Při rychlé pyrolýze se dosahuje vyšších teplot okolo 1200 °C. Při této pyrolýze vzniká 60–75 hm. % pyrolytického oleje, 15–25 hm. % biouhlu a 10–20 hm. % pyrolýzního plynu [20].

Vliv teploty pyrolýzy

Biouhel, který byl vyroben pyrolýzou při teplotě 300 °C má vyšší výtěžek uhlíku a dusíku ve srovnání se vzorky biouhlu, které byly vyrobeny při teplotách 400 a 500 °C a oproti výchozímu produktu. Naopak biouhel vyrobený pyrolýzou o teplotě 500 °C má snížený obsah uhlíku

a dusíku. Pokles dusíku souvisí se zvýšenou teplotou pyrolýzy, a s tím spojenou degradací labilních struktur a funkčních skupin obsahujících tento prvek a jeho následným přechodem, do plynné fáze během výrobního procesu. Těchto poznatků lze využít při navrhování vhodných podmínek pyrolýzy při výrobním procesu podle složení suroviny, kterou na výrobu biouhlu použijeme [19].

Pyrolýza při nižších teplotách (300 °C) vede k vyšším výtěžkům biouhlu v porovnání s pyrolýzou provedenou při vyšších teplotách (500 °C). Vysokoteplotní pyrolýza naopak vede ke snížení celkové hmoty pevného produktu, a tedy i ke sníženému výtěžku uhlíku v produktu, k velké povrchové ploše a k vysokých adsorpčním charakteristikám u vzniklého produktu. Biouhel připravený při 600 °C je vysoce těkavého charakteru, zatímco ten získaný při 400 °C měl zachované těkavé a snadno labilní sloučeniny. Biouhel získaný pyrolýzou v teplotním rozsahu 400–500 °C je složen z vysoce uspořádané aromatické uhlíkové struktury [59].

Teplota pyrolýzy také ovlivňuje velikost pórů biouhlu a plochu jeho povrchu. Zvýšená teplota obecně vede k větší velikosti pórů a tím k většímu povrchu biouhlu [12, 23].

2.3.3 Vliv charakteru použité biomasy na vlastnosti biouhlu

Použitá surovina může mít vliv jak na chemické složení, tak i na některé fyzikální vlastnosti. Mezi tyto fyzikální vlastnosti patří například specifický povrch a celkový objem pórů. Biouhel, který byl vyroben z manioku měl vyšší povrchovou plochu a větší objem pórů, než biouhel vyrobený z kukuřičných klasů [14].

Biouhel vyrobený z kukuřičných klasů má vyšší zastoupení uhlíku a vodíku, ale nižší zastoupení kyslíku. Naopak biouhel vyrobený z manioku má vysoký obsah kyslíku [14].

2.4 Vliv biouhlu na půdní charakteristiky

Půdy mají každá své vlastní odlišné fyzikální vlastnosti. Tyto vlastnosti se liší v závislosti na povaze minerální a organické hmoty, jejich relativním množství a způsobu, jakým jsou minerály a organická hmota spojeny. Pokud je v půdním systému přítomen biouhel, může významným způsobem ovlivňovat strukturu, texturu, pórovitost a konzistenci půdy prostřednictvím změny textury povrchu, distribucí velikosti pórů, distribucí velikosti částic a hustotou [7].

Vliv biouhlu na fyzikální vlastnosti půdy může mít přímý dopad na růst rostlin, protože hloubka průniku a dostupnost vzduchu a vody v kořenové zóně rostlin je dána převážně fyzikálním složením půdních horizontů [7].

Přítomnost biouhlu pozitivně ovlivňuje schopnost pojmout a udržet vodu v půdě a uchovat ji i pro období sucha. Zlepšuje také zadržování živin ve svých pórech a také na svém povrchu. Mezi další pozitivní vlastnosti biouhlu patří jeho schopnost vázat minerální látky a dusík (zvyšuje¹ KVK). Rovněž tlumí vyplavování těchto látek dešťovou vodou. Při rozkladu organické hmoty podporuje humifikaci oproti mineralizaci. Biouhel také ovlivňuje pH půdy.

¹ KVK – kationtově výměnná kapacita, vyjadřuje schopnost půdy poutat kationty, například kationty draslíku, dusíku, vápníku, hořčíku, dusíku a železa.

V jaké míře bude pH ovlivňovat záleží hlavně na druhu suroviny, ze které byl biouhel vyroben [16].

2.5 Vliv biouhlu na půdní mikroorganismy

Jak již bylo zmíněno v kapitole 2.3.2, biouhel získaný procesem nízkoteplotní pyrolýzy má vysoký obsah chemicky méně odolných látek. Tyto látky obsahují snadno rozložitelné substráty, které mohou podporovat růst rostliny [22].

Půdní mikroorganismy potřebují přístup ke vzduchu, minerálním látkám, vodě a živinám v organické hmotě, kterou rozkládají. Biouhel poskytuje prostor, kde se mohou tyto mikroorganismy usazovat a usnadňuje jim přístup k těmto potřebám. Biouhel v půdě působí dlouhodobě v řádů staletí až tisíciletí [16].

2.6 Využití biouhlu

Aplikace biouhlu jsou velmi různorodé. Lze ho využít na výrobu tepla a energie, při metalurgických aplikacích a při čištění spalin. Dále ho také lze využít v zemědělství a chovu zvířat, jako stavební materiál a nachází i lékařské uplatnění [11].

V zemědělství se biouhel využívá převážně jako půdní kondicionér. Biouhel v zemědělské půdě slouží ke zlepšení úrodnosti půdy a sekvestraci uhlíku. Před nástupem průmyslových hnojiv byl doporučován jako prostředek pro vylepšení půdy, zvýšení odolnosti půdy a rostliny proti suchu, chorobám a nedostatku živin. Osvědčil se také jako výživa pro orchideje, zahradní zeleninové výhonky, pro pěstování brambor, obilí a lučních porostů [16].

Zájem o použití biouhlu jako metody pro zmírnění účinků globálního oteplování neustále roste. Další jeho využití spočívá v jeho schopnosti dekontaminovat půdu od znečišťujících látek jako jsou pesticidy, těžké kovy a uhlovodíky. Také ho lze využít pro jeho schopnost pohlcovat zápach a využít ho tedy jako příměs do zahňvajících odpadů lidského, zvířecího a rostlinného původu [16, 22].

2.7 Půda

Jedná se o biologicky aktivní, porézní médium, které se vyvinulo v nejvyšší vrstvě zemské kůry. Půda je jedním z hlavních substrátů života na Zemi. Slouží jako rezervoár živin a vody, jako médium pro filtraci a rozklad škodlivých odpadů. Dále také představuje životní prostředí půdních organismů, slouží k pěstování kulturních rostlin a jako stanoviště planě rostoucí vegetace. Aktivně se účastní rovněž procesů cykлизace uhlíku a dalších prvků globálního ekosystému [24, 25].

Půdu lze také definovat jako samostatný přírodní útvar, které vznikl z povrchových zvětralin zemské kůry a organických zbytků za působení půdotvorných faktorů [25].

2.7.1 Vznik půdy

Geologická definice vzniku půdy říká, že půda je akumulace sypkého materiálu vzniklého na zemském povrchu mechanickým a chemickým zvětráváním hornin a obsahující různě velkou příměs organických látek [26].

Pedologická definice vzniku půdy říká, že půda je přírodní útvar, který se vyvinul z povrchových zvětralin zemské kůry a z organických zbytků [26].

Půda je tedy výsledek působení živých organismů žijících v půdě a na půdě, působení klimatu, podzemních vod a lidské činnosti na výchozí substrát v určitém čase. Procesu vzniku se říká zvětrávání, kdy na vzniku půdy se podílí kombinace fyzikálního, chemického a biologického zvětrávání [26, 27].

Fyzikální zvětrávání

Mechanické neboli fyzikální zvětrávání vede k rozpadu horniny na menší kousky, které mají stejné chemické vlastnosti jako původní hornina. Děje se tak díky změnám teploty, kdy hornina je ohřívána slunečním zářením. Změna teploty způsobuje změny objemu v hornině. K těmto změnám objemu však nedochází v celé hornině stejně, a tak dochází ke vzniku pnutí a tlaků. To způsobí vznik prasklin. Hornina je nakonec tedy roztrhána na menší kousky. Tyto kousky jsou pak dále unášeny vodou a větrem, otírají se o sebe navzájem a dále se rozrušují. V našich podmínkách navíc působí i zvětšování objemu vody v puklinách při zamrznutí, což také vede k vnitřnímu pnutí a tlaku a dochází k rozpadu horniny [26, 28].

Chemické zvětrávání

Fyzikální zvětrávání připravuje vhodné podmínky pro chemické zvětrávání. Do volných prostor vzniklých fyzikálním zvětráváním se dostane voda a vzduch. Díky tomu se mohou uplatnit procesy a faktory chemického zvětrávání. Zde dochází ke změnám fyzikálních a chemických vlastností za vzniku nových minerálních látek. Mezi hlavní pochody chemického zvětrávání patří rozpouštění, redukce, oxidace, hydratace, hydrolyza a karbonatizace [26, 28].

Biologické zvětrávání

Jedná se o zvětrávání podmíněné činností organismů, které vyvolávají biochemická a mechanický rozklad horniny. Příklad biologického zvětrávání jsou např. rostliny zapouštějící kořeny do puklin. Patří zde také lišejníky, které uvolňují kyseliny. Ty rozpouštějí minerály a pomáhají tak při tvorbě půdy. Dalším příkladem jsou živočichové, kteří si vyhrabávají své nory [28, 29].

2.7.2 Stavba a složení půdy

Půda je trojfázový systém, tedy obsahuje jak plynnou, kapalnou tak i pevnou fázi. Skládá se z organické hmoty, minerálních složek, vody, plynů a organismů (edafonu). Ilustrační složení půdního profilu je zobrazeno na Obrázku 1 [26, 27].



O - Nadložní organický horizont

A - Humusový horizont

B - Minerální horizont

C - Půdotvorný substrát

R – Mateční hornina

Obrázek 1: Půdní profil [30].

2.7.3 Vlastnosti půdy

Stavba a složení půdy jsou výsledkem působení klimatu a živých organismů žijících na a v půdě. Mezi hlavní fyzikální vlastnosti půdy patří struktura, textura barva a obsah vody a vzduchu. U struktury se zaměřuje na velikost a tvar půdních částic a na volné prostory mezi nimi (tzv. póry). Textura je ovlivňována zastoupením jednotlivých frakcí v půdě, konkrétně podíl jednotlivých velikostí částic. Této vlastnosti se také říká zrnitost půdy. Barvu půdy ovlivňuje přítomnost barvitých složek. Sloučeniny železa způsobují žlutý, hnědý a červený odstín půdy, sloučeniny manganu zase hnědočerné až nafialovělé. Uhličitan vápenatý a kaolit stojí pak za bílým, šedým a žlutým zbarvením. Humus zabarvuje dle množství půdu do hněda až černa [27].

2.7.4 Funkce půdy

Jak již bylo zmíněno v předchozí kapitole 2.7.1, půda plní celou řadu důležitých funkcí. Mezi nejvýznamnější patří zejména: [25]

- zásobárna vody pro suchozemské rostliny a mikroorganismy,
- substrát pro růst rostlin a základní článek potravního řetězce,
- poskytuje životní prostředí mikroorganismům,
- zajišťuje stabilitu ekosystémů,
- ovlivňuje bilanci látek a energie,
- zdroj základních složek stavebních materiálů a surovin,
- poskytuje prostor pro umístování staveb, pro rekreační činnost a další aktivity člověka.

2.7.5 Vztah mezi půdou a rostlinou

Půda je přirozeným místem pro všechny suchozemské rostliny, vyvíjející kořeny v půdním prostoru, které je ukotvují v půdě. Prostřednictvím svého kořenového systému rostlina absorbuje vodu, kyslík a živiny z půdy. Aby tedy rostlina měla vhodné podmínky pro svůj růst, musí půda být schopna uchovat dostatečné množství dostupné vody pro rostliny a zajišťovat dostatečnou výměnu plynu. Zároveň také půda musí obsahovat dostatečně velké množství dostupných rostlinných živin [31].

Rostlinné živiny jsou chemické látky, které jsou potřebné pro normální životní pochody rostlin. Rostlina přijímá minerální živiny ve formě iontů z půdního roztoku. Pro získávání živin rostliny používají kořeny, případně je také mohou získávat za pomoci listů. Živiny, které rostlina z půdy přijímá, se dělí do tří základních skupin [32]:

- základní biogenní prvky (H, C, O),
- makroelementy-hlavní živiny (N, K, Ca, Mg, P, S),
- mikroelementy-stopové prvky (B, Fe, Mn, Zn, Cu, Mo).

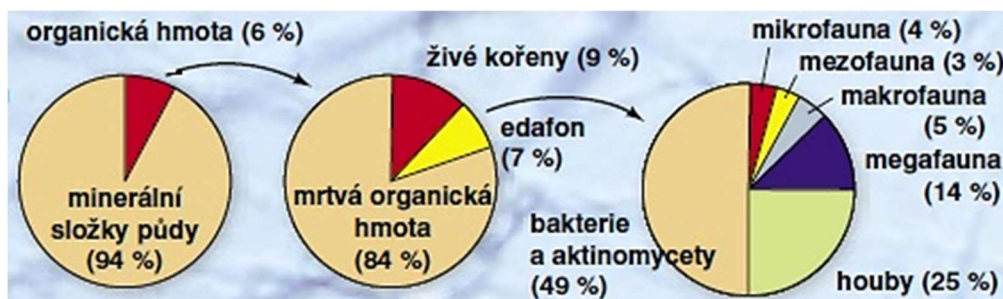
2.7.6 Rhizosféra

Jedná se o část půdy, kde se spolu setkávají půdní mikroorganismy a kořeny rostlin. Jedná se o kombinaci latinských slov „kořen“ a „oblast“. V rhizosféře rostliny vytvářejí různé chemické sloučeniny zvané exsudáty, které uvolňují prostřednictvím svých kořenů. Kromě toho, že exsudáty pomáhají rostlinám se získáváním živin, jsou také zdrojem potravy pro mikroby, které jsou důležitou součástí půdního mikrobiomu. Mikroorganismy využívají tyto látky spolu sestávající půdní organickou hmotou pro svůj růst, kdy přitom uvolňují živiny, které jsou naopak přijímány kořeny. Exsudáty také hrají důležitou roli při udržování půdy pohromadě [33, 34].

Kořenové exsudáty nevydrží v půdě dlouho ve své původní podobě. Působením mikrobů jsou exsudáty buď přeměněny na sloučeniny schopné vázat půdní částice nebo jsou spotřebovány. Chemické reakce mezi exsudáty a částicemi půdy se liší podle typu půdy [34].

2.8 Půdní organismy

V půdě se nachází rozsáhlá živočišná společenstva, která jak početně, tak významem hrají důležitou roli v každém ekosystému. Většina půdních organismů (souhrnně nazývaných půdní edafon) je lidskému zraku pro své nepatrné rozměry skryta. Vzhledem k jejich drobným rozměrům sice představují velmi malou část půdní organické hmoty (1–10 % organické hmoty v půdě) oproti jejímu celkovému objemu (viz Obrázek 2), ale jejich význam pro kvalitu a zdraví půdy je obrovský. Bez jejich přítomnosti by nemohla probíhat přeměna organických látek. Půdní organismy také zpřístupňují rostlinám živiny, mají přímý vliv na půdní strukturu a napomáhají odolnosti půdy vůči negativním jevům (např. eroze, odstraňování polutantů a desertifikace). Jejich přítomnost v půdě je nezbytná pro půdní funkce [5, 35, 36].



Obrázek 2: Zastoupení půdních organismů v půdní organické hmotě (v hmotnostních procentech) [37].

Mezi půdní organismy se zahrnují nejrůznější formy a stupně organizace od virů, archeí, bakterií, mikroskopických hub, řas a sinic, dále také prvoky a nižší živočichy až po drobné obratlovce [38].

2.8.1 Půdní mikroorganismy

Organismy, které jsou viditelné pouze za pomoci mikroskopu se nazývají mikroorganismy. Z výše zmíněných zástupců zde patří bakterie, prvoci, řasy a houby. Ačkoli viry nejsou považovány za živé organismy, někdy jsou také klasifikovány jako mikroorganismy [39].

Mikroorganismy jsou zodpovědné za koloběh prvků v přírodě. Jejich hlavní funkcí je dekompozice organické hmoty včetně těl mikrobů. Během procesu dochází k tvorbě nových mikrobiálních buněk a k vytváření nových organických látek jako je např. humus [40]. Některé z mikroorganismů, jako jsou mykorhizní² houby nebo symbiotické bakterie fixují dusík a napomáhají tím rostlině tak, že zlepšují její minerální výživu. Půdní mikroorganismy se také účastní procesů jako jsou oxidace, nitrifikace, amonifikace [41].

2.8.2 Rozdělení půdní bioty

Půdní edafon je rozsáhlý soubor organismů a lze ho rozdělit dle několika kritérií [5, 36]:

Místo výskytu:

- epigeon – organismy žijící na povrchu půdy (např. hmyz),
- hemiedafon – organismy obývající svrchní vrstvy půdy (např. stonožky, mnohonožky),
- euedafon – organismy obývající hlubší vrstvy půdy (např. žížaly, krtci).

Velikost:

- mikroedafon – organismy menší než 0,2 mm (např. řasy, lišejníky, sinice, bakterie, houby, prvoci, hlístice, roztoči),
- mezoedafon – organismy o velikosti 0,2–2 mm (např. rybenky, roupice),
- makroedafon – organismy o velikosti 0,2–20 mm (např. žížaly, plži, brouci),
- megaedafon – organismy větší než 20 mm (např. větší druhy žížal, obratlovci).

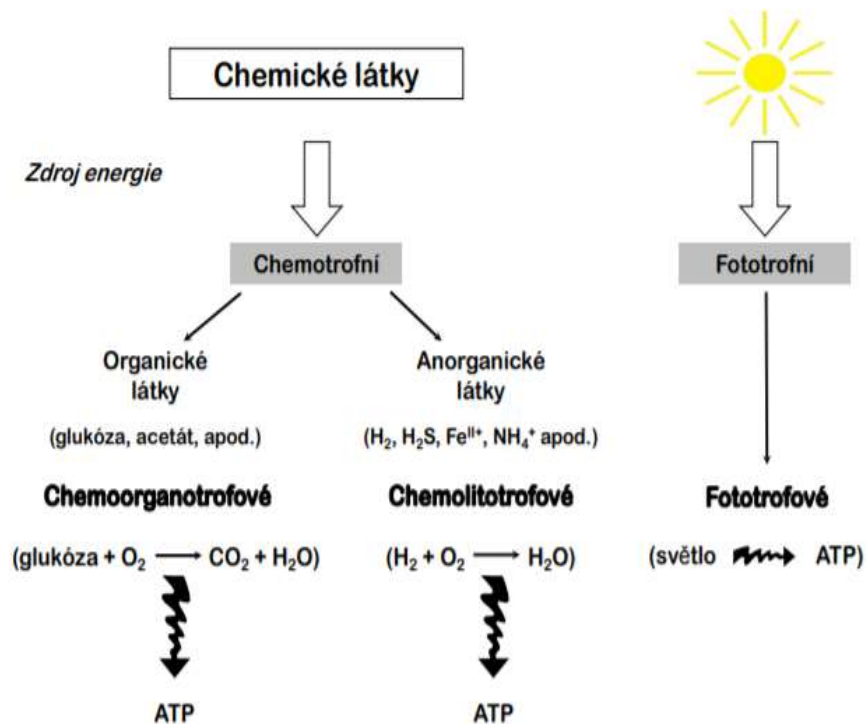
Trofické vztahy:

- autotrofové – organismy schopné přeměňovat anorganický uhlík na organický,
- fytofágové – organismy konzumující rostlinnou biomasu,
- saprofágové – organismy živící se odumřelou organickou hmotou,
- zoofágové – organismy konzumující jiné živočichy.

Zastoupení jednotlivých skupin půdního edafonu v půdě se proměnlivě mění v závislosti na půdních vlastnostech. Chemické a fyzikální vlastnosti ovlivňují rozvoj a početnost jednotlivých skupin organismů. Dalšími důležitými faktory jsou také obsah živin v půdě, vlhkost a teplota půdy [5].

Mikroorganismy využívají tři různé zdroje energie: anorganické látky (chemoautotrofní organismy), organická látka (chemoorganotrofní organismy) a sluneční záření (fototrofní organismy). Toto rozdělení je zobrazeno na Obrázku 3. Organismy získávají H^+ a elektrony ($NADH_2$) z redukováných organických (organotrofové) a anorganických látek (litotrofové) [42].

² Mykorhiza – vzájemné soužití kořenů vyšších rostlin se specifickou skupinou půdních hub



Obrázek 3: Rozdělení půdních mikroorganismů podle zdroje energie [42].

Dalším možným rozdělením je podle potřeby kyslíku. Velké skupiny mikroorganismů si vyvinuly metabolické dráhy tak, aby mohly žít v podmínkách snížené koncentrace nebo úplné absence kyslíku. Aerobní mikroorganismy mohou přežít pouze v prostředí s kyslíkem. Anaerobní mikroorganismy využívají alternativní metabolické dráhy, protože kyslík je pro ně toxický. Mezi tyto alternativní metabolické dráhy patří fermentace, metanogeneze a oxidace síry [42].

3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Biouhel se využíval jako půdní hnojivo již před tisíci lety. Existují také zemědělci, kteří přidávají uhlí do půdy, protože tento postup zdědili po předcích. Hlavní výhody aplikace biouhlu souvisejí s jeho pozitivním vlivem na vlastnosti půdy v několika různých směrech. Obsahuje důležité živiny, které se následně mohou postupně uvolňovat do půdy, díky své poréznosti zadržuje v půdě vlhkost a napomáhá půdě se provzdušňovat. Jeho pórovitá struktura a velký vnitřní povrch poskytuje útočiště pro rozmanité kolonie mikroorganismů [1]. Pro nadefinování jeho správné dávky a časového horizontu působení v půdě je však zapotřebí se také zaměřit na studium jeho degradace v půdě a na definování jednotlivých činitelů, které mohou k jeho degradaci přispívat. Důležitým parametrem souvisejícím s aplikací do půd je rovněž jeho působení na půdní mikroorganismy, protože bez nich by půda svou kvalitu ztratila.

Biouhlem se nazývá biomasa, která se za pomoci chemických či tepelných procesů přemění do formy, která je prokazatelně odolnější vůči mikrobiální degradaci než původní biomasa. Poté, co je biouhel umístěn do půdního systému, je podroben fyzikálně-chemické a mikrobiální degradaci. Fyzikálně-chemickou degradaci představuje jednak opakované promývání biouhlu půdní vodou a půdními roztoky (souvisí s cykly srážek a závlahy) a dále také působení rostlin, konkrétně kořenů rostlin, kdy dochází k vylučování tzv. kořenových exsudátů, které následně působí na biouhel aplikovaný v půdě [43, 44].

Vlivem mikrobiální degradace na stabilitu biouhlu se zabýval Ameloot a kol. [45]. Odebrali vzorky půdy z biouhlem ošetřených kontrolních stanovišť. Použili 4 různá stanoviště, která se lišila strukturou půdy (písčítá, jílová, sprašová) a délkou působení biouhlu (od 7 měsíců do 4 let). Dále pak použili na vzduchu vysušené předinkubované vzorky půdy, které byly inkubovány při 15 °C po dobu 8–9 týdnů a sledovaly se emise oxidu uhličitého. Následně určili aktivitu enzymů půdní β -glukosidázy a dehydrogenázy a za pomoci PLFA³ analýzy kvantifikovali celkovou půdní mikrobiální biomasu a strukturu společenstva. Analýza ukázala, že půdní mikrobiální aktivita buď nebyla ovlivněna nebo inhibována v různém rozsahu na plochách upravených biouhlem. Autoři této publikace rovněž předpokládají, že by bylo nepravděpodobné, aby biouhel působil jako substrát 1–4 roky po začlenění do terénu.

Spokas a kol. [44] se zaměřili na mineralizaci a fyzikální degradaci biouhlu. Využili uměle i přirozeně zvětralé vzorky biouhlů a pomocí SEM charakterizovali fyzikální zvětrávání, které způsobovalo rozestupy mezi jednotlivými strukturními segmenty v důsledku expanze doprovázející sorpci vody, zmrazování – rozmrazování a také vysychání a opětovné smáčení. Jak se od sebe tyto strukturní komponenty rozestupují (odlupují), čím dál více dochází k urychlení fyzikálního rozkladu biouhlu. Také zjistili, že záleží i na struktuře půdy. Jílové částice půdy uzavíraly póry a prostory mezi strukturními segmenty, což vedlo k omezení fyzikální degradace. Upozorňují také na potřebu vyrábět biouhel, který bude vůči fyzikální degradaci odolný, aby se maximalizovaly účinky biouhlu, jakožto půdního kondicionéru [44].

Degradaci biouhlu se také zabýval Liu a kol. [46]. Využívali techniku simulované oxidace ke zkoumání dopadu degradace biouhlu na jeho povrchové vlastnosti. Simulovali krátkodobou

³ PLFA analýza – analýza fosfolipidových mastných kyselin půdních mikroorganismů.

i dlouhodobou degradaci probíhající v přírodě, kdy použili jak mírnou, tak i tvrdou degradaci. Mírnou degradaci simulovali aerobní inkubací při 30 °C. Simulace tvrdé degradace byla provedena koncentrovanou kyselinou dusičnou. Došli k závěru, že po mírné degradaci vzorky biouhlu vykazovaly významné snížení plochy povrchu a objemu pórů. Po tvrdé degradaci došlo ke změnám v chemickém složení na povrchu biouhlu. Zároveň také došlo ke změně plochy povrchu biouhlu, ke změně objemů jeho pórů a rovněž nastala i změna v oblasti morfologie a adsorpčních vlastností. Předpokládají tedy, že povrchové vlastnosti biouhlu se pravděpodobně mění postupně během expozice životního prostředí a že tyto změny mají potenciální účinky na změnu fyzikálně-chemických vlastností půd upravených biouhlem [46].

Na téma degradace biouhlu se rovněž zaměřil Rechberger a kol. [47]. Provedli inkubační experimenty v kyselém planosolu a ve vápenaté černozemi. Experimenty provedené na biouhlu po inkubaci ukázaly, že se po čase zvyšuje drsnost jeho povrchu. Středně-infračervená spektra také ukázala, že dochází ke změnám v molekulárních charakteristikách biouhlu. Došlo k nárůstu infračervených pásů, které odpovídají funkčním skupinám obsahujícím H a O, zejména karboxylovým skupinám. Měření kontaktního úhlu odhalilo, že původně hydrofobní povrch biouhlu se během inkubace v půdě stal hydrofilnějším. Došli tedy k závěru, že stárnutí biouhlu je ovlivněno půdními vlastnostmi a kyselejší prostředí tyto procesy stárnutí urychluje [47].

Haider a kol. [48] poukazují na to, že schopnost biouhlu zadržovat dusík v zemědělských půdách je sice prokázána, ale špatně pochopena. Pro své experimenty použili standardní extrakční metody. Extrakci prováděli na vzorcích biouhlu z půdních a polních kultivačních experimentů, kdy použili jak různé dávky biouhlu v půdě, tak i dva různé režimy zavlažování (zavlažování manuální a zavlažování deštěm). Extrakci provedli v roztoku KCl a provedli deset opakování. Došli k závěru, že zachytávání dusičnanů pomocí biouhlu může napomoci ke snížení vyplavování dusičnanů v reálných podmínkách v půdě [48].

Extrakcí biouhlu se také zabývali Lou a kol. [49], kteří extrahovali biouhel v horké vodě a testovali účinek těchto extrátů na růst čínské zelí. Extrakty rovněž charakterizovali na anorganické prvky pomocí ICP-MS a organické sloučeniny pomocí LC-OCD a FTIR. Došli k závěrům, že extrakt z biouhlu má velký potenciál jako tekutý doplněk v zemědělství [49].

Cílem rešerše bylo také určit jaké roztoky budou při extrakcích použity, aby se nasimulovalo půdní prostředí, které může působit na biouhel při jeho využití jakožto půdní kondicionér. V bakalářské práci [50] na kterou tato práce navazuje, a která se zabývala studiem vlivu aplikace biouhlu na organickou hmotu v půdě a na růst modelové rostliny, se využívala kukuřice setá (*Zea Mays*) jakožto modelová rostlina při kultivacích. Proto se dále tato práce dále zaměřuje na kukuřici setou a její exsudáty, jakožto simulaci půdního prostředí s aplikovanou kukuřicí setou (*Zea Mays*). Pro kultivační experimenty s biouhlem využili kukuřici setou také (*Zea mays*). Butnan a kol. [51]. Ve svém experimentu se zaměřili na vliv podmínky pyrolýzy na vlastnosti biouhlu a následnou úrodnost půdy použili v kultivačních experimentech zmiňovanou kukuřicí setou (*Zea mays*). Došli k závěrům, že biouhel vyroben za nižší teploty pyrolýzy (350 °C) měl nižší obsah popela než biouhel připravený pyrolýzou za vyšší teploty (800 °C). Oba typy biouhlu rovněž zvýšily koncentraci rozpustného Mn v půdě

[51]. Gaskin a kol. [52] se ve své práci zaměřili na vyhodnocení účinku biouhlu z arašídových slupek a borovicové štěpky na stav živin kukuřice seté (*Zea mays*). Biouhel z arašídových slupek zvyšoval množství K, Ca a Mg v povrchové půdě (0–15 cm). Také došlo k navýšení obsahu K v rostlinné tkáni kukuřice seté (*Zea mays*) v prvním roce experimentu. Biouhel z borovicové štěpky snížil pH půdy, ale neměl žádný vliv na jiné živiny kromě Ca [52].

V práci od autorů Polák a kol. [53] se zmiňuje, že v případě kukuřice seté (*Zea mays*) se v rizosféře vyskytuje kyselina citronová ($4\text{--}17 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$). Tito autoři se zaměřili na organické kyseliny s nízkou molekulovou hmotností v půdním prostředí a provedli jejich shrnutí [53].

Také práce od Adudu a kol. [54] potvrzuje spojitost mezi kukuřicí setou (*Zea mays*) a kyselinou citronovou. Autoři této publikace se zaměřili na využití kukuřičného stonku při výrobě kyseliny citronové submerzní fermentací pomocí *Aspergillus niger* izolovaného z půdy. V práci je dále studován vliv zdroje uhlíku, zdroje dusíku, teploty, pH, inkubační doby a methanolu na produkci kyseliny citronové. Došli k závěrům, že prášek z kukuřičných stonků smíchaný s 50 % sacharózy a 1 g dusičnanu amonného poskytl nejvyšší výtěžek kyseliny citronové ve srovnání s ostatními zdroji uhlíku a dusíku. V případě pH a teploty, tak nejvyšší výtěžnosti se dosáhlo 7. dne fermentace při pH 5 a teplotě 30 °C [54].

Pro simulaci půdního prostředí s působením modelové rostliny kukuřice seté (*Zea Mays*) byla dle literární rešerše vybrána kyselina citronová, která je zmiňována jako modelový kořenový exsudát této rostliny.

4 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce je definovat a experimentálně ověřit jednotlivé činitele, které mohou na biouhel působit v půdě po jeho aplikaci jakožto půdní kondicionér a mohou způsobovat jeho degradaci.

V první části práce tak je cílem vypracovat literární rešerši zaměřující se na problematiku působení jednotlivých půdních činitelů, které mohou způsobovat degradaci struktury biouhlu. Je třeba zaměřit se na optimalizaci experimentů, které by vliv mikroorganismů prokázaly. Pro tyto účely je zapotřebí určit vhodnou řadu roztoků a optimalizovat jejich koncentrace tak, aby bylo vhodně simulováno působení v půdě. V závěrečné části práce je cílem porovnat získané výstupy s daty naměřenými na biouhlech, které byly definovanou dobu kultivovány v půdě, což rovněž poskytne informaci o mikroorganismů na charakteristiky biouhlu a na vyluhování látek z biouhlu.

Výsledkem diplomové práce je posouzení vlivu jednotlivých činitelů, které mohou způsobovat degradaci biouhlu v půdě, diskuze vlivu mikroorganismů a vyhodnocení těchto vlivů vzhledem k praktickému využití biouhlu jakožto půdního kondicionéru v zemědělství.

5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1 Použité chemikálie, přístroje a pomůcky

Chemikálie

- Biouhel Sonnenerde GmbH (Bio Pflanzenkohle, Rakousko)
- Biouhel NovoCarbo GmbH (NovoTerra, Německo)
- Dihydrát síranu vápenatého $\geq 99\%$ (PENTA, s.r.o.)
- Síran hořečnatý $\geq 99,5\%$ (SIGMA-ALDRICH, s.r.o.)
- Chlorid sodný $\geq 99,9\%$ (PENTA, s.r.o.)
- Síran draselný (LACHEMA, a.s.)
- Dusičnan amonný (LACHEMA, a.s.)
- Kyselina sírová 96% (Lach-Ner, s.r.o.)
- Kyselina citronová bezvodá $\geq 99,3\%$ (PENTA, s.r.o.)

Přístroje a pomůcky

- Váhy, $d=0,0001$ g, (SCALTEC SBC 31)
- Váhy, $d=0,01$ g, (MERCY, s.r.o.)
- Sušárna (ECOCELL, BMT)
- Magnetická míchačka (Variomag Poly, MERCY, s.r.o.)
- pH metr (S20 Seven Easy, METTLER TOLEDO)
- Konduktometr (S30 Seven Easy, METTLER TOLEDO)
- Vývěva membránová (LABOPORT KNF)
- Lyofilizátor (4KBTZL-105, BENCHTOP K)
- Spektrofotometr (U-3900H, HITACHI)
- Termogravimetrický analyzátor (Q5000, TA Instruments)
- ICP-OES (Horiba Scientific, Palasieu)
- Rastrovací elektronový mikroskop (ZEISS EVO LS 10)
- Spektrometr (Nicolet iS50, Thermo Fisher Scientific)
- Laboratorní pipeta (Eppendorf Researcher Plus nastavitelná 1–10 ml)
- Třepačka (Heidolph VIBRAMAX 100)
- Ruční impulsní svářečka (C & C Líně spol. s r.o.)
- Polypropylenová tkanina
- Běžné laboratorní sklo a pomůcky

5.2 Charakteristika vlastností použitých biouhlů

Pro experimentální část této práce byly použity dva druhy biouhlů. Výrobcem prvního druhu biouhlu je rakouská firma Sonnenerde GmbH (dále v práci označován jen „Sonnenerde“). Tento biouhel byl vyroben z kukuřičných a slunečnicových slupek a z ovocného kalu. Pyrolýza probíhala 20 minut a dosahovala teploty maximálně 650 °C. Druhý vzorek biouhlu je od německé firmy NovoCarbo GmbH a byl vyroben ze štěpky z měkkého dřeva⁴ (dále v práci označován jen „NovoTerra“). Pyrolýza dosahovala maximální teploty 720 °C a trvala 10 minut. V obou případech se jedná o certifikované vzorky biouhlů, které drží evropský certifikát (European biochar certificate [55]) a splňují normy použití v zemědělství.

⁴Do třídy měkkých dřev patří např. smrk, borovice, vrba, topol, jedle, lípa, olše a další.

5.3 Předpříprava vzorků pro experimenty bez předchozích kultivace

Vzorky biouhlů studované v experimentální části práce bylo zapotřebí předpřipravit pro vyluhovací extrakční experimenty, které byly realizovány jednak ve formě jednorázového vyluhování sadou extrakčních činidel (na základě literární rešerše zvolena destilovaná voda, modelová dešťová voda a vodný roztok kyseliny citronové – postup přípravy viz kapitola 5.4) a dále také dlouhodobým sekvenčním vyluhováním (použita stejná sada extrakčních činidel). Na oba experimenty byly použity stejné vzorky biouhlu. Oba vzorky biouhlu byly umístěny do sušárny, která byla nastavena na 50 °C a byly sušeny po dobu 10 dnů.

Pro sekvenční extrakční experimenty byly vyrobeny pytlíky z porézní polypropylenové tkaniny, které byly svařeny pomocí ruční impulsní svářečky. Tato tkanina byla volena proto, že díky velikosti svých pórů nepropouští pevné částice biouhlu, ovšem může docházet k promývání pevného vzorku obsaženého uvnitř připraveného pytlíku použitými extrakčními činidly. Do pytlíků bylo naváženo požadované množství biouhlu (viz Tabulka 1) pro dlouhodobý sekvenční experiment i pro jednorázové vyluhování ve zvolených extrakčních činidlech.

Pytlíky s biouhly byly před samotnými extrakcemi opět vysušeny v sušárně při 50 °C po dobu 7 dnů, aby se zamezilo nadbytečné vlhkosti v samotných vzorcích.

Tabulka 1: Označení vzorků a navážky biouhlu pro dlouhodobé sekvenční vyluhování i krátkodobé jednorázové vyluhování biouhlů v jednotlivých použitých prostředích.

vzorek	dlouhodobý sekvenční experiment		jednorázové vyluhování	
	označení	m_{biouhel} [g]	označení	m_{biouhel} [g]
Sonnenerde v ultračisté destilované vodě	SV1	0,99	SVA	1,00
	SV2	1,01	SVB	1,00
	SV3	1,01	SVC	0,99
	SV4	1,16	–	–
	SV5	1,16	–	–
NovoTerra v ultračisté destilované vodě	NV1	0,96	NVA	0,99
	NV2	1,01	NVB	0,91
	NV3	1,00	NVC	0,96
	NV4	1,00	–	–
	NV5	0,99	–	–
Sonnenerde v modelové dešťové vodě	SD1	1,25	SDA	1,01
	SD2	0,99	SDB	0,99
	SD3	0,91	SDC	1,01
	SD4	1,02	–	–
	SD5	1,01	–	–
NovoTerra v modelové dešťové vodě	ND1	0,99	NDA	0,97
	ND2	0,99	NDB	0,96
	ND3	1,00	NDC	0,97
	ND4	0,99	–	–
	ND5	1,06	–	–
Sonnenerde v kyselině citronové	SK1	1,03	SKA	1,00
	SK2	0,99	SKB	1,01
	SK3	1,05	SKC	1,00
	SK4	1,00	–	–
	SK5	1,22	–	–
NovoTerra v kyselině citronové	NK1	0,99	NKA	0,96
	NK2	0,99	NKB	0,98
	NK3	0,97	NKC	0,98
	NK4	0,99	–	–
	NK5	0,99	–	–

5.4 Sekvenční vyluhování látek z biouhlu

Cílem diplomové práce bylo pomocí jednoduchého laboratorního vyluhovacího experimentu určit a experimentálně ověřit vliv jednotlivých půdních činitelů, které mohou způsobovat degradaci struktury biouhlu. Pro tyto účely bylo zapotřebí simulovat půdní prostředí bez přítomnosti mikroorganismů a následně také posoudit vliv působení mikroorganismů na degradaci biouhlu. Z tohoto důvodu byla provedena laboratorní simulace procesů probíhajících v půdním prostředí. Simulace se skládala ze dvou částí. První část je zaměřená na jednoduché vyluhování látek. Pro tyto účely byla použita ultračistá destilovaná voda a modelová dešťová voda. Tato část experimentu měla za cíl simulovat půdní prostředí po dešti, resp. po zalití půdy. Modelová dešťová voda složením i pH představuje průměrnou dešťovou vodu v Brně. Její složení (viz Tabulka 2) bylo získáno fyzikálně-chemickým rozbořem, kdy bylo zjištěno její pH, obsah iontů a tvrdost.

Tabulka 2: Chemické složení modelové dešťové vody.

Chemická sloučenina	Koncentrace [$\mu\text{mol/l}$]
CaSO ₄	9,0
MgSO ₄	2,5
NaCl	10,0
NH ₄ NO ₃	40,0
K ₂ SO ₄	2,5

Druhá část byla zaměřená na působení nízkomolekulárních organických kyselin, které reprezentují vliv kořenových exsudátů, což jsou látky, které jsou vylučovány kořeny rostlin do půdy a dle literární rešerše rovněž napomáhají degradaci biouhlu v půdě. Pro tento účel byla vybrána kyselina citronová, protože simuluje kořenové exsudáty kukuřice seté (*Zea Mays*), která byla rovněž použita při dlouhodobých kultivačních experimentech. Její koncentrace dle rešerše byla určena jako 15 $\mu\text{mol/g}$ (biouhlu).

Tyto získané experimentální výstupy jsou v práci porovnány se vzorky biouhlů, které byly podrobeny dlouhodobému kultivačnímu experimentu, který probíhal v rámci probíhajícího výzkumu na FCH VUT. Při experimentech byla použita modelová rostlina kukuřice setá (*Zea Mays*), která byla v opakovaných cyklech pěstována ve fluvizemi a v písčité půdě při dávce 10 g biouhlu na 1 kg půdy. Kultivační experimenty probíhaly po dobu 2 let v podmínkách řízené atmosféry a řízeného zavlažování. Nastavení experimentů více popsáno ve zdroji [50]. Tyto vzorky biouhlů představují materiály, které byly podrobeny degradaci v půdě působením dvou výše zmíněných vlivů (fyzikálně-chemické vyluhování a působení kořenových exsudátů) a rovněž degradaci způsobení činností půdních mikroorganismů. Porovnáním dat z vyluhování na vzorcích biouhlů po kultivaci spolu s daty získanými sekvenčním vyluhováním vodnými roztoky (ultračistá destilovaná voda a modelová dešťová voda) a vyluhováním pomocí modelového kořenového exsudátu bude možné posoudit, který z uvedených postupů degradace biouhlů je za daných podmínek v použitých půdách (fluvizem a aridní písčité půda) dominantní.

5.4.1 Dlouhodobé sekvenční louhování látek z biouhlu

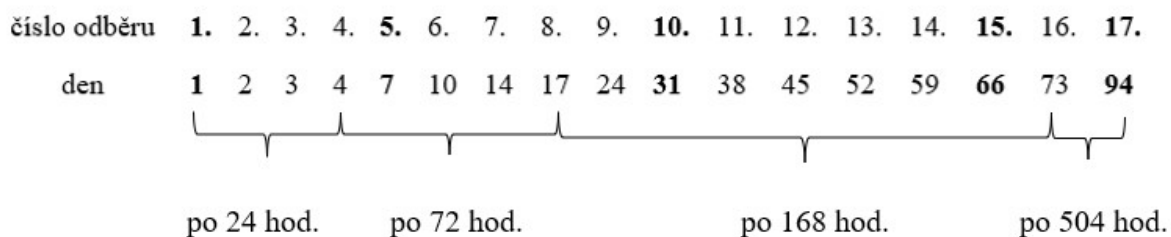
Do předem označených zkumavek byl vždy umístěn jeden příslušný pytlík s naváženým biouhlem. Tento pytlík byl při prvním louhování přelit 20 ml příslušného roztoku (ultračistá destilovaná voda, modelová dešťová voda nebo roztok kyseliny citronové). Zkumavky se vzorky se umístily na třepačku a byly třepány při laboratorní teplotě, rychlostí 600 RPM po dobu 24 hodin.

U roztoků použitých pro extrakce bylo změřeno pH a vodivost daných roztoků (Tabulka 3).

Tabulka 3: pH a vodivost použitých zdrojových extrakčních roztoků.

roztok	pH [-]	σ [$\mu\text{S}/\text{cm}$]
ultračistá destilovaná voda	6,65±0,02	0,06±0,01
modelová dešťová voda	5,18±0,01	439±3
Kyselina citronová	4,11±0,02	5,26±0,11

Pro lepší orientaci v popisu dlouhodobého experimentu je na Obrázku 4 znázorněn průběh experimentu. Je zde znázorněno, v jaký den byl prováděn odběr. Tučně zvýrazněné dny a odběry jsou ty, kdy bylo prováděno i měření pomocí UV-VIS spektrofotometru.



Obrázek 4: Znázornění průběhu dlouhodobého sekvenčního vyluhovacího experimentu.

Po 24 hodinách byl roztok ze zkumavky přelit do nové popsané zkumavky. U výluhů bylo změřeno pH a vodivost. Dále byly výluhy přefiltrovány za sníženého tlaku a proměřeny na UV–VIS spektrofotometru v rozsahu vlnových délek 200–600 nm. Tyto roztoky byly viditelně nažloutlé. Po proměření byly vzorky umístěny do mrazáku, aby se předchystaly na následující vysušení pomocí lyofilizace pro následné stanovení výtěžku.

Ke vzorkům ve zkumavkách bylo nadávkováno 10 ml příslušného extrakčního roztoku, a vzorky byly umístěny na třepačku za stejných podmínek. Tentokrát se oproti prvnímu louhování dávalo poloviční množství roztoku, protože předsušené vzorky do sebe pohltily určitou část roztoku.

Po 24 hodinách byly roztoky po 2. extrakci opět přelity do čistých zkumavek a bylo změřeno jejich pH a vodivost. Vzorky biouhlu ve zkumavkách byly přelity 10 ml příslušného roztoku a byly umístěny na třepačku za stejných podmínek jako dříve (podmínky viz kapitola 5.4.1). Žluté zbarvení roztoků již nebylo tak výrazné.

Roztoky po 3. a 4. extrakci byly po 24 hodinách přelity do čisté zkumavky a byl na nich aplikován postup jako při 2. extrakci.

Roztoky po 5. extrakci byly po 72 hodinách od 4. extrakce přelity do čistých zkumavek a bylo změřeno jejich pH a vodivost. Následně byly obdobně jako při prvním odběru připraveny a analyzovány pomocí UV-VIS spektrofotometru za podmínek jako při 1. extrakci (podmínky viz kapitola 5.4.1). Po doměření byly roztoky umístěny do mrazáku jako předpříprava na lyofilizaci. Vzorky biouhlu ve zkumavkách byly přelity 10 ml příslušného roztoku a byly umístěny na třepačku za stejných podmínek (podmínky viz kapitola 5.4.1). Roztoky se ponechaly na třepačce po dobu 72 hodin.

Následné odběry byly realizovány dle časového schématu uvedeném na Obrázku 4. Při 6–9., 11–14. a 16. odběru byly měřeno pouze pH a vodivost výluhu a při odběrech č. 10 a 15 byly vzorky navíc připraveny a následně instrumentálně charakterizovány pomocí UV–VIS. Vzorky výluhů byly vymrazeny a vysušeny pomocí lyofilizace pro určení výtěžků těchto výluhů.

Roztoky po 17. extrakci byly změřeny na pH metru a konduktometru. Následně byly přefiltrovány za sníženého tlaku a proměřeny na UV–VIS spektrofotometru za stejných podmínek jako po 1., 5., 10. a 15. extrakci (podmínky viz kapitola 5.6.1). Změřené roztoky byly umístěny do mrazáku pro následující lyofilizaci. Po 17. extrakci byl dlouhodobý experiment ukončen a roztoky po extrakci byly podrobeny ICP–OES analýze (nastavení viz kapitola 5.6.1). Biouhly po dlouhodobém experimentu byly umístěny do sušárny nastavené na 50 °C po dobu 7 dnů. Po vysušení byly vzorky biouhlů podrobeny instrumentální charakterizaci pomocí SEM, TGA a FTIR.

5.4.2 Jednorázové vyluhování látek z biouhlu

Předpřípravené předsušené vzorky biouhlu v pytlících (viz Tabulka 1) byly umístěny do příslušných popsaných zkumavek a byly zality 20 ml příslušného roztoku. Roztoky byly ponechány na třepačce za stejných podmínek jako v dlouhodobém experimentu (nastavení viz kapitola 5.4.1). Roztoky byly extrahovány po dobu 504 hodin (21 dnů). Poté byly roztoky přelity do čisté zkumavky. Změřilo se pH a vodivost a roztoky byly přefiltrovány za sníženého tlaku. Na roztocích byla provedena spektrofotometrická analýza (nastavení UV–VIS viz kapitola 5.6.1) a část vzorků byla podrobena více-prvkové analýze ICP–OES analýze (nastavení viz kapitola 5.6.1). Biouhly po experimentech byly umístěny do sušárny nastavené na 50 °C po dobu 7 dnů. Hlavní cíl těchto experimentů bylo získat vzorky biouhlů podrobené pouze jednomu cyklu vyluhování, aby bylo možné porovnat výsledky analýz se vzorky získanými vyluhovacími experimenty na biouhlech po kultivačních experimentech (viz kapitola 5.5).

5.5 Vyluhování látek z biouhlů po kultivaci v půdě

Pro simulaci fyzikálně-chemické degradace (závlaha) biouhlu, působení kořenových exsudátů kukuřice seté a mikrobiální degradace biouhlu (působení mikroorganismů v půdě) byly použity biouhly z dlouhodobých kultivačních experimentů (viz kapitola 5.4). Vzorků biouhlu bylo přibližně 10 g a v půdě byly umístěny v polypropylenových porézních pytlících, které byly připraveny stejným způsobem jako pytlíky popsané v kapitole 5.3.

5.5.1 Charakteristika použitých biouhlů po kultivaci v půdě

Biouhly získané po kultivaci v půdě byly předsušeny v sušárně nastavené na 50 °C, kde byly umístěny po dobu 7 dnů. Na biouhlech byla provedena analýza morfologie pomocí SEM (nastavení viz kapitola 5.6.2). Část vzorku byla nadrcena a byla provedena termogravimetrická

analýza pro stanovení celkové organické hmoty, vlhkosti a popela (nastavení viz kapitola 5.6.2). Dále pak na vzorcích byly stanoveny strukturální změny pomocí FTIR analýzy (nastavení viz kapitola 5.6.2).

5.5.2 Předpříprava vzorků biouhlů po kultivacích pro vyluhovací experimenty

Zbylá část vysušených vzorků, která nebyla spotřebována na analýzy (viz kapitola 5.5.1) byla připravena na sekvenční louhování, aby bylo možné srovnání s původními vzorky extrahovanými pouze ve vodných roztocích nebo kořenových exsudátech (tedy vzorky bez předchozích kultivačních experimentů) zjistit vliv mikrobiální degradace.

Byly nachystány pytlíky ze stejné polypropylenové tkaniny za stejného postupu jako je zmiňován v kapitole 5.3. Do pytlíku bylo naváženo dané množství biouhlu (viz Tabulka 4). Pytlíky s biouhly byly opět umístěny do sušárny nastavené na 50 °C po dobu 7 dnů, aby se zamezilo nadbytečné vlhkosti, způsobené při manipulaci se vzorky, během jejich navažování a umístění do příslušných pytlíků.

Tabulka 4: Označení vzorků a navážky biouhlu před sekvenčním louhováním s předchozími dlouhodobými kultivačními experimenty.

vzorek	označení	m _{biouhel} [g]
Sonnenerde ve fluvizemi v roztoku ultračisté destilované vody	SFV1	1,00
	SFV2	1,01
NovoTerra ve fluvizemi v roztoku ultračisté destilované vody	NFV1	1,00
	NFV2	0,99
Sonnenerde v písčité půdě v roztoku ultračisté destilované vody	SPV1	0,94
	SPV2	0,96
NovoTerra v písčité půdě v roztoku ultračisté destilované vody	NPV1	0,96
	NPV2	0,97
Sonnenerde ve fluvizemi v roztoku modelové dešťové vody	SFD1	0,99
	SFD2	0,97
NovoTerra ve fluvizemi v roztoku modelové dešťové vody	NFD1	0,93
	NFD2	0,98
Sonnenerde v písčité půdě v roztoku modelové dešťové vody	SPD1	0,98
	SPD2	1,01
NovoTerra v písčité půdě v roztoku modelové dešťové vody	NPD1	0,96
	NPD2	1,01
Sonnenerde ve fluvizemi v roztoku kyseliny citronové	SFK1	0,98
	SFK2	0,97
NovoTerra ve fluvizemi v roztoku kyseliny citronové	NFK1	0,97
	NFK2	0,99
Sonnenerde v písčité půdě v roztoku kyseliny citronové	SPK1	0,88
	SPK2	0,87
NovoTerra v písčité půdě v roztoku kyseliny citronové	NPK1	0,92
	NPK2	0,93

5.5.3 Krátkodobé louhování látek z biouhlů po kultivaci v půdách

Předchystané vzorky biouhlů v polypropylenových pytlících byly umístěny do příslušných zkumavek a přelity 20 ml daného extrakčního roztoku. Byly umístěny na třepačku (nastavení viz kapitola 5.4.1) a byly zde ponechány po dobu 24 hodin.

Po uplynulé době byly roztoky ze zkumavek přelity do čistých zkumavek. V roztocích bylo změřeno pH a vodivost. Roztoky byly přefiltrovány za sníženého tlaku a byla provedena UV–VIS spektrofotometrie (nastavení viz kapitola 5.4.1). Analyzované roztoky byly umístěny do mrazáku pro následující lyofilizaci. Následně byly biouhly ve zkumavkách přelity 10 ml příslušného roztoku a ponechány na třepačce po dobu 168 hodin (7 dnů) za již dříve zmíněných podmínek (viz kapitola 5.4.1).

Po 168 hodinách od první extrakce byly roztoky opět přelity do čistých zkumavek a byla na nich provedena analýza pH a vodivosti. Roztoky byly přefiltrovány za sníženého tlaku, byla na nich provedena spektrofotometrická analýza (nastavení viz kapitola 5.4.1) a roztoky byly následně použity na více-prvkovou analýzu pomocí ICP-OES (viz další kapitola 5.6). Biouhly ze zkumavek byly vyňaty a umístěny do sušárny nastavené na 50 °C.

5.6 Charakterizace výluhů z biouhlů a pevných vzorků biouhlů

Pro stanovení změny obsahu zejména alkalických iontů v extrakčních roztocích (tedy vyluhovatelnému obsahu těchto iontů) na čase byla použita analýza pomocí pH a vodivosti daných roztoků. Tyto analýzy byly prováděny na všech extrahovaných roztocích. Pro stanovení přesnějšího prvkového zastoupení a množství iontů byly roztoky po 16. vyluhování z dlouhodobých extrakčních experimentů a roztoky po jednorázové extrakci podrobeny analýze za pomoci ICP–OES. Pro stanovení změny obsahu organické složky v roztocích na čase byla použita UV–VIS analýza, která byla provedena na 1., 5., 10. a 15. sadě vzorků. Dále pro stanovení celkové organické hmoty a popela v pevných vzorcích biouhlu byla využita termogravimetrická analýza. FTIR analýza byla použita pro stanovení vnitřní struktury pevných vzorků biouhlu a pro stanovení morfologie těchto vzorků byla využita SEM zobrazovací analýza.

5.6.1 Metody charakterizace výluhů z biouhlů

Měření pH a konduktivity výluhů

Aby bylo možné stanovit, jak se v průběhu dlouhodobého extrakčního experimentu mění iontové složení roztoků, byly všechny roztoky po extrakcích podrobeny analýze pH a vodivosti. Sonda příslušného přístroje byla umístěna do roztoku, po ustálení se odečetl výsledek z monitoru přístroje.

UV-VIS analýza

Pro stanovení změny množství organické složky v roztocích se použila UV–VIS analýza. Důraz byl kladen na UV oblast, zejména na vlnovou délku 210 nm. Z literární rešerše bylo zjištěno, že při této vlnové délce absorbují organické látky přítomné v roztoku [56]. Nastavení analýzy bylo následující: měření bylo provedeno v rozsahu vlnových délek 200–600 nm s krokem 1 nm. Světelný zdroj využívá WI lampu (pro viditelnou oblast) a D₂ lampu (pro ultrafialovou oblast). Ke přepínání lamp dochází při 340 nm. Pro rozdělení monochromatického světla přístroj využívá difrakční mřížku.

ICP-OES analýza

Roztoky po 17. extrakci dlouhodobého experimentu, roztoky po krátkodobém experimentu a roztoky po 2. extrakci biouhlů po kultivaci v půdě byly naředěny a byla na nich provedena analýza ICP-OES pro stanovení anorganických prvků extrahovaných jednotlivými použitými roztoky. Nastavení ICP-OES metody bylo následující: více-prvková analýza byla provedena metodou atomové emisní spektroskopie s indukčně vázaným plazmatem pomocí systému Horiba Jobin Yvonne Ultima 2. Sledovány byly následující prvky: makroprvky (Na, Ca, Mg, K, P), mikroprvky (Fe, Zn, Mn, Cu, Cr, Al) a těžké kovy (Cd, Co, As, Pb, Ni). Kalibrace byla provedena metodou přidavku standardu do slepého vzorku. Průtok plazmového plynu byl 14 l/min, průtok pomocného plynu 0,5 l/min a průtok plynu v nebulizátoru 0,15 l/min. Tlak v nebulizátoru odpovídal 0,85 bar. Napětí detektoru bylo 550–900 V.

5.6.2 Metody charakterizace pevných biouhlů

Jak na původních vzorcích biouhlů, tak i na vysušených biouhlech po vyluhovacích experimentech byly provedeny analýzy vnitřní morfologie a struktury pomocí SEM a FTIR. Dále také byla stanovena celkový obsah organiky, popela a vlhkosti. Nastavení metod je popsáno níže.

Stanovení celkového obsahu organiky, vlhkosti a popela

Studované vzorky biouhlů byly podrobeny charakterizaci za využití termogravimetrické analýzy. Nastavení TGA bylo následující: Pro analýzu bylo naváženo přibližně 5 mg vzorku do platinové misky. Tato navážka byla zahřívána rychlostí 10 °C za minutu, dokud nebylo dosaženo teploty 800 °C. Pro měření byla použita vzdušná atmosféra. Obsah vlhkosti vzorku se určoval jako rozdíl hmotnosti při 105 °C, obsah organické hmoty jako rozdíl hmotnosti mezi 105 °C a 800 °C a obsah popela jako zbytková hmotnost stanovena při teplotě 800 °C.

Vizualizace vnitřní struktury použitých biouhlů

Vizualizace vnitřní struktury a pórovitosti biouhlů bylo u studovaných vzorků biouhlů realizováno pomocí zobrazovací metody SEM. Nastavení metody SEM bylo následující: Pro účel této analýzy byly vybrány malé části vzorku biouhlu. Tyto vzorky byly následně potaženy zlatem v naprašovací zařízení a zkoumány pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu v režimu sekundárních elektronů. Urychlovací napětí bylo nastaveno na 5 kV.

Strukturní charakterizace použitých biouhlů

Strukturní charakterizace FTIR jednotlivých frakcí vzorků biouhlu byla provedena pomocí techniky ATR (Attenuated Total Reflectance). Byl zde využit jednodrazový vestavěný germaniový ATR krystal. Všechny měření byla provedena při 25 °C ve spektrálním rozsahu 4000–600 cm⁻¹ při rozlišení 8 cm⁻¹ jako průměr 128 skenů. Spektrum pozadí bylo získáno s čistého a suchého povrchu krystalu ATR v okolní atmosféře.

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

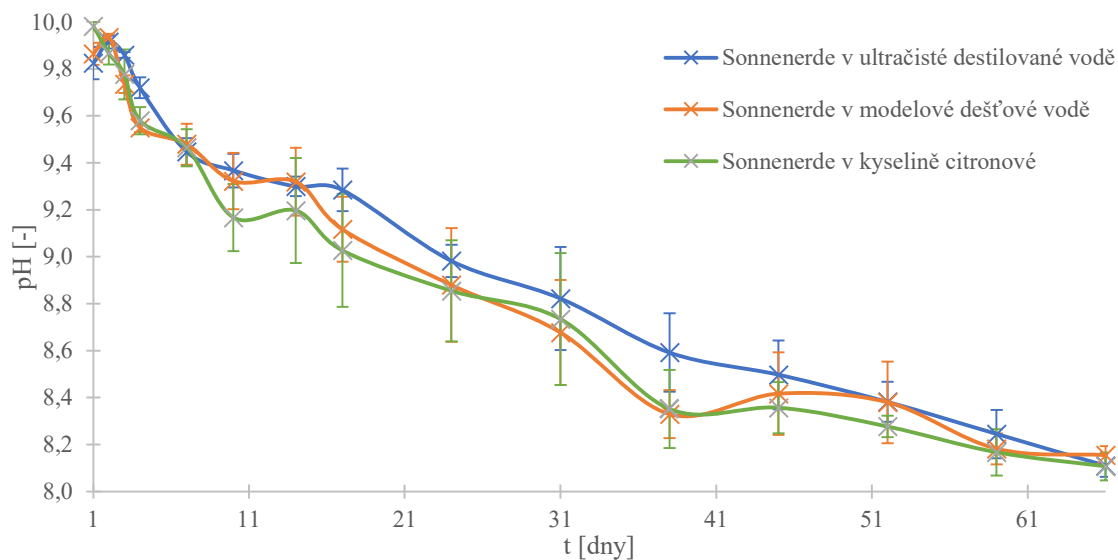
Cílem této práce je definovat a experimentálně ověřit jednotlivé činitele, které mohou způsobovat degradaci biouhlu aplikovaného v půdě. Pro simulaci fyzikálně-chemické degradace bez působení mikroorganismů byly provedeny dlouhodobé a jednorázové extrakční experimenty, které jsou popsány v kapitole 5.4. Pro simulaci fyzikálně-chemické degradace za současného působení i mikrobiální degradace byly použity biouhly po předchozí kultivaci v půdě (popsané v kapitole 5.4) a byly na nich provedeny extrakční experimenty popsané v kapitole 5.5. Jednotlivé vlivy byly vždy posuzovány ze dvou různých pohledů, jednak analýzou vzorků biouhlů po provedených vyluhovacích experimentech, kde byly posuzovány změny v obsahu organické hmoty (TGA), ve struktuře vzorků (FTIR) a rovněž ve vnitřní morfologii materiálů (SEM analýza). Tyto analýzy byly vždy porovnávány vzhledem k původním použitým biouhlům. Druhý úhel pohledu na studovanou problematiku pak byl reprezentován sledováním změn v pH, konduktivitě, obsahu mikro a makroprvků (ICP–OES) a absorpčními zisky výluhů z jednotlivých analyzovaných biouhlů.

6.1 Charakterizace výluhů z biouhlů bez předchozí kultivace v půdě

Každý výluh byl změřen na pH metru a konduktometru. Díky tomu bylo možné pozorovat, jak se tyto parametry mění v čase, a tedy jak moc se vymývají zejména alkalické kationty obsažené v biouhlu. Aby bylo možné určit, jaké prvky se vymývají, byly roztoky po jednorázové extrakci a poslední výluhy po dlouhodobých sekvenčních extrakcích podrobeny prvkové analýze ICP–OES. Pro sledování změny organiky na čase byl každý 1., 5., 10. a 15. výluh změřen na UV–VIS spektrometru a byla stanovena absorpce daného výluhu při 210 nm.

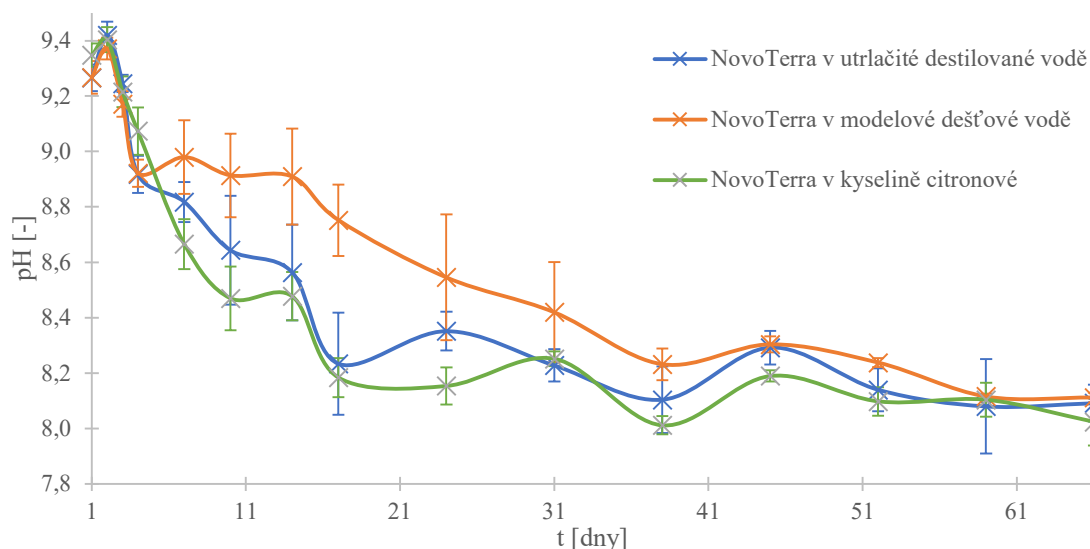
6.1.1 Stanovení pH roztoků při dlouhodobých experimentech

Během dlouhodobých extrakčních experimentů bylo při každé výměně roztoků změřeno pH daného výluhu z analyzovaného vzorku (nastavení viz 5.6.1). Každý vzorek byl proveden v pěti opakováních, kdy data z těchto opakování byla zprůměrována a vynesena do grafu (včetně směrodatných odchylek). Data pro dílčí vzorky SV5, SD3 a SK3 byla z těchto průměrných dat vyloučena, protože na základě porovnání se zbývajícími opakováními se jednalo o odlehle hodnoty. Záznamy pH daných vzorků jsou znázorněny na Obrázku 5 a Obrázku 6.



Obrázek 5: Závislost pH vzorků biouhlu Sonnenerde na čase při dlouhodobých extrakčních experimentech.

Na Obrázku 5 je znázorněna změna pH vyluhovaných roztoků z biouhlu Sonnenerde v průběhu dlouhodobého experimentu. Z počátku zde byl u vzorků biouhlu v ultračisté destilované vodě a v modelové dešťové vodě lehký nárůst pH. Následně však probíhal ve všech případech pokles pH, který značí, že postupně docházelo k vymývání alkalických kovů. Biouhel tak postupně ztrácel alkalický charakter a následující výluhy měly méně alkalický charakter. Nárůst pH u modelové dešťové vody při 52 dni, jak na Obrázku 5 tak i na Obrázku 6 byl pravděpodobně způsoben tím, že byl vyroben nový roztok modelové dešťové vody, který se svým pH mírně lišil od předchozího roztoku. Z porovnání jednotlivých použitých prostředí je zřejmé, že ve všech případech byl nezávisle na použitém prostředí zaznamenán prakticky stejný pokles v pH.



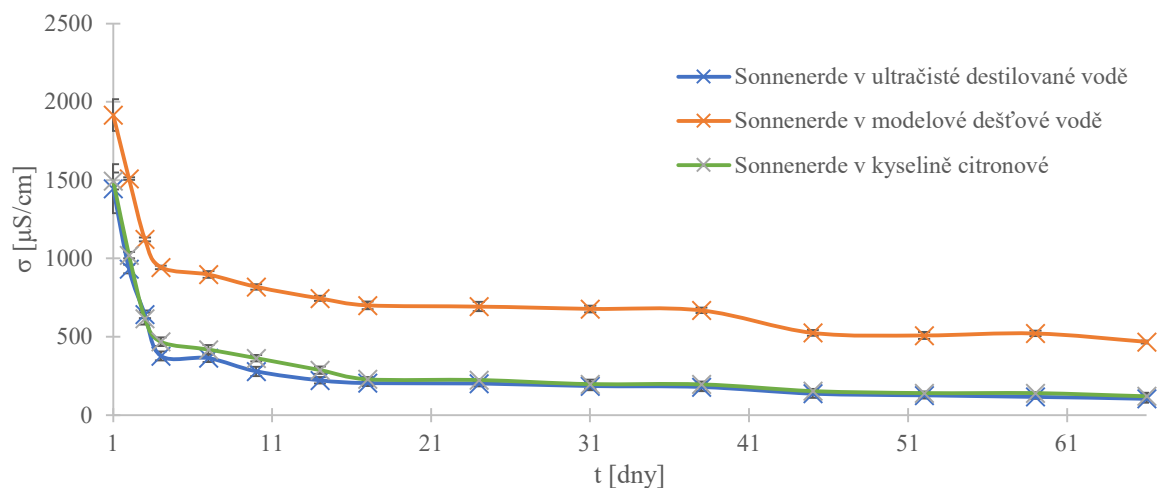
Obrázek 6: Závislost pH vzorků biouhlu NovoTerra na čase při dlouhodobých extrakčních experimentech.

Obrázek 6 znázorňuje časový průběh změny pH vyluhovaných roztoků biouhlů NovoTerra. Vyluhované roztoky z biouhlu NovoTerra mají na počátku ve všech roztocích nižší pH

v porovnání s vyluhovanými roztoky biouhlů Sonnenerde na Obrázek 5. Všechny roztoky měly na počátku experimentu mírný nárůstu pH. Roztoky ultračisté destilované vody a kyseliny citronové mají následně strmější pokles pH oproti vzorkům v modelové dešťové vodě. I přesto, že pH biouhlu NovoTerra začínalo na nižším pH, po ukončení experimentů bylo pH roztoků biouhlů NovoTerra a Sonnenerde přibližně stejné. Na Obrázku 5 i na Obrázku 6 lze v případě 14. a 45. dne pozorovat nárůst pH u všech vzorků a v případě 38. dne pokles pH u všech prvků. Tyto výkyvy mohly být způsobené změnou kalibrace pH metru. Ze vzájemného porovnání dat pro oba použité biouhly je zřejmé, že ve všech prostředích měl biouhel Sonnenerde více alkalický charakter, a tudíž u něho lze předpokládat větší obsah alkalických anorganických iontů.

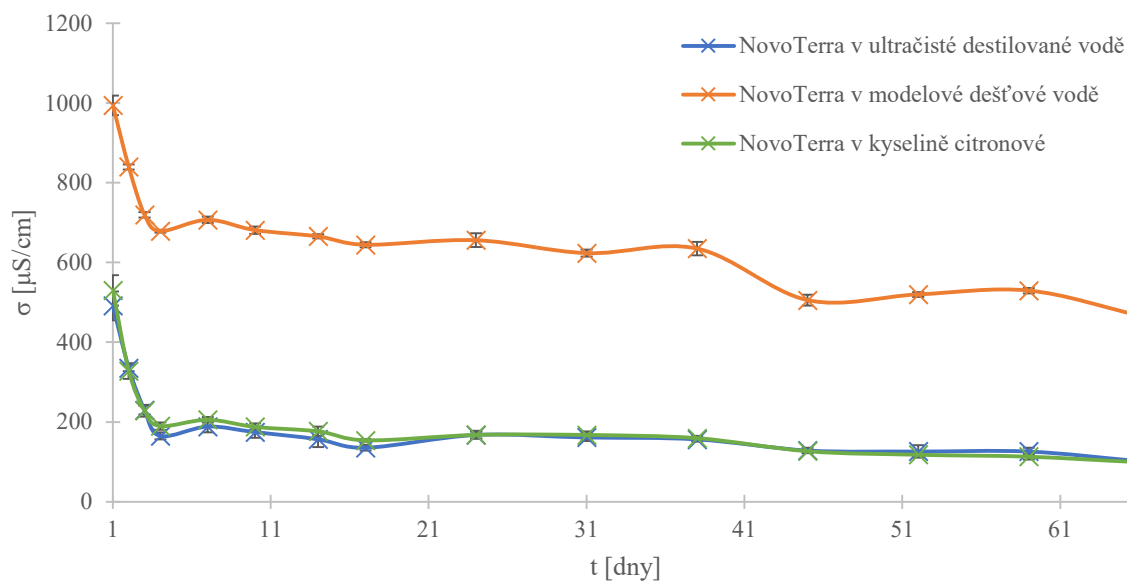
6.1.2 Stanovení vodivosti vyluhovaných roztoků při dlouhodobých experimentech

Během dlouhodobých extrakčních experimentů se rovněž měřila vodivost každého z výluhů. Data prezentována na Obrázku 7 a Obrázku 8 opět představují průměrné hodnoty z 5 dílčích opakování a jsou znázorněny v grafech včetně směrodatných odchylek.



Obrázek 7: Závislost vodivosti vyluhovaných roztoků biouhlů Sonnenerde na čase během dlouhodobých experimentů.

Závislost konduktivity vyluhovaných roztoků biouhlů Sonnenerde na čase je znázorněna na Obrázku 7. Pro oba biouhly, docházelo nejprve k prudkému poklesu v měřené konduktivitě. Tento trend se postupně od 4. výluhu výrazně zpomalil. Následně u všech roztoků došlo již pouze k postupnému snižování konduktivity v čase. Tyto výsledky naznačují, že se vymývalo čím dál tím menší množství iontů způsobujících nárůst vodivosti výluhu. Snižování konduktivity koreluje s daty se snižujícím se pH znázorněným na Obrázku 5. Na Obrázku 7 lze také pozorovat, že modelová dešťová voda, která už jakožto původní roztok byla bohatá na přítomnost iontů, měla vyšší vodivost oproti výluhům v ultračisté destilované vody a v kyselině citronové. Dále lze z obrázku vyčíst, že docházelo k pomalému ustálení vodivosti, kdy např. poslední výluh modelové dešťové vody měl v průměru vodivost $468 \pm 9 \mu\text{S/cm}$ a původní roztok modelové dešťové vody měl vodivost $439 \pm 3 \mu\text{S/cm}$. U ultračisté destilované vody měl poslední výluh vodivost $104 \pm 24 \mu\text{S/cm}$ a vodivost vody byla $0,06 \pm 0,01 \mu\text{S/cm}$. V případě roztoku kyseliny citronové, tak poslední výluh měl vodivost $121 \pm 22 \mu\text{S/cm}$ a původní roztok měl vodivost $5,26 \pm 0,11 \mu\text{S/cm}$.

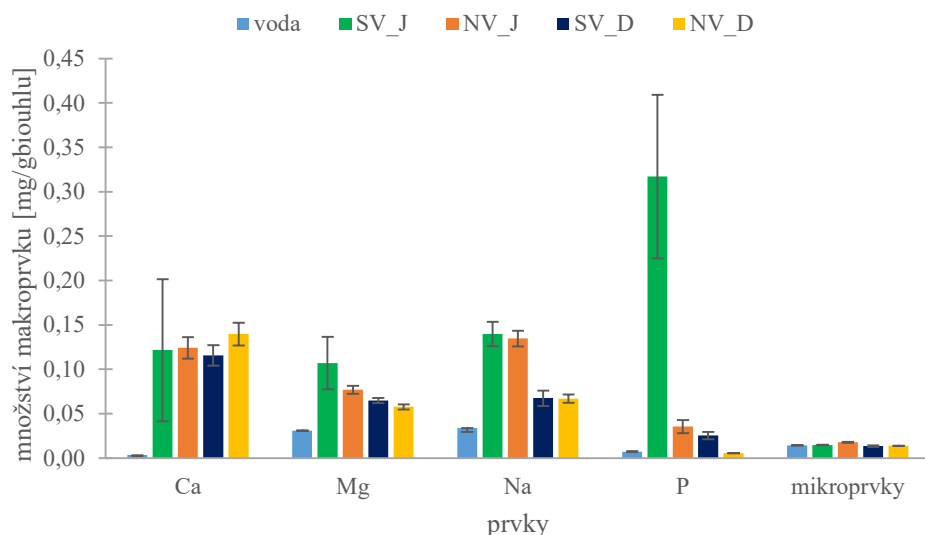


Obrázek 8: Závislost vodivosti vyluhovaných roztoků biouhli NovoTerra na čase během dlouhodobých experimentů.

Obrázek 8 zobrazuje časový průběh vodivosti vyluhovaných roztoků biouhlu NovoTerra během dlouhodobých extrakčních experimentů. Oproti vyluhům z biouhlu Sonnenerde vodivost u všech roztoků zde začíná u nižších hodnot, ale dochází zde na konci experimentu k ustálení na přibližně stejných hodnotách jako na Obrázku 7, což koreluje s výsledky z měření pH těchto roztoků. Rovněž také vzorky v modelové dešťové vodě mají oproti vzorkům v ultračisté destilované vodě a kyselině citronové vyšší vodivost, což opět souvisí s vyšší vodivostí použitého prostředí. Lze také pozorovat korelaci mezi daty z pH a vodivosti, kdy vzorky biouhlu NovoTerra mají na počátku experimentu nižší hodnoty pH a také nižší hodnoty vodivosti oproti vyluhovaným roztokům z biouhlu Sonnenerde.

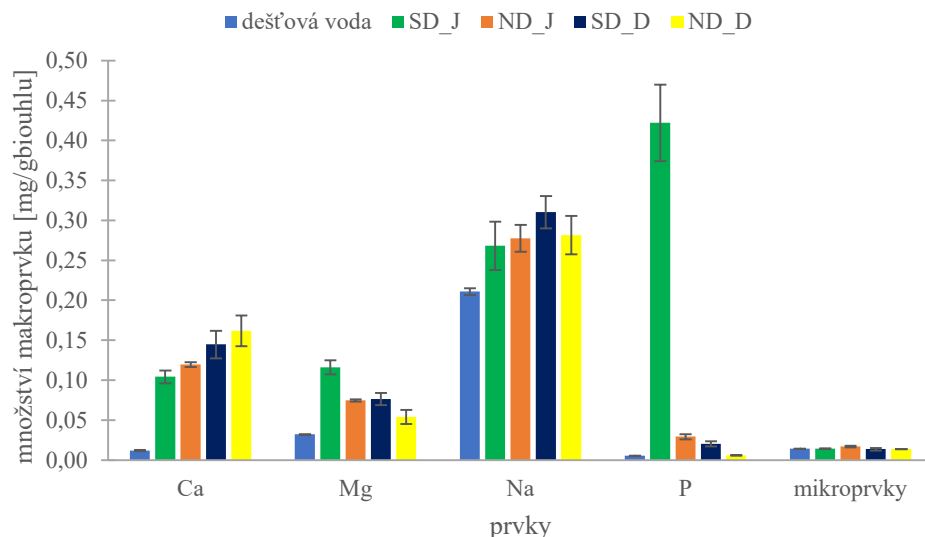
6.1.3 Prvková analýza vyluhovaných roztoků po extrakcích bez předchozí kultivace

Aby bylo možné porovnat, jak se změnilo prvkové složení během dlouhodobého extrakčního experimentu, byl proveden jednorázový extrakční experiment (viz kapitola 5.4.2). Kvůli lepší přehlednosti, byl draslík pro své vyšší hodnoty oproti ostatním prvkům znázorněn na Obrázku 12 samostatně. Obsah mikroprvků byl v jednotlivých vzorcích velmi nízký, proto jsou dále prezentovány jako suma.



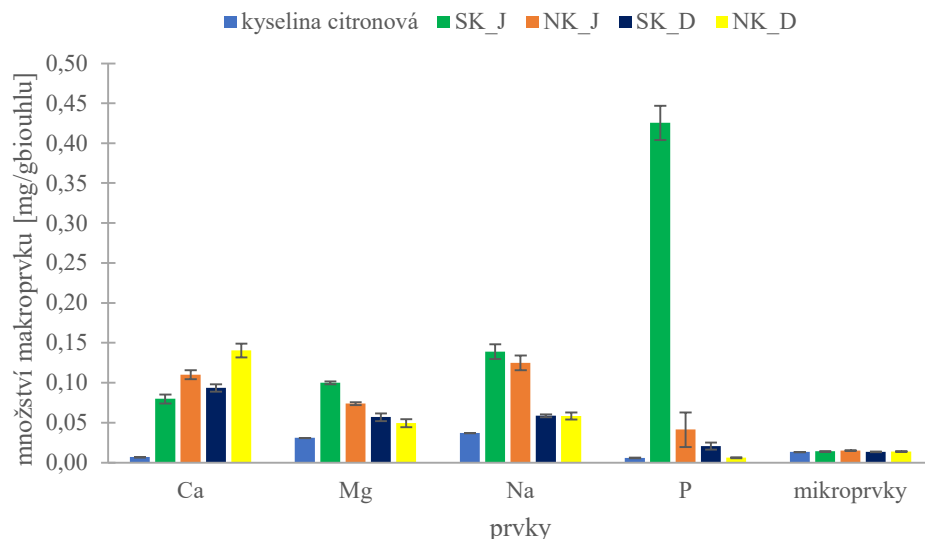
Obrázek 9: Prvkové zastoupení výluhů po jednorázové extrakci (SV_J, NV_J) a po dlouhodobých extrakcích (SV_D, NV_D) ve vodě bez předchozí kultivace biouhlu v půdě.

Na Obrázku 9 je prvkové složení výluhů po jednorázové extrakci a po dlouhodobých sekvenčních extrakcích. Značení voda odpovídá ultračisté destilované vodě, která byla při experimentech použita jako extrakční roztok. Je patrné, že výluh Sonnenerde ve vodě měl na počátku (po prvním vyluhování při jednorázové extrakci) výrazně vyšší množství fosforu oproti prvnímu výluhu z biouhlu NovoTerra a že v čase množství fosforu výrazně kleslo. Co se vápníku týče, tak zde k příliš velkým změnám nedošlo, pouze u výluhu z biouhlu NovoTerra po dlouhodobých experimentech došlo k mírnému nárůstu, ovšem pokud vezmeme v úvahu i směrodatné odchylky, tak je tento rozdíl zanedbatelný. Výluh z biouhlu Sonnenerde měl po prvním vyluhování větší množství hořčíku než výluh z biouhlu NovoTerra, kdy po dlouhodobých experimentech rozdíl v množství hořčíku mezi výluhy již tak patrný nebyl. Množství sodíku s časem také klesalo, ale mezi výluhy biouhlů Sonnenerde a NovoTerra ve stejné době nebyly přílišné rozdíly. Ohledně množství mikroprvků, u biouhlu Sonnenerde v dešťové vodě, lze pozorovat mírný pokles a u biouhlu NovoTerra v modelové dešťové vodě naopak mírný nárůst. Celkově ale u mikroprvků k velkým změnám v množství nedochází.



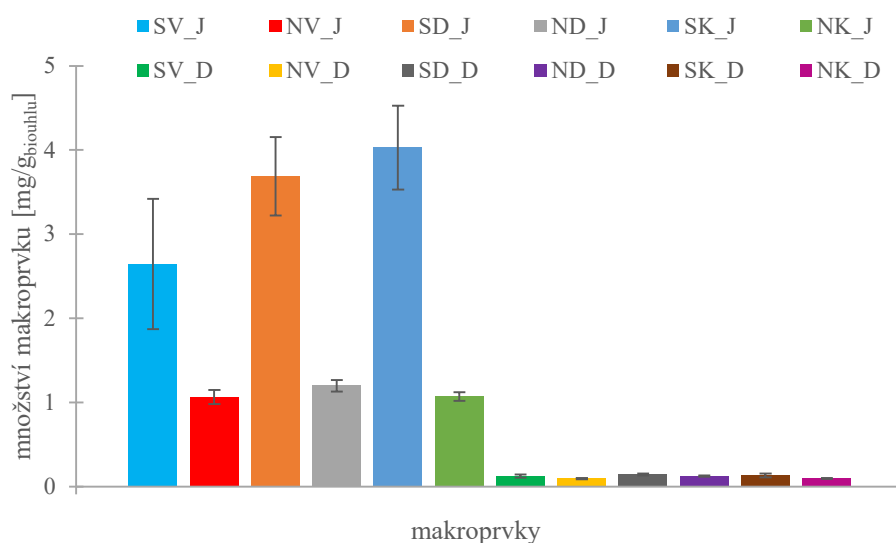
Obrázek 10: Prvkové zastoupení výluhů po jednorázové extrakci (SD_J, ND_J) a po dlouhodobých extrakcích (SD_D, ND_D) v modelové dešťové vodě bez předchozí kultivace biouhlu v půdě.

Obrázek 10 znázorňuje prvkové složení výluhů po jednorázové extrakci a dlouhodobých sekvenčních extrakcích v modelové dešťové vodě. Stejně jako na Obrázku 10 je u prvního výluhu biouhlu Sonnenerde výrazně vyšší zastoupení fosforu oproti prvnímu výluhu z biouhlu NovoTerra. Zastoupení fosforu u výluhů z biouhlu Sonnenerde výrazně v čase klesá. Oproti výluhům ve vodě na Obrázku 9, všechny vzorky v modelové dešťové vodě na Obrázku 10 mají vyšší množství sodíku. Je to z toho důvodu, že modelová dešťová voda obsahuje NaCl. U sodíku lze také pozorovat, že zde dochází k nárůstu množství tohoto prvku ve výluzích v čase. Stejně tak v čase narůstá i množství vápníku, kdy výluhy z biouhlu NovoTerra mají vyšší zastoupení tohoto prvku. V případě hořčíku mají výluhy z biouhlu Sonnenerde po prvním výluhu i po dlouhodobých extrakcích vyšší obsah tohoto prvku oproti výluhům z biouhlu NovoTerra. Zohlední-li se i směrodatné odchylky, tak u sodíku jsou rozdíly v rámci této odchylky, u vápníku dochází k mírnému nárůstu a u hořčíku naopak k poklesu. Množství mikroprvků se v čase opět příliš nemění.



Obrázek 11: Prvkové zastoupení výluhů po jednorázové extrakci (SK_J, NK_J) a po dlouhodobých extrakcích (SK_D, NK_D) v kyselině citronové bez předchozí kultivace biouhlu v půdě.

Stejně jako u předchozím dvou obrázků (Obrázek 9 a Obrázek 10) má první výluh z biouhlu Sonnenerde výrazně vyšší zastoupení fosforu, než výluhy z biouhlu NovoTerra a dochází zde v čase k velkému poklesu množství tohoto prvku. Prvek s druhým nejvyšším zastoupením po prvním vyluhování je zde sodík, kdy výluh z biouhlu Sonnenerde má vyšší množství tohoto prvku, ale na konci dlouhodobých extrakčních experimentů mají výluhy z obou biouhlů přibližně stejné množství sodíku. V případě hořčičku mají výluhy z biouhlu Sonnenerde vyšší zastoupení tohoto prvku oproti výluhům z biouhlu NovoTerra a v osobu případech dochází k poklesu množství tohoto prvku v čase. Naopak u vápníku dochází u výluhů obou biouhlů k nárůstu množství v čase, kdy vyšší množství vápníku obsahují výluhy z biouhlu NovoTerra. Obdobně jako na Obrázku 9 a Obrázku 10 se množství mikroprvků ve výluzích v čase příliš nemění.



Obrázek 12: Množství draslíku v jednotlivých výluzích biouhlů bez předchozí kultivace biouhlu v půdě.

Na Obrázku 12 je znázorněno množství draslíku v jednotlivých výluzích. Platí, že vždy má výluh z biouhlu Sonnenerde vyšší množství draslíku než výluh z biouhlu NovoTerra. Nejvyšší množství draslíku obsahuje biouhel Sonnenerde v kyselině citronové, následuje Sonnenerde v modelové dešťové vodě a nejméně z prvních výluhů biouhlu Sonnenerde má výluh ve vodě. Co se prvního výluhu z biouhlu NovoTerra týče, tak nejvyšší množství draslíku obsahuje výluh v modelové dešťové vodě. U obou biouhlů a všech tří roztoků platí, že množství draslíku v čase klesá. Alkalické pH, které v čase klesalo, bylo do značné míry způsobeno vyluhováním draslíku. Lze pozorovat, že po dlouhodobých extrakcích se draslíku vyluhovalo výrazně méně, kdy tomu odpovídá pokles alkalického pH (Obrázek 5, Obrázek 6) a menší konduktivita roztoků v čase (Obrázek 7, Obrázek 8).

6.1.4 Změny obsahu organické hmoty ve výluzích bez kultivace v půdě

Pro stanovení obsahu organické hmoty, který se z biouhlu může vyluhovat do použitých extrakčních roztoků byla využita metoda UV-VIS, kdy se odečítaly hodnoty absorbance při vlnové délce 210 nm [56]. Při dlouhodobých experimentech bez předchozí kultivace v půdě měla každá sada vzorků pět opakování. Data v Tabulce 5 jsou tedy průměry z těchto opakování.

Tabulka 5: Absorbance vzorků biouhlu bez předchozích kultivačních experimentů při vlnové délce 210 nm.

vzorek	t [dny]		vzorek	t [dny]	
	1 A [-]	7 A [-]		1 A [-]	7 A [-]
SV	1,18±0,13	0,53±0,23	NV	1,03±0,20	0,42±0,19
SD	1,22±0,09	0,39±0,08	ND	0,86±0,07	0,26±0,18
SK	1,33±0,16	0,47±0,26	NK	0,93±0,18	0,32±0,11

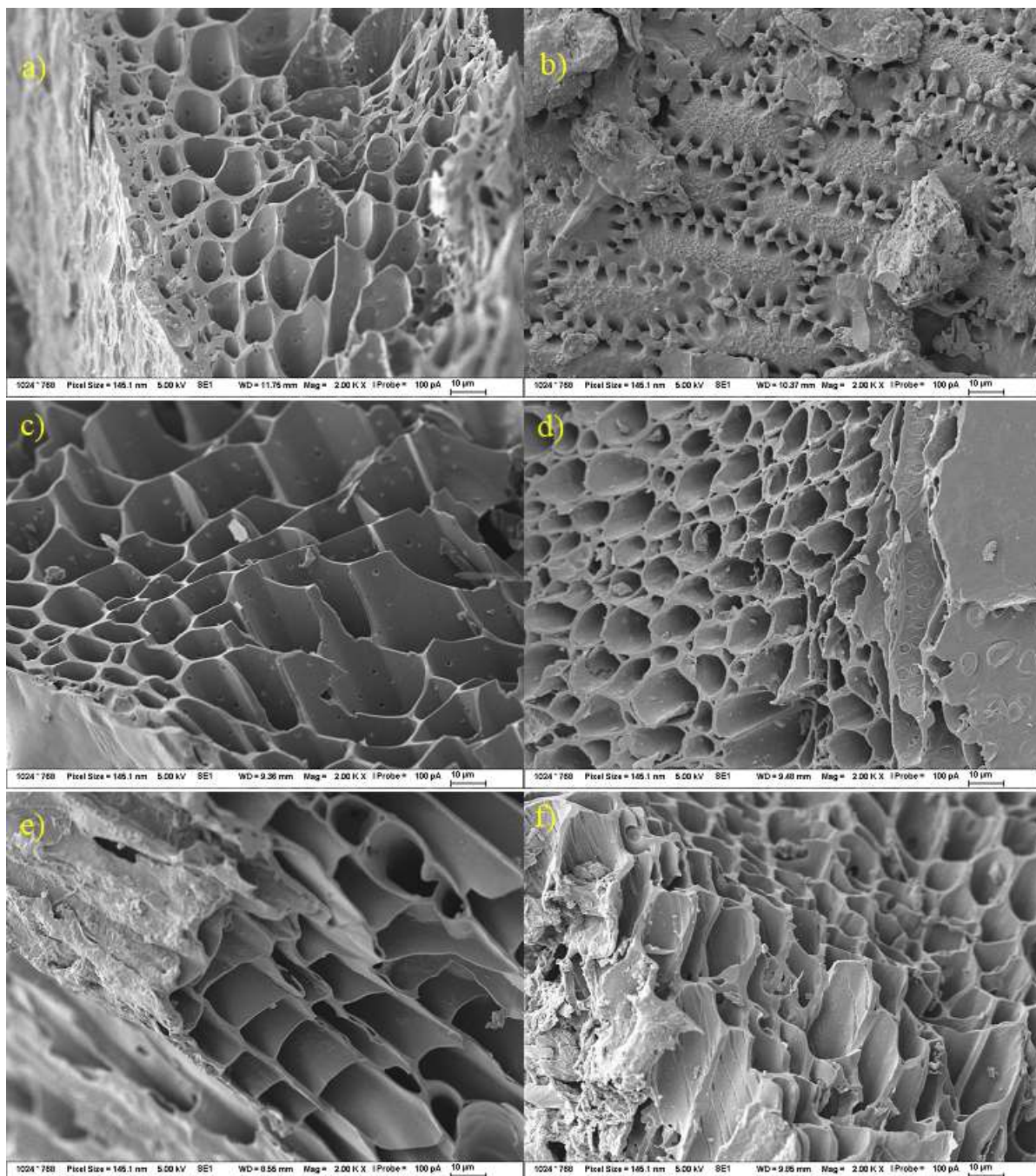
V Tabulce 5 jsou průměry absorbance vzorků biouhlu bez předchozí kultivace v půdě při vlnové délce 210 nm, kdy tato vlnová délka na základě literární rešerše popisuje parametr související s obsahem rozpuštěné organické hmoty v analyzovaném vzorku. Ve všech případech lze pozorovat, že obsah vyluhovatelné organické hmoty v čase klesá. Zároveň také všechny vzorky biouhlů Sonnenerde mají vyšší obsah organické hmoty obsažené ve výluzích než vzorky biouhlů NovoTerra. V obou případech také platí, že nejnižší absorbanci po týdnu mají vzorky v modelové dešťové vodě a nejvyšší vzorky v ultračisté destilované vodě, což patrně souvisí s výrazně vyšší vodivostí tohoto prostředí v porovnání se zbylými dvěma použitými prostředími.

6.2 Charakterizace biouhlů po extrakcích bez předchozí kultivace v půdě

Po extrakčních experimentech byly zbytky biouhlů vysušeny a pomocí SEM zobrazovací analýzy byla charakterizována jejich morfologie. Pro stanovení strukturních změn, které se v průběhu dlouhodobých extrakčních experimentů staly, byla použita FTIR analýza. Pro stanovení celkového obsahu organiky, vlhkosti a popela byla použita termogravimetrická analýza.

6.2.1 Charakterizace morfologie biouhlů bez předchozí kultivace v půdě

Vizualizace vnitřní struktury byla zobrazena pomocí SEM zobrazovací analýzy, jejíž nastavení je více popsáno v kapitole 5.6.2.

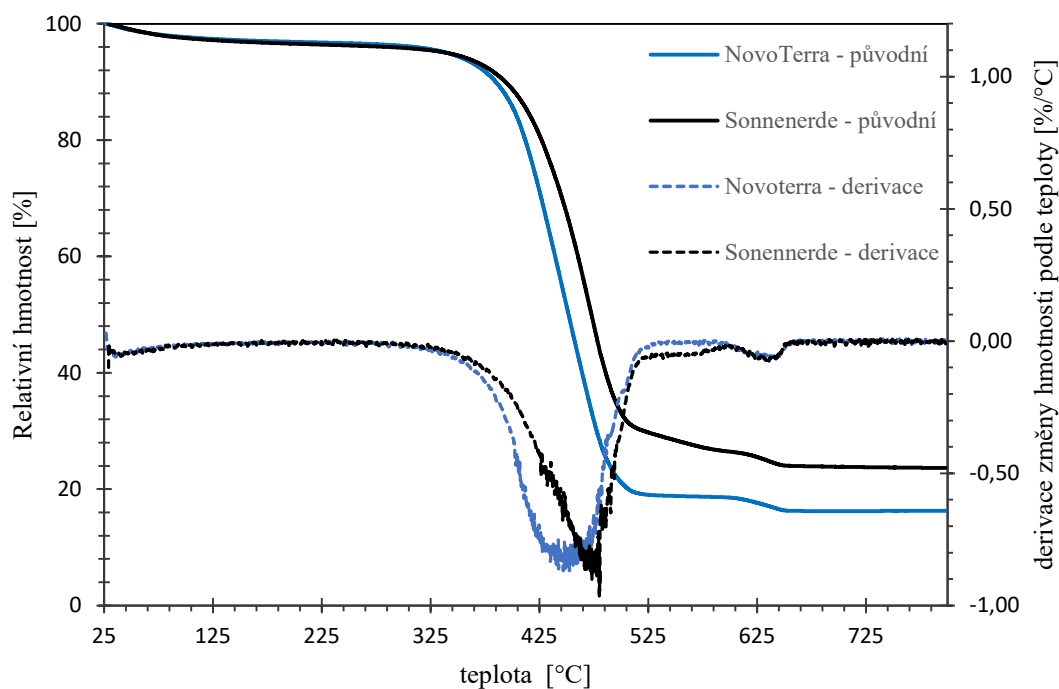


Obrázek 13: Fotografie biouhlů ze SEM zobrazovací analýzy, zvětšeno 2000×: a) Sonnenerde původní, b) NovoTerra původní, c) Sonnenerde v modelové dešťové vodě, d) NovoTerra v modelové dešťové vodě, e) NovoTerra v ultračisté destilované vodě, f) NovoTerra v kyselině citronové.

Obrázek 13 zobrazuje morfologii původních biouhlů bez předchozí kultivace v půdě a biouhlů po extrakčních experimentech. Na obrázku lze pozorovat, že u biouhlu po dlouhodobém vyluhování nedošlo k zásadním změnám ve vnitřní porézní struktuře.

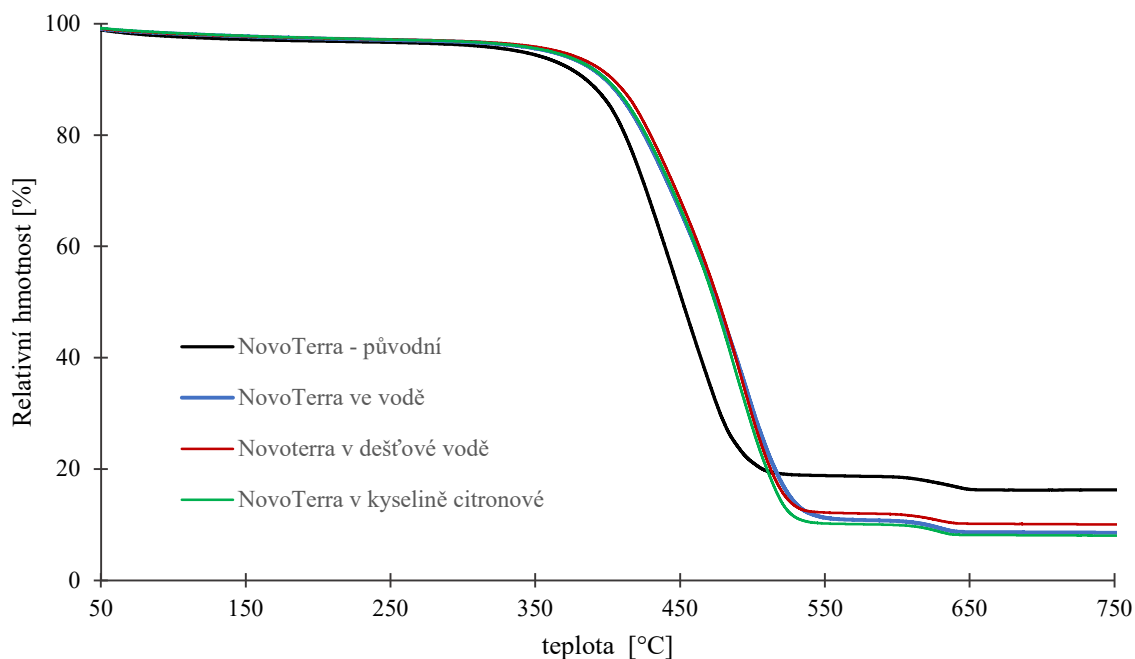
6.2.2 TGA analýza biouhlů bez předchozí kultivace v půdě

Pro stanovení obsahu organické hmoty, vlhkosti a popela byla využita termogravimetrická analýza. Její nastavení je popsáno v kapitole 5.6.2. Pro tuto analýzu byly použity předsušené vzorky původních biouhlů Sonnenerde a NovoTerra, vzorků biouhlů po jednorázových a dlouhodobých extrakčních experimentech a zlyofilizované roztoky po 1. a 5. extrakci při dlouhodobých extrakcích.



Obrázek 14: Termogram původních biouhlů bez předchozí kultivace v půdě.

Na Obrázku 14 je zobrazen modelový záznam z termogravimetrické analýzy původních biouhlů bez předchozí kultivace v půdě. Nepřerušované křivky zobrazují změnu relativní hmotnosti na teplotě a přerušované křivky představují derivaci změny hmotnosti podle teploty a slouží k přesnějšímu stanovení detekce hranice, kdy došlo ke skokové změně-tedy kdy ještě dochází k odpařování vlhkosti a kde již dochází k degradaci organické hmoty. Na počátku ze vzorku odchází vlhkost. Po vlhkosti následuje degradace organické hmoty, která se z termogramu vypočítá jako rozdíl v úbytku hmoty mezi vlhkostí a nespalitelným zbytkem tzv. popelem. Zbytek, který již za vyšších teplot nemění svou hmotnost je tedy popel. V případě měřených vzorků představuje popel anorganický/minerální podíl biouhlu.



Obrázek 15: Záznam termogramu původního biouhlu NovoTerra a biouhlů po extrakci.

Obrázek 15 znázorňuje záznam z termogravimetrické analýzy a porovnává původní biouhel bez předchozí extrakce se stejným biouhlem ale po extrakci ve třech různých prostředích. Lze pozorovat, že vymýváním dochází ke snížení obsahu minerální složky, kdy nejvíce nám došlo k poklesu u extrakce biouhlu v kyselině citronové. Ovšem rozdíly mezi jednotlivými použitými prostředími jsou minimální.

Z naměřených termogramů byl určen obsah vlhkosti a popela, kdy obsah organické hmoty byl dopočítán dle předchozího popisu. Všechny vzorky byly následně přepočítány na suchý vzorek bez vlhkosti, aby nedošlo k ovlivnění výsledků případným nerovnoměrným vysušením vzorků. Výsledky byly sepsány do Tabulky 6.

Tabulka 6: Výtěžky po lyofilizaci a data z termogravimetrické analýzy pro biouhel NovoTerra (NVJ, NDJ, NKJ pro jednorázové extrakce, NVD, NDD, NKD pro dlouhodobé extrakce).

vzorek	biouhel		1. cyklus			5. cyklus		
	organika [hm.%]	minerální část [hm.%]	výtěžek [mg]	organika [hm.%]	minerální část [hm.%]	výtěžek [mg]	organika [hm.%]	minerální část [hm.%]
Nov_pův	83,2	16,8	–	–	–	–	–	–
NVJ	90,20±0,82	9,8±0,8	–	–	–	–	–	–
NDJ	87,96±0,82	12,0±0,8	–	–	–	–	–	–
NKJ	89,84±0,39	10,2±0,4	–	–	–	–	–	–
NVD	90,47±0,72	9,5±0,7	4,9±0,5	65,8	34,2	2,8±0,6	53,3	46,7
NDD	90,25±0,54	9,7±0,5	10,0±1,1	36,5	63,5	3,7±1,4	29,1	70,9
NKD	91,72±0,03	8,28±0,03	7,3±0,9	54,8	45,2	2,9±0,6	58,4	41,6

Tabulka 6 obsahuje výsledky z termogravimetrické analýzy biouhlů po jednorázových extrakcích, jednotlivými činidly (vzorky NVJ, NDJ, NKJ), biouhlů po dlouhodobých sekvenčních extrakcích (NVD, NDD, NKD), zlyofilizovaných výluhů po dlouhodobých sekvenčních extrakcích (data ve sloupcích označených „1. cyklus“ a „5. cyklus“) a také obsahuje výtěžky po lyofilizaci, kdy lyofilizovány byly pouze vzorky po dlouhodobých extrakčních experimentech. Termogravimetrická analýza byla na zlyofilizovaných vzorcích provedena pouze jednou (proto v tabulce nejsou zmíněny odchylky), protože výtěžky po lyofilizaci nebyly příliš velké a také kvůli časové náročnosti.

Z Tabulky 6 lze vyčíst, že obsah organiky u vyluhovacích biouhlů vzrostl ve všech případech oproti původnímu vzorku biouhlu. Naopak obsah minerální části (tzv. popela) pokaždé klesl. Nevyplývá z toho, že by ve vzorcích narůstal obsah organické hmoty, ale vzhledem k tomu, že data jsou v relativním měřítku, tak spíše docházelo k většímu úbytku anorganické (minerální části). Toto pozorování je v souladu s dříve pozorovaným vyluhováním anorganických iontů (zejména draslíku). U biouhlů po jednorázové extrakci i u biouhlů po dlouhodobé extrakci platí, že nejvyšší obsah organiky má biouhel extrahovaný ve vodě, u popela to je biouhel extrahovaný v modelové dešťové vodě. U biouhlu extrahovaného v ultračisté destilované vodě a modelové dešťové vodě platí, že obsah organické hmoty ve vzorky s časem klesal, a naopak obsah minerální části rostl. V případě biouhlu NovoTerra extrahovaného v kyselině citronové, tak po prvním cyklu je obsah organiky nižší oproti původního biouhlu a obsah minerální části vyšší, ale po 5. cyklu zde došlo k mírnému nárůstu organické hmoty a mírnému poklesu obsahu minerální části. Nejvyšší množství minerálního podílu má biouhel extrahovaný v modelové dešťové vodě, kdy samotná modelová dešťová voda je na minerální látky bohatá (oproti zbylým dvěma roztokům). Co se výtěžků týče, tak ve všech případech platí, že výtěžnost s časem klesá. Dále také platí, že nejvyšší výtěžek má NovoTerra v modelové dešťové vodě, následuje NovoTerra v kyselině citronové a nejmenší výtěžky má NovoTerra v ultračisté destilované vodě.

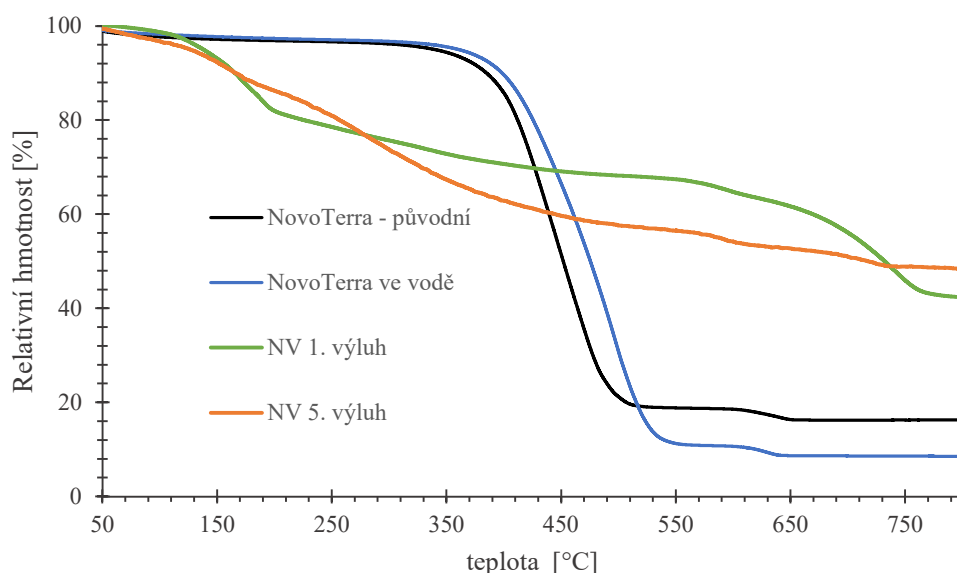
Tabulka 7: Výtěžky po lyofilizaci a data z termogravimetrické analýzy pro biouhel Sonnenerde (SVJ, SDJ, SKJ pro jednorázové extrakce; SVD, SDD, SKD pro dlouhodobé extrakce).

vzorek	biouhel		1. cyklus			5. cyklus		
	organika [hm. %]	minerální část [hm. %]	výtěžek [mg]	organika [hm. %]	minerální část [hm. %]	výtěžek [mg]	organika [hm. %]	minerální část [hm. %]
Son_pův	75,5	24,5	–	–	–	–	–	–
SVJ	82,2±1,2	17,8±1,2	–	–	–	–	–	–
SDJ	82,8±0,5	17,2±0,5	–	–	–	–	–	–
SKJ	83,0±0,3	17,0±0,3	–	–	–	–	–	–
SVD	85,4±2,2	14,6±2,2	13,2±2,4	39,7	60,3	5,0±0,4	46,2	53,8
SDD	85,3±1,4	14,7±1,4	15,5±4,1	26,0	74,0	7,7±0,6	28,6	71,4
SKD	84,2±3,2	15,8±3,2	16,4±1,7	40,7	59,3	4,5±0,4	40,6	59,4

Tabulka 7 zobrazuje výsledky termogravimetrické analýzy původního biouhlu Sonnenerde a biouhlu po výluzích. Dále jsou zde výsledky po lyofilizaci roztoků, které ukazují jak výtěžky po lyofilizaci, tak i výsledky z termogravimetrické analýzy těchto zlyofilizovaných vzorků. Stejně jako v Tabulce 6 i zde platí, že původní biouhel obsahoval nižší množství organické hmoty a vyšší množství minerální složky než biouhly po extrakcích, kdy to lze opět vysvětlit

spíše vyšším vyluhováním anorganické/minerální části biouhlů. Také zde platí, že velikost výtěžků v čase klesá. Všechny biouhly po jednorázovém vyluhování mají vyšší obsah minerální části a nižší obsah organiky oproti biouhlům po dlouhodobých extrakcích. U jednorázových extrakcí má nejvyšší obsah organické hmoty biouhel extrahovaný v kyselině citronové, zatímco u dlouhodobých extrakcí to je biouhel extrahovaný v ultračisté destilované vodě.

U zlyofilizovaných vzorků platí, že nejvyšší množství organické hmoty má biouhel extrahovaný v kyselině citronové, kdy v čase se množství organiky příliš nemění. Druhé nejvyšší zastoupení organické hmoty má biouhel extrahovaný ve vodě a nejméně organické hmoty má vzorek biouhlu extrahovaného v modelové dešťové vodě. U obou vzorků (SVD, SDD) platí, že obsah organické hmoty s časem klesá a narůstá podíl minerální složky. Stejně jako v Tabulka 6 zde také platí, že nejvyšší obsah minerální složky má výluh biouhlu v dešťové vodě díky bohatosti roztoku na minerální látky.



Obrázek 16: Záznam z termogravimetrické analýzy pro původní biouhel NovoTerra, pro biouhel NovoTerra ve vodě bez předchozí kultivace biouhlu v půdě a pro zlyofilizované výluhy z biouhlů NovoTerra.

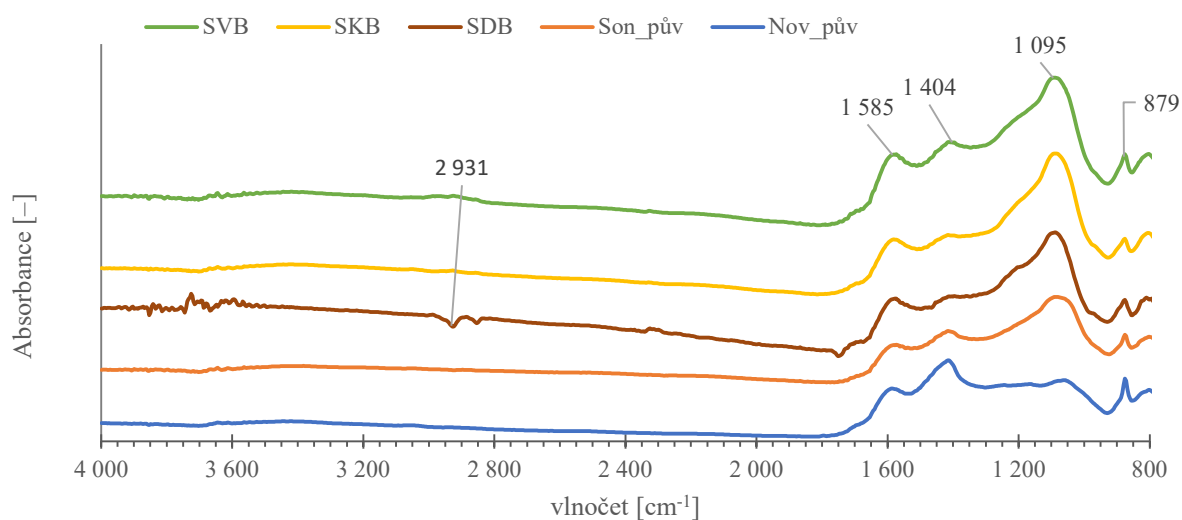
Na Obrázek 16 lze pozorovat výrazně odlišný tvar termogramu u zlyofilizovaného výluhu a u biouhlu (původního i po extrakci ve vodě). Lze pozorovat, že zlyofilizované výluhy mají mnohem menší zastoupení organické hmoty, ale výrazné množství minerální části. Lze tedy vyčíst, že hlavní složka, které se z roztoků vyluhuje jsou soli. Tento výsledek dobře koreluje s výsledky měření pH, konduktivity a zejména ICP-OES.

6.2.3 Stanovení vnitřních strukturních změn biouhlů bez předchozí kultivace v půdě

Pro hlubší analýzu základních strukturních motivů, které se objevují v jednotlivých vzorcích biouhlů a rovněž pro posouzení vlivu jednotlivých činitelů působících degradaci struktury biouhlu (vyluhování ultračistou destilovanou vodou, kořenovými exsudáty, působení mikrobiální aktivity v půdě) byla použita metoda FTIR. Následně byla provedena interpretace

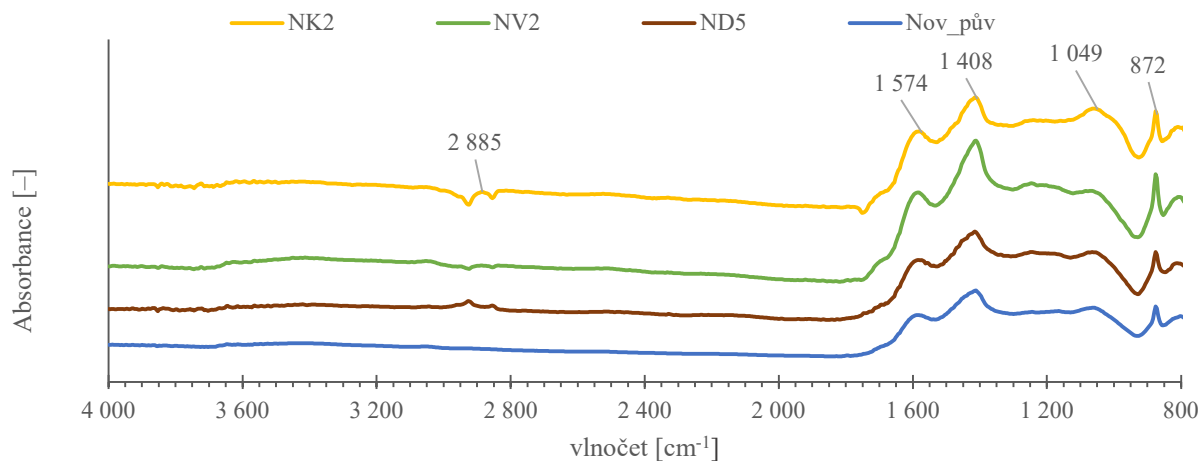
dat jednotlivých absorpčních pásů. Všechna výsledná FTIR spektra vykazují několik společných spektrálních rysů.

Následující popis spektra platí pro Obrázky 16, 17 a 27–29. První výraznější pásy jsou při $3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ a přisuzují se alifatickým skupinám, přítomným ve struktuře biouhlu. Tyto pásy nejsou pozorovatelné u všech vzorků. Další charakteristický rys je reprezentován širokým pásmem okolo $1600\text{--}1570\text{ cm}^{-1}$ (druhý pás zleva). Zde se objevuje proměnlivá relativní intenzita, která se přisuzuje symetrické C=C vazbě v aromatických molekulách. Přítomnost aromatických kruhů se také projevuje ostrým pásmem s centrem přibližně při $875\pm 5\text{ cm}^{-1}$ (první pás zprava). Přítomnost aromatických kruhů a/nebo anorganického uhlíčitanu byla potvrzena intenzivním pásem při $1415\pm 10\text{ cm}^{-1}$ (třetí pás zleva) u všech vzorků. Poslední charakteristickou oblastí je pás při $1080\pm 10\text{ cm}^{-1}$ (druhý zprava), který odpovídá asymetrické C–O–C vazbě ve směsných etherech.



Obrázek 17: FTIR spektra biouhlů po krátkodobých extrakčních experimentech.

Na Obrázku 17 jsou kromě spekter původních vzorků biouhlů rovněž znázorněna FTIR spektra biouhlů Sonnenerde po krátkodobých extrakčních experimentech bez předchozí kultivaci v půdě. Na Obrázku 17 se také nachází spektrum původního biouhlu Sonnenerde a NovoTerra pro porovnání s ostatními vzorky biouhlů. Původní biouhel NovoTerra má oproti biouhlu Sonnenerde méně výrazný pás při 1095 cm^{-1} . Dále lze také ve spektru pozorovat v případě biouhlu Sonnenerde v dešťové vodě alifatický pás při 2931 cm^{-1} . Celkově však mezi spektry původního biouhlu Sonnenerde a roztoky po krátkodobé extrakci nejsou viditelné velké rozdíly, je tedy zřejmé, že jednorázové vyluhování pomocí vody (ultračistě destilované a modelové dešťové) respektive modelového kořenového exsudátu (roztok kyseliny citronové) nezpůsobuje dle očekávání žádné změny v základní struktuře biouhlu. FTIR spektrum krátkodobých extrakčních experimentů pro biouhly NovoTerra se nachází v příloze, kdy mezi spektry pro biouhly Sonnenerde a NovoTerra nebyly výrazné rozdíly.



Obrázek 18: FTIR spektra biouhlů po dlouhodobých extrakčních experimentech.

Na Obrázku 18 jsou znázorněna FTIR spektra biouhlu NovoTerra po dlouhodobých extrakčních experimentech bez předchozí kultivace v půdě. Opět byla využita pro opakované vyluhování voda (ultračistá destilovaná a modelová dešťová) a roztok kyseliny citronové (modelový kořenový exsudát). Spektra pro biouhly Sonnenerde se nachází v příloze a platí pro ně stejné komentáře jako pro Obrázek 18. Pro biouhel NovoTerra v kyselině citronové jde pozorovat výraznější alifatický pás při 2885 cm^{-1} . Tento pás lze pozorovat i u biouhlů NovoTerra v modelové dešťové vodě a v ultračisté destilované vodě, ale tento pás není příliš výrazný. Opět zde jinak nedochází k žádným výrazným strukturním změnám oproti původnímu biouhlu. Tyto výsledky naznačují, že vyluhováním ve vodných roztocích (ultračistá destilovaná voda a modelová dešťová voda) ani v modelovém exsudátu (zředěné kyselině citronové) nedochází k zásadním změnám v struktuře studovaných biouhlů. To je v souladu s očekávaním, kdy se předpokládá dlouhodobé působení biouhlu v půdě po jeho aplikaci jakožto půdní kondicionér.

6.3 Charakterizace výluhů po extrakcích s předchozí kultivací biouhlů v půdě

Na výluzích po extrakci biouhlů s předchozí kultivací byly provedeny stejné analýzy jako na výluzích biouhlů bez předchozí kultivace. Byly simulovány stejné podmínky, aby bylo možné zjistit, zda dochází k rozdílům a tedy, jestli mikrobiální degradace představuje dominantní způsob, kterým může docházet k degradaci biouhlu.

6.3.1 Stanovení pH a vodivosti biouhlů kultivovaných v půdě

U obou cyklů vyextrahovaných roztoků bylo změřeno pH a vodivost (viz kapitola 5.6.1). Všechny data byly zapsané do Tabulka 8.

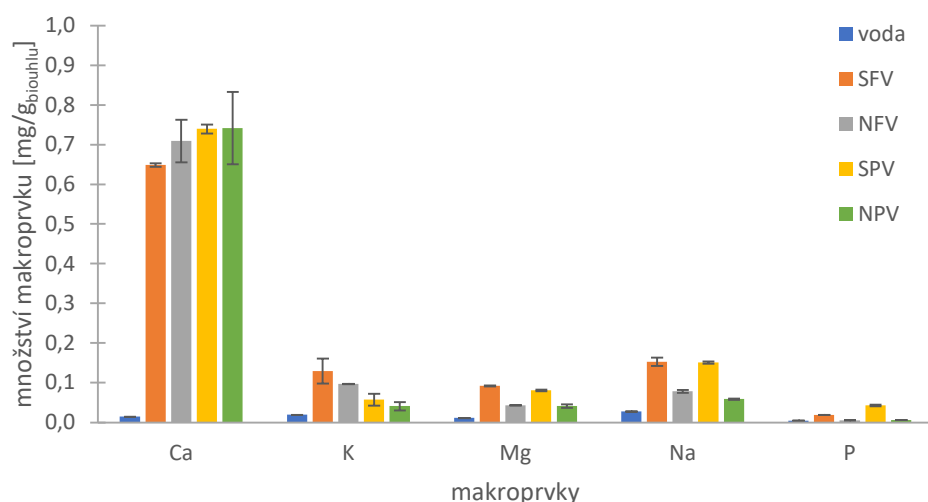
Tabulka 8: pH a vodivost roztoků po extrakci biouhlu kultivovaného v půdě.

vzorek	značení	1. cyklus		2. cyklus	
		pH [-]	σ [$\mu\text{S}/\text{cm}$]	pH [-]	σ [$\mu\text{S}/\text{cm}$]
Sonnenerde ve fluvizemi v ultračisté destilované vodě	SFV1	7,31	312	7,30	503
	SFV2	7,20	293	7,32	587
NovoTerra ve fluvizemi v ultračisté destilované vodě	NFV1	7,29	282	7,49	482
	NFV2	7,35	304	7,26	594
Sonnenerde v písčité půdě v ultračisté destilované vodě	SPV1	7,28	412	7,27	566
	SPV2	7,21	455	7,13	577
NovoTerra v písčité půdě v ultračisté destilované vodě	NPV1	7,20	227	7,18	480
	NPV2	7,15	249	7,11	609
Sonnenerde ve fluvizemi v modelové dešťové vodě	SFD1	7,12	595	7,22	873
	SFD2	7,15	611	7,36	867
NovoTerra ve fluvizemi v modelové dešťové vodě	NFD1	7,32	588	7,70	797
	NFD2	7,40	621	7,71	760
Sonnenerde v písčité půdě v modelové dešťové vodě	SPD1	7,18	782	7,14	966
	SPD2	7,15	949	7,36	1032
NovoTerra v písčité půdě v modelové dešťové vodě	NPD1	7,30	563	7,78	725
	NPD2	7,18	597	7,04	939
Sonnenerde ve fluvizemi v kyselině citronové	SFK1	7,27	270	7,17	543
	SFK2	7,26	267	7,69	385
NovoTerra ve fluvizemi v kyselině citronové	NFK1	7,24	296	7,26	656
	NFK2	7,32	300	7,15	601
Sonnenerde v písčité půdě v kyselině citronové	SPK1	7,27	472	7,81	413
	SPK2	7,32	458	7,23	569
NovoTerra v písčité půdě v kyselině citronové	NPK1	7,27	245	7,23	587
	NPK2	7,19	236	7,68	410

Tabulka 8 zaznamenává pH a vodivost jednotlivých extrakčních roztoků aplikovaných na jednotlivé biouhly, které byly kultivovány v půdě. Všechny roztoky mají menší pH, než tomu bylo u výluhů biouhlů bez předchozí kultivace (viz Obrázek 5 a 6). Hodnota pH se u roztoků dostává do neutrální oblasti pH stupnice a v čase se příliš nemění. Ve všech případech dochází k nárůstu vodivosti roztoků v čase, což může souviset s vyluhováním nízkomolekulárních látek sorbovaných na povrchu biouhlu po aplikaci v půdě. Lze také pozorovat, že kromě roztoků v kyselině citronové, má biouhel Sonnenerde většinou vyšší vodivost, než je tomu u roztoků biouhlu NovoTerra. Dále také platí, že všechny vzorky biouhlů extrahované v modelové dešťové vodě mají vyšší vodivost než výluhy ze zbylých dvou roztoků.

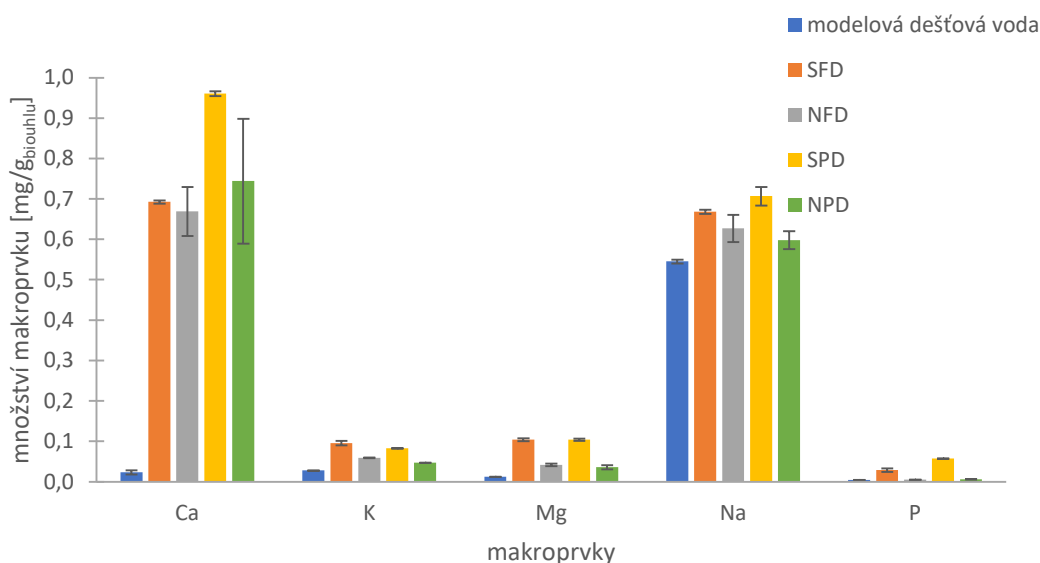
6.3.2 Prvková analýza roztoků po extrakcích s předchozí kultivací v půdě

Pro stanovení, zda dochází u výluhů z biouhlů po kultivaci v půdě k nějaké změně v prvkovém složení byla opět provedena prvková analýza ICP-OES. Výsledky z analýzy jsou znázorněny na Obrázku 19.



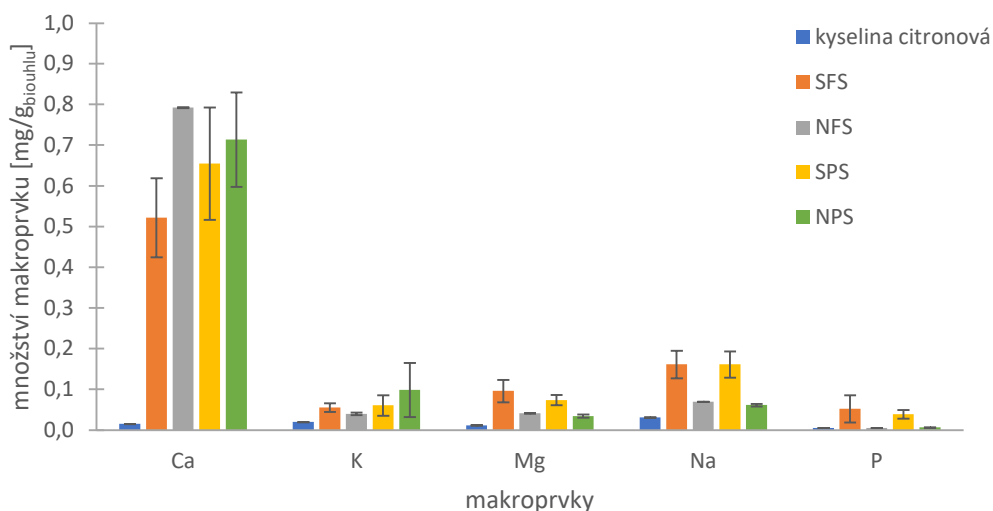
Obrázek 19: Prvkové zastoupení výluhů biouhlů kultivovaných v půdě po extrakci v ultračisté destilované vodě.

Obrázek 19 znázorňuje prvkové složení výluhů z biouhlů Sonnenerde a NovoTerra, kultivovaných ve fluvizemi a v písčité půdě, které byly extrahovány v ultračisté destilované vodě. Je zřejmé, že nejvyšší zastoupení zde má vápník, který se vyskytuje ve větším množství u výluhů z biouhlů kultivovaných v písčité půdě. Oproti výluhům bez předchozí kultivace biouhlu v půdě zde ve všech případech dochází k výraznému navýšení množství tohoto prvku. Naopak množství draslíku u vzorků, které byly kultivovány v půdě výrazně pokleslo. Větší zastoupení zde mají vzorky, které byly kultivovány ve fluvizemi. Tohle pozorování potvrzuje výsledky z dlouhodobých sekvenčních extrakcí, kdy byl pozorován výrazný pokles draslíku ve vzorcích, což způsobovalo rovněž pokles vodivosti a pH výluhů. Co se hořčíku týče, zde se jeho množství, ve srovnání s výluhy biouhlů bez předchozí kultivace, příliš nemění a platí, že biouhel Sonnenerde obsahuje větší množství hořčíku oproti biouhlu NovoTerra. U sodíku taky k výrazným rozdílům nedošlo a biouhel Sonnenerde má vyšší množství tohoto prvku oproti biouhlu NovoTerra. V případě fosforu dochází u biouhlu Sonnenerde k výraznému poklesu množství tohoto prvku oproti biouhlu Sonnenerde bez kultivace v půdě.



Obrázek 20: Prvkové zastoupení výluhů biouhlů kultivovaných v půdě po extrakci v modelové dešťové vodě.

Opět jako na Obrázku 19 i v případě vyluhování vzorků biouhlů po kultivacích v půdě modelovou dešťovou vodou dochází k výraznému nárůstu množství vápníku, kdy biouhel Sonnenerde má v obou případech tohoto prvku více. Obrázek 20 také ukazuje, že v případě sodíku došlo k výraznému nárůstu u všech vzorků. U draslíku opět dochází k výraznému poklesu a větší množství má opět biouhel Sonnenerde, což opět patrně způsobuje pozorovaný pokles pH a vodivosti výluhů ze vzorků po kultivačních experimentech oproti původním biouhlům. U hořčíku zde opět k žádným výrazným změnám nedošlo a opět platí, že biouhel Sonnenerde má větší množství hořčíku oproti biouhlu NovoTerra. Ohledně fosforu, tak zde došlo u všech vzorků k výraznému poklesu fosforu, který může být způsoben tím, že rostlina tento prvkem využívá jako svou výživu.



Obrázek 21: Prvkové zastoupení výluhů biouhlů kultivovaných v půdě po extrakci v kyselině citronové.

Obrázek 21 zobrazuje prvkovou analýzu biouhlů, které byly kultivovány v písčité půdě a ve fluvizemi, a které byly následně extrahovány v kyselině citronové. Opět zde platí, že nejvyšší zastoupení má vápník, ale tentokrát má vyšší zastoupení u biouhlu NovoTerra. V případě draslíku došlo opět k výraznému poklesu oproti biouhlům bez předchozí kultivace. U hořčíku a sodíku nedošlo k výrazným změnám a vyšší zastoupení těchto prvků má biouhel Sonnenerde. U fosforu obzvláště u biouhlu Sonnenerde došlo k výraznému poklesu. Pokles draslíku a fosforu může souviset jednak s jejich vyluhováním v důsledku promývání biouhlů v půdách po záливce, ale může být rovněž pravděpodobně způsoben tím, že se jedná o výživu rostlin a tedy, že kukuřice setá (*Zea Mays*), která byla v půdě s biouhlem pěstována, tak využila tyto prvky pro svou výživu.

6.3.3 Sledování změny obsahu organické hmoty ve výlužích biouhlů kultivovaných v půdě

Pro porovnání, jak se mění obsah vyluhovatelné organické hmoty ve výlužích biouhlů po kultivaci v půdě byla opět využita UV-VIS analýza těchto roztoků. Výsledky jsou shrnuty v Tabulce 9. Při experimentech s předchozí kultivací biouhlu v půdě byla opakování provedena dvě kvůli omezenému objemu původního vzorku biouhlu po kultivaci

Tabulka 9: Absorbance vzorků biouhlu po kultivaci v půdě při vlnové délce 210 nm.

vzorek	t [dny]		vzorek	t [dny]	
	1 A [-]	8 A [-]		1 A [-]	8 A [-]
SFV	0,958±0,001	0,498±0,017	NFV	0,848±0,007	0,535±0,061
SPV	1,633±0,007	1,168±0,068	NPV	1,098±0,004	0,707±0,009
SFD	0,516±0,010	0,391±0,157	NFD	0,378±0,017	0,334±0,055
SPD	1,451±0,230	1,192±0,159	NPD	0,679±0,060	0,557±0,034
SFK	0,964±0,017	0,564±0,032	NFK	0,784±0,072	0,409±0,043
SPK	1,744±0,413	1,401±0,076	NPK	1,120±0,531	0,761±0,088

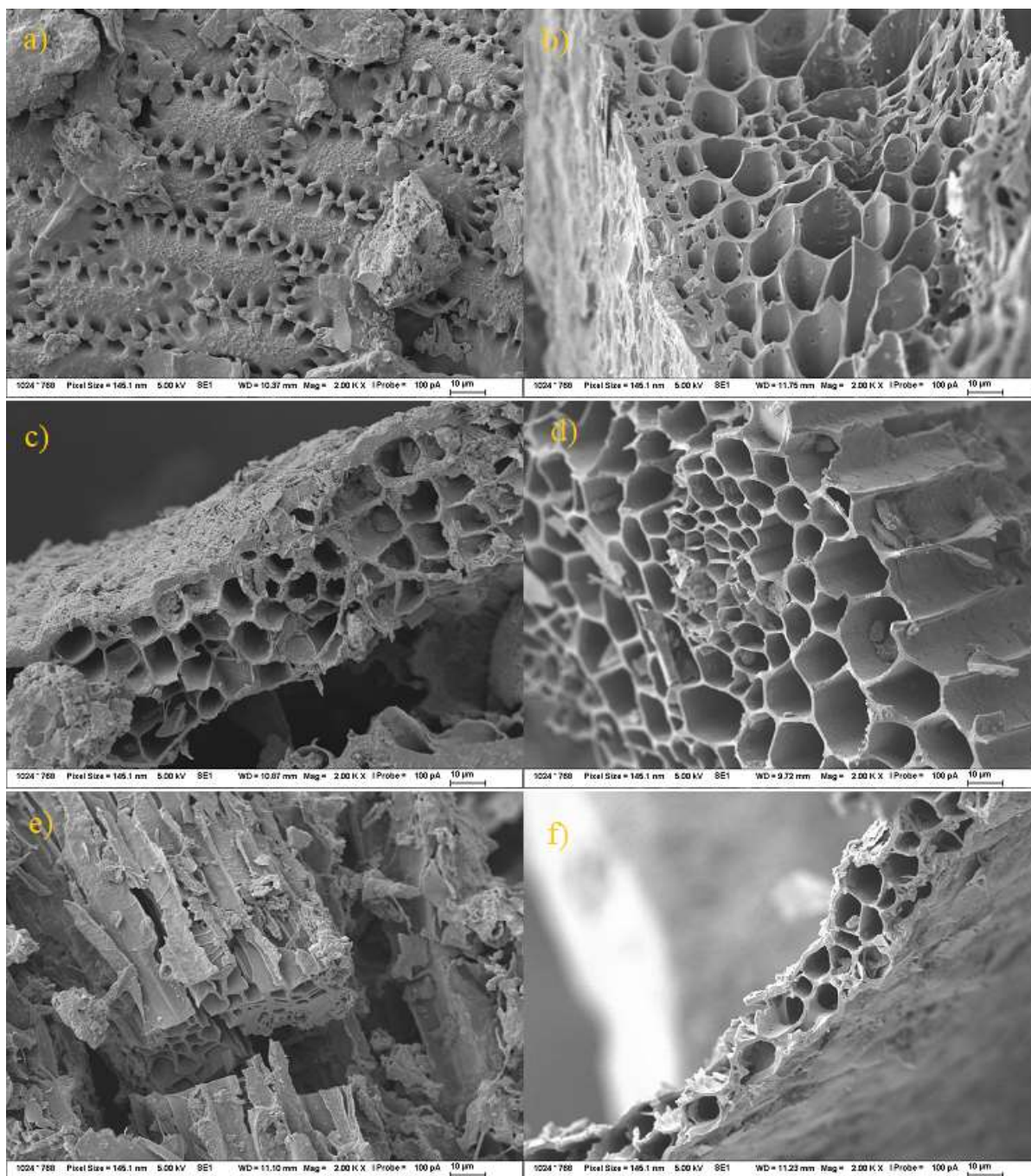
Tabulka 9 obsahuje průměrné naměřené absorbance vzorků biouhlu po kultivaci v půdě při vlnové délce 210 nm. Opět zde platí (jako v Tabulce 5), že výluhy ze vzorků Sonnenerde mají vyšší absorbanci než výluhy ze vzorků biouhlů NovoTerra. Obdobně z dat vyplývá, že v případě výluhů ze vzorků biouhlů po kultivačních experimentech byly naměřeny pro všechna prostředí nižší absorbance v porovnání s výluhy z původních vzorků. To naznačuje, že jistá část vyluhovatelné organické hmoty přešla z biouhlu během kultivace do půd, což může být způsobeno sorpcí organické hmoty z půdy na biouhel po záливce anebo rovněž působením půdních mikroorganismů, které mohly zapříčinit částečnou degradaci organické hmoty biouhlu, která byla následně vyluhována ve větší míře. U všech vzorků také platí, že daná sada vzorků kultivovaných v písčité půdě má vyšší hodnoty naměřených absorbancí výluhů oproti vzorkům kultivovaných ve fluvizemi. U všech vzorků také lze pozorovat pokles absorbance s opakovatelnými cykly realizovaných vyluhovacích experimentů v čase. Kromě vzorku SPD po 8 dnech, všechny vzorky extrahované v modelové dešťové vodě po dobu 8 dní mají opět nejnižší hodnoty absorbance, což naznačuje, že zde dochází k nejvyššímu vymývání rozpuštěné organické hmoty.

6.4 Charakterizace zbytků biouhlů kultivovaných v půdě po extrakcích

Pro posouzení, zda dochází k mikrobiální degradaci biouhlu po jejich aplikaci do půdy jakožto půdního kondicionéru, byly na biouhlech získaných po dlouhodobé kultivaci v půdě provedeny rovněž výše popsané extrakční experimenty a zbytky biouhlů po extrakcích byly podrobeny analýze SEM, kvůli morfologii biouhlu, analýze TGA kvůli studiu změny obsahu organické hmoty a minerální složky a analýze FTIR kvůli identifikaci případných změn ve struktuře.

6.4.1 Charakterizace morfologie biouhlů po předchozí kultivaci v půdě

Pro porovnání změny morfologie biouhlů jsou na Obrázku 22 zobrazeny jak původní biouhly před kultivací, tak i biouhly po kultivaci v půdě. Pro tyto účely byla využita SEM vizualizace.



Obrázek 22: Fotografie biouhlů ze SEM zobrazovací analýzy, zvětšeno 2000×: a) NovoTerra původní, b) Sonnenerde původní, c) NovoTerra po kultivaci ve fluvizemi, d) Sonnenerde po kultivaci ve fluvizemi, e) NovoTerra po kultivaci v písčité půdě, f) Sonnenerde po kultivaci v půdě.

Na Obrázek 22 lze pozorovat, že u biouhlů kultivovaných v půdě dochází k zanášení pórů biouhlu, kdy u biouhlů kultivovaných v písčité půdě dochází k většímu zanášení pórů. Na obrázku také lze pozorovat, že nedochází k degradaci biouhlu, jelikož vysoce porézní struktura biouhlů s velkým množstvím pórů a vnitřního povrchu zůstává i po dlouhodobé kultivaci v půdách zachována. Fotky biouhlu po kultivacích a následných extrakcích v modelové dešťové vodě jsou v příloze (viz Obrázek 25) a platí pro ně popis jako pro Obrázek 22, a tedy, že k degradaci nedochází, pouze k zanášení pórů biouhlů.

6.4.2 TGA analýza na vzorcích biouhlů s předchozí kultivací v půdě

Pro porovnání se vzorky bez předchozí kultivace biouhlu v půdě, byly i vzorky biouhlů a zlyofilizovaných roztoků biouhlů po kultivaci v půdě podrobeny termogravimetrické analýze. Výsledky byly sepsány do Tabulky 10.

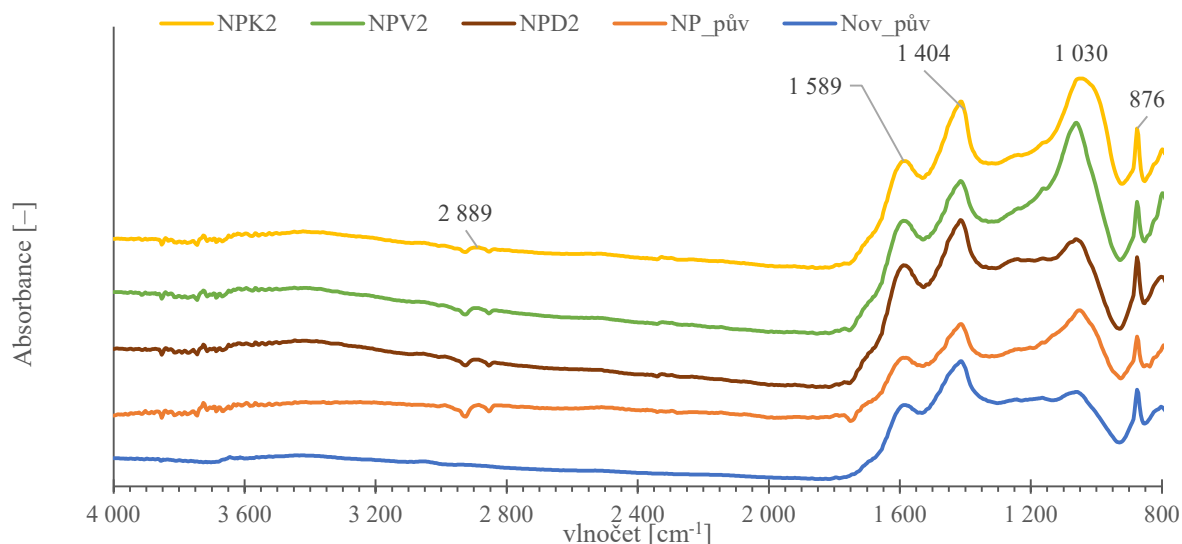
Tabulka 10: Obsah organické hmoty a minerálních látek zjištěných za pomoci termogravimetrické analýzy.

vzorek	organika [hm.%]	minerální část [hm.%]	vzorek	organika [hm.%]	minerální část [hm.%]
NF_pův	80,7	19,3	SF_pův	72,1	27,9
NP_pův	77,0	23,0	SP_pův	68,9	31,1
NFV	77,6	22,4	SFV	72,6	27,4
NFD	73,6	26,4	SFD	72,5	27,5
NFK	81,6	18,4	SFK	71,9	28,1
NPV	78,2	21,8	SPV	62,4	37,6
NPD	72,3	27,7	SPD	67,8	32,2
NPK	77,1	22,9	SPK	64,8	35,2

Z Tabulky 10 lze vyčíst, že u obou původních vzorků biouhlů má vyšší obsah organiky biouhel kultivovaný ve fluvizemi. U zlyofilizovaných vzorků výluhů z biouhlu Sonnenerde platí, že všechny vzorky, kde byl použit biouhel kultivovaný v písčité půdě má vyšší obsah minerální části. V porovnání s původním biouhlem bez předchozí kultivace v půdě v Tabulce 6 a v Tabulce 7, tak u obou biouhlů kultivovaných jak v písčité půdě, tak i ve fluvizemi, klesl obsah organické hmoty. To naznačuje částečné spotřebovávání organické hmoty v biouhlech v důsledku přítomnosti rostliny (kukuřice setá), která byla kultivována na půdách s přidávkou biouhlů během dlouhodobých kultivačních experimentů. To samé platí pro vzorky zlyofilizovaných roztoků, tedy že klesl obsah organické hmoty a narostl podíl minerálních látek.

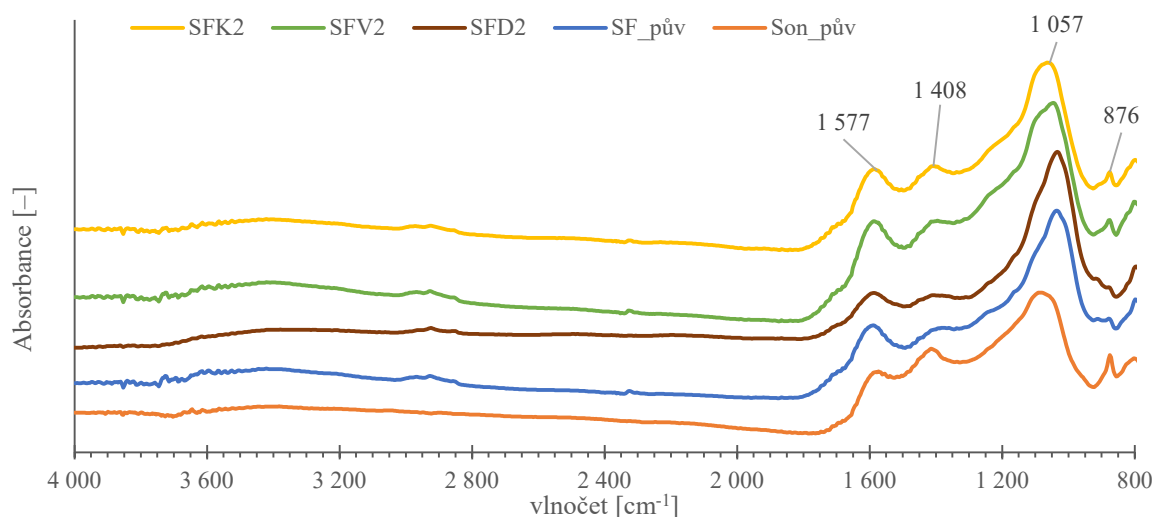
6.4.3 Stanovení strukturních změn biouhlů s předchozí kultivací biouhlů v půdě

Pro identifikaci strukturních změn biouhlů s předchozí kultivací těchto biouhlů v písčité půdě a ve fluvizemi byla použita FTIR analýza. FTIR spektra těchto biouhlů jsou znázorněna na Obrázku 23 a Obrázku 24.



Obrázek 23: FTIR spektra biouhlů NovoTerra po kultivacích v písčité půdě.

Obrázek 23 znázorňuje FTIR spektra původního vzorku biouhlu NovoTerra, téhož vzorku po dvouleté kultivaci v písčité půdě a vzorků biouhlu po kultivaci v písčité půdě, které byly podrobeny vyluhování do vody (destilovaná, modelová dešťová) a kyseliny citronové. Obdobnou sadu FTIR spektra biouhlů NovoTerra kultivovaných ve fluvizemi se nacházejí v příloze práce (Obrázek 28) a platí pro ně popis jako u Obrázku 23. Kromě původního vzorku biouhlu NovoTerra (bez předchozí kultivace) lze pozorovat alifatický pás při 2889 cm^{-1} u všech vzorků. U pásu při 1030 cm^{-1} zde dochází u vzorku biouhlu NovoTerra v ultračisté destilované vodě k mírnému posunu k vyšším vlnočtům. Původní biouhel bez kultivace tento pás nemá příliš výrazný.



Obrázek 24: FTIR spektra biouhlů Sonnenerde po kultivacích ve fluvizemi.

FTIR spektra biouhlů Sonnenerde kultivovaných ve fluvizemi jsou na Obrázku 24. Spektra pro biouhly Sonnenerde v písčité půdě se nachází v příloze a platí pro ně popis jako pro Obrázek 24. Vzorky biouhlu Sonnenerde v modelové dešťové vodě a původní vzorek po kultivaci mají

oproti ostatním vzorkům méně výrazný pás při 1408 cm^{-1} a také pás při 876 cm^{-1} . Oba tyto pásy odpovídají aromatickým strukturám.

7 ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo definovat a experimentálně ověřit činitele, které mohou na biouhel působit. Bylo simulováno půdní prostředí bez přítomnosti mikroorganismů po dešti (výluhy v ultračisté destilované vodě a modelové dešťové vodě) a půdní prostředí s působením kořenových exsudátů (výluhy v kyselině citronové).

V rámci experimentální části práce byly analyzovány jak výluhy z biouhlů, tak i pevné zbytky biouhlů po extrakcích. U výluhů se měřilo pH a vodivost, díky čemuž bylo možné pozorovat, jak v čase klesá pH i vodivost. Klesající vodivost značí, že dochází k vymývání iontů v menší míře a klesající pH ukazuje, že se již nevymývá tolik alkalických prvků, které na počátku experimentu zvyšovaly pH těchto roztoků. Za pomoci ICP-OES analýzy bylo zjištěno, že mezi ionty, které se vymývají v největší míře, patří zejména draslík, který způsobuje alkalický charakter biouhlů a výrazně zvyšuje pH roztoků a dále v menší míře také Na, Ca a Mg. U výluhů bylo za pomoci UV-VIS pozorován pokles organické složky v čase, kdy tento pokles organické hmoty byl ověřován i za pomoci termogravimetrie. U zlyofilizovaných výluhů na termogravimetrické analýze bylo možné pozorovat, jak dochází k vymývání organické složky oproti zbytkům biouhlu a míra vymývání výrazně klesá s opakovanými cykly jednotlivých extrakcí. Na vzorcích biouhlů byla pomocí SEM zobrazovací analýzy pozorována jejich morfologie. Na pořízených fotografiích lze pozorovat, že fyzikálně-chemickým vyluhováním nedochází k degradaci biouhlů. Za pomoci FTIR analýzy se zjišťovaly změny ve vnitřní struktuře biouhlu, kdy až na občasné drobné posuny jednotlivých pásů ve spektrech, nebyly pozorovány žádné významné změny.

Získané výsledky byly porovnány se vzorky biouhlů, které byly po dobu 2 let kultivovány v písčité půdě a ve fluvizemi, kdy na jednotlivých půdách s nadávkovaným biouhlem, jakožto půdním kondicionérem, byla v opakovaných cyklech pěstována kukuřice setá. Během kultivace v půdě bylo na biouhly působeno jak fyzikálně-chemickou degradací (řízená závlaha a vliv kořenových exsudátů), tak zde byl přítomen i faktor mikrobiální degradace.

Biouhly, které byly kultivovány v půdě, byly rovněž podrobeny extrakcím v ultračisté vodě, v modelové dešťové vodě a v kyselině citronové. U vyluhovaných roztoků bylo změřeno pH i vodivost. Všechny tyto roztoky měly nižší pH než extrahované roztoky biouhlů bez předchozí kultivace v půdě. Je to nejspíše proto, že část iontů se působením závlahy a kořenových exsudátů vyextrahovala do půdy. Prvková analýza výluhů z biouhlů po kultivaci v půdě ukázala, že pokles pH a vodivost souvisí s výrazným poklesem obsahu alkalického kovu draslíku u všech vzorků biouhlů. Vlivem kultivace v půdě také došlo k nárůstu množství Ca a v případě výluhů v modelové dešťové vodě a kyselině citronové i k nárůstu Na. Mimo výše popsaného poklesu obsahu u biouhlu Sonnenerde byl pozorován výrazný poklesu P. Pokles K a P je u biouhlů kultivovaných v půdě pravděpodobně způsoben tím, že rostliny tyto prvky využívají jako zdroj živin a v menší míře dochází k jejich vyplavování do půdy. Na výluzích byla rovněž provedena analýza UV-VIS, kdy bylo zjištěno, že vzorky biouhlů Sonnenerde mají vždy vyšší obsah organické složky a u obou biouhlů také platí, že vzorky kultivované v písčité půdě obsahují rovněž vyšší množství organické hmoty. Je to nejspíše způsobeno tím, že písčité půda, jakožto méně úrodná půda, obsahuje menší množství kolonií mikroorganismů. Mikroorganismy svou činností způsobují degradaci organické hmoty a částečně ji rovněž

využívají jako svůj zdroj živin. Písečná půda v důsledku horší kvality obsahuje těchto mikroorganismů menší množství, tím pádem patrně nedošlo k takovému poklesu organické hmoty oproti úrodnější a na mikroorganismy bohatší fluvizemi. Na záznamech ze SEM zobrazovací analýzy lze pozorovat, že ani kultivací v půdě nedochází u biouhlů k zásadnější degradaci jejich struktury, ale pouze k zanášení pórů nečistotami, což je pozitivní výsledek vzhledem k dlouhodobému působení biouhlu v půdě při jeho využití jakožto půdní kondicionér. V případě FTIR analýzy opět nedošlo k výrazným strukturním změnám u studovaných biouhlů po kultivaci v půdě.

Z provedeného experimentu vyplynulo, že nedochází k výrazné degradaci pórovité struktury, a zároveň nedochází k vyčerpání organické hmoty v biouhlu. Tyto výsledky značí, že biouhel v půdě nedegraduje a lze tedy předpokládat jeho pozitivní působení v půdě jakožto půdního kondicionéru v delším časovém horizontu od jeho aplikace.

SEZNAM LITERATURY

- [1] KLUSÁK, Vojtěch a Jan HOLLAN. Biouhel, alespoň stéblo naděje. *Veronica*. Brno, 2009, (5). ISSN 1213-0699.
- [2] PLEŠNÍK, Jan. Půdy ve světě ubývá víc, než se soudilo. In: *Ochrana přírody* [online]. Praha: Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, 2016 [cit. 2021-11-13]. Dostupné z: <http://www.casopis.ochranaprirody.cz/kuler-zpravy-aktuality-zajimavosti/pudy-ve-svete-ubyva-vic-nez-se-soudilo/>
- [3] AQEEL, Muhammad, Mohd. JAMIL a Ismail YUSOFF. Soil Contamination, Risk Assessment and Remediation. *Environmental Risk Assessment of Soil Contamination*. InTech, 2014. ISBN 978-953-51-1235-8. Dostupné z: doi:10.5772/57287
- [4] MARTÍNEK, Ondřej. Biouhel – staronový pomocník pro řešení aktuálních výzev?. *ENVI profi*. Praha: Verlag Dashöfer, 2020.
- [5] *Význam půdních mikroorganismů pro produkční a mimoprodukční funkce půdy* [online]. Brno: Mendelova univerzita Brno [cit. 2021-06-05]. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=3373&typ=html
- [6] *Merriam-Webster: biochar* [online]. [cit. 2021-04-03]. Dostupné z: <https://www.merriam-webster.com/dictionary/biochar>
- [7] LEHMANN, Johannes a Stephen JOSEPH, ed. *Biochar for environmental management: Science and technology*. Londýn: Earthscan, 2009. ISBN 978-1-84407-658-1.
- [8] JOSEPH, S., P. TAYLOR, F. REZENDE, K. DRAPER a A. COWIE. *The Properties of Fresh and Aged Biochar*.
- [9] BREWER, Catherine a Jonah LEVINE. Weight or Volume for Handling Biochar and Biomass?. *The Biochar Journal*. Switzerland: Arbaz, 2015. ISSN 2297-1114.
- [10] BREWER, Catherine, Victoria CHUANG, Caroline MASIELLO et al. New approaches to measuring biochar density and porosity. *Biomass and Bioenergy*. 2014, **66**, 176-185. ISSN 09619534. Dostupné z: doi:10.1016/j.biombioe.2014.03.059
- [11] WEBER, Kathrin a Peter QUICKER. Properties of biochar. *Fuel*. 2018, **217**, 240-261. ISSN 00162361. Dostupné z: doi:10.1016/j.fuel.2017.12.054
- [12] LI, Hongbo, Xiaoling DONG, Evandro DA SILVA, Letuzia DE OLIVEIRA, Yanshan CHEN a Lena MA. Mechanisms of metal sorption by biochars: Biochar characteristics and modifications. *Chemosphere*. 2017, **178**, 466-478. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2017.03.072

- [13] SCHMIDT, Hans, Thomas BUCHELI, Claudia KAMMANN, Bruno GLASER, Samuel ABIVEN a Jens LEIFELD. 'European Biochar Certificate - Guidelines for a Sustainable Production of Biochar. *European Biochar Foundation (EBC)*. Switzerland, 2019.
- [14] WIJITKOSUM, Saowanee a Preamsuda JIWNOK. Elemental Composition of Biochar Obtained from Agricultural Waste for Soil Amendment and Carbon Sequestration. *Applied Sciences*. 2019, **9**(19). ISSN 2076-3417. Dostupné z: doi:10.3390/app9193980
- [15] CHEN, Wenfu, Jun MENG, Xiaori HAN, Yu LAN a Weiming ZHANG. Past, present, and future of biochar. *Biochar*. 2019, **1**(1), 75-87. ISSN 2524-7972. Dostupné z: doi:10.1007/s42773-019-00008-3
- [16] KLUSÁK, Vojtěch. Biouhel, staronový pomocník při utváření úrodné půdy. *Agrospoj*. 2014, **9**.
- [17] GLASER, Bruno, Ludwig HAUMAIER, Georg GUGGENBERGER a Wolfgang ZECH. The 'Terra Preta' phenomenon: a model for sustainable agriculture in the humid tropics. *Naturwissenschaften*. 2001, **88**(1), 37-41. ISSN 0028-1042. Dostupné z: doi:10.1007/s001140000193
- [18] TRIPATHI, Manoj, J.N. SAHU a P. GANESAN. Effect of process parameters on production of biochar from biomass waste through pyrolysis: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2016, **55**, 467-481. ISSN 13640321. Dostupné z: doi:10.1016/j.rser.2015.10.122
- [19] FIGUEIREDO, Cícero, Heyder LOPES, Thais COSER, Ailton VALE, Jader BUSATO, Natália AGUIAR, Etelvino NOVOTNY a Luciano CANELLAS. Influence of pyrolysis temperature on chemical and physical properties of biochar from sewage sludge. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 2017, **64**(6), 881-889. ISSN 0365-0340. Dostupné z: doi:10.1080/03650340.2017.1407870
- [20] BŘENDOVÁ, Kateřina, Pavel TLUSTOŠ, Jiřina SZÁKOVÁ a Martin BOHUNĚK. Využití biouhlí (biocharu) k úpravě půdních vlastností. *Biom*. 2015. ISSN 1801-2655.
- [21] KIM, Kwang, Jae-Young KIM, Tae-Su CHO a Joon CHOI. Influence of pyrolysis temperature on physicochemical properties of biochar obtained from the fast pyrolysis of pitch pine (*Pinus rigida*). *Bioresource Technology*. 2012, **118**, 158-162. ISSN 09608524. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2012.04.094
- [22] JINDO, K., H. MIZUMOTO, Y. SAWADA, M. SANCHEZ-MONEDERO a T. SONOKI. *Physical and chemical characterization of biochars derived from different agricultural residues*. 2014. Dostupné z: doi:10.5194/bg-11-6613-2014
- [23] CHUN, Yuan, Guangyao SHENG, Cary CHIOU a Baoshan XING. *Compositions and Sorptive Properties of Crop Residue-Derived Chars*. 2004, **38**(17), 4649-4655. ISSN 0013-936X. Dostupné z: doi:10.1021/es035034w

- [24] Soil. In: *Britannica* [online]. 2020 [cit. 2021-06-03]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/soil>
- [25] *Definice, význam a funkce půdy* [online]. In: . [cit. 2021-06-04].
- [26] HLADKÝ, Jan. O vzniku půdy. *PŘÍRODA*. 2012. ISSN 1801-2787.
- [27] Definice půdy, vznik, složení a funkce. In: *Mendlova univerzita v Brně* [online]. Brno [cit. 2020-03-19]. Dostupné z: https://is.mendelu.cz/eknihovna/opory/zobraz_cast.pl?cast=55088
- [28] SYNEK, Jaroslav a Jan PETRÁNEK. Zvětrávání. *Encyklopedie geologie*. Praha: Česká geologická služba, 2007. ISBN 978-80-7075-901-1.
- [29] PAWLIK, Łukasz, Jonathan PHILLIPS a Pavel ŠAMONIL. Roots, rock, and regolith: Biomechanical and biochemical weathering by trees and its impact on hillslopes—A critical literature review. *Earth-Science Reviews*. 2016, **159**, 142-159. ISSN 00128252. Dostupné z: doi:10.1016/j.earscirev.2016.06.002
- [30] Půdní profil - půdní horizonty. In: *Česká geologická služba* [online]. [cit. 2021-06-05]. Dostupné z: <http://www.geology.cz/>
- [31] BLACK, C. *Soil science: Soil-plant relationships*. 3. Williams & Wilkins, 1985. ISBN 978-3-642-30941-0.
- [32] TAUFEROVÁ, Alexandra, Michaela PETRÁŠOVÁ, Jana POKORNÁ a Pavel BARTL. *Rostlinná produkce: Agroekosystém*. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014, 37–38.
- [33] KAŠTOVSKÁ, Eva. *Rhizosféra: místo, kde to žije*. Katedra biologie systémů, Přírodovědecká fakulta, 2019.
- [34] FISK, Susan. Root exudates affect soil stability, water repellency. *Soil Science Society of America*. 2018.
- [35] ŠIMEK, Miloslav, Dana ELHOTTOVÁ, Jiří SCHLAGHAMERSKÝ, Karel TAJOVSKÝ a Ivan TUF. Živá půda: Kdo v půdě žije?. *Živa*. 2020, (1), 27–36.
- [36] *Mikroorganismy jako indikátory stavu půdního prostředí: Půdní edafon - živá část půdy* [online]. Brno: Mendelova univerzita Brno [cit. 2021-06-05]. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=3407&typ=html
- [37] HOŠEK, . Zastoupení půdních organismů v půdní organické hmotě. In: *Význam půdních mikroorganismů pro produkční a mimoprodukční funkce půdy* [online]. 2006 [cit. 2022-02-22]. Dostupné z: https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=3971&typ=html

- [38] *Rozmanitost života a zdraví ekosystémů: Co je půda?*. Academia, 1–21.
- [39] Microorganism. In: *National Cancer Institute* [online]. [cit. 2022-04-20]. Dostupné z: <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/microorganism>
- [40] KRSEK, Martin. *Metody studia diverzity půdních mikrobiálních společenstev: Význam půdních mikroorganismů*. 2014.
- [41] TALAT, Nazia. Alleviation of soil salinization and the management of saline soils, climate change, and soil interactions. *Climate Change and Soil Interactions*. Elsevier, 2020, 305-329. ISBN 9780128180327. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-818032-7.00011-4
- [42] ŠANTRUČKOVÁ, Hana. *Základy ekologie půdy*. První. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2014, s. 44–66. ISBN 978-80-7394-480-3.
- [43] LADYGINA, Natalia a Francois RINEAU. *Biochar and Soil Biota*. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2013. ISBN 978-1-4665-7648-3.
- [44] SPOKAS, K., J. NOVAK, C. MASIELLO, M. JOHNSON, E. COLOSKY a J. IPPOLITO. Physical disintegration of biochar: An overlooked process. *Environmental Science & Technology Letters*. Washington, DC: American Chemical Society, 2014, (1), 326–332.
- [45] AMELOOT, Nele, Steven SLEUTEL, Sean CASE et al. C mineralization and microbial activity in four biochar field experiments several years after incorporation. *Soil Biology and Biochemistry*. 2014, **78**, 195-203. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2014.08.004
- [46] LIU, Zhaoyun, Walelign DEMISIE a Mingkui ZHANG. Simulated degradation of biochar and its potential environmental implications. *Environmental Pollution*. 2013, **179**, 146-152. ISSN 02697491. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2013.04.030
- [47] RECHBERGER, Maria, Stefanie KLOSS, Harald RENNHOFFER, Johannes TINTNER, Andrea WATZINGER, Gerhard SOJA, Helga LICHTENEGGER a Franz ZEHETNER. Changes in biochar physical and chemical properties: Accelerated biochar aging in an acidic soil. *Carbon*. 2017, **115**, 209-219. ISSN 00086223. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbon.2016.12.096
- [48] HAIDER, Ghulam, Diedrich STEFFENS, Christoph MÜLLER a Claudia KAMMANN. Standard Extraction Methods May Underestimate Nitrate Stocks Captured by Field-Aged Biochar. *Journal of Environmental Quality*. 2016, **45**(4), 1196-1204. ISSN 00472425. Dostupné z: doi:10.2134/jeq2015.10.0529
- [49] LOU, Yingmei, Stephen JOSEPH, Lianqing LI, Ellen GRABER, Xiaoyu LIU a Genxing PAN. Water Extract from Straw Biochar Used for Plant Growth Promotion: An Initial

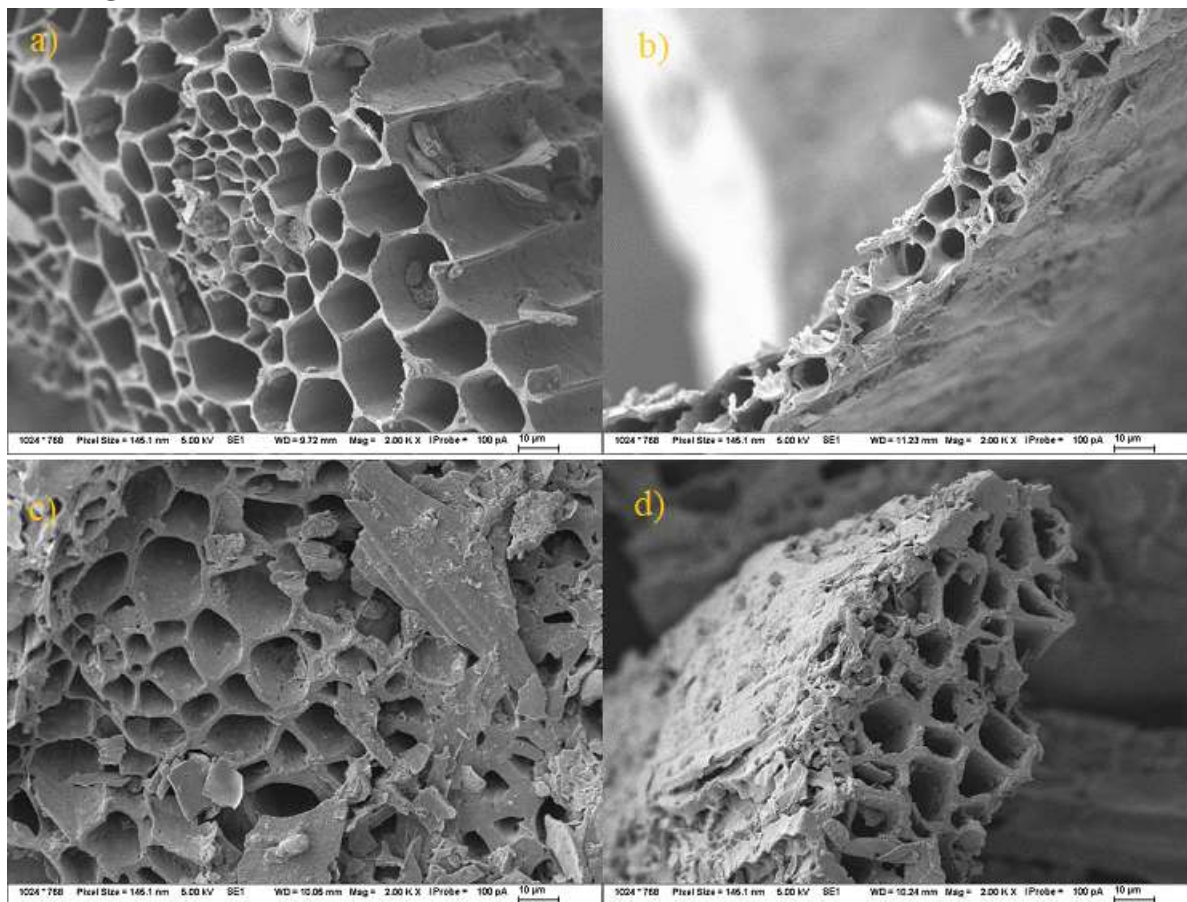
Test. *BioResources*. 2015, **11**(1), 249-266. ISSN 1930-2126. Dostupné z: doi:10.15376/biores.11.1.249-266

- [50] KURKOVÁ, Marie. *Studium vlivu aplikace biouhlu na organickou hmotu v půdě*. Brno, 2020. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Ing. Michal Kalina, Ph.D.
- [51] BUTNAN, Somchai, Jonathan DEENIK, Banyong TOOMSAN, Michael ANTAL a Patma VITYAKON. Biochar characteristics and application rates affecting corn growth and properties of soils contrasting in texture and mineralogy. *Geoderma*. 2015, 237-238, 105-116. ISSN 00167061. Dostupné z: doi:10.1016/j.geoderma.2014.08.010
- [52] GASKIN, Julia, R. SPEIR, Keith HARRIS, K. DAS, R. LEE, Lawrence MORRIS a Dwight FISHER. Effect of Peanut Hull and Pine Chip Biochar on Soil Nutrients, Corn Nutrient Status, and Yield. *Agronomy Journal*. 2010, **102**(2), 623-633. ISSN 00021962. Dostupné z: doi:10.2134/agronj2009.0083
- [53] POLÁK, Filip, Martin URÍK a Peter MATUŠ. Organické kyseliny s nízkou molekulovou hmotností v pôdnom prostredí. *Chemické listy*. 2019, (113), 307–314.
- [54] ADUDU, Judy, Shefiat AREKEMASE, Ibrahim ABDULWALIY, Musa BATARI, Helen RAPLONG, Bamidele ARONIMO a Yakubu SANI. Production of Citric Acid from Corn Stalk through Submerged Fermentation Using *Aspergillus niger*. *Journal of Applied Sciences*. 2019, **19**(6), 557-564. ISSN 18125654. Dostupné z: doi:10.3923/jas.2019.557.564
- [55] *EBC - European Biochar Certification* [online]. Ithaka Institute [cit. 2022-04-29]. Dostupné z: <https://www.european-biochar.org/en>
- [56] GALLI, Verónica, Antonia GARCÍA, Luis SAAVEDRA a Coral BARBAS. Capillary electrophoresis for short-chain organic acids and inorganic anions in different samples. *ELECTROPHORESIS*. **24**(1213), 1951-1981. ISSN 01730835. Dostupné z: doi:10.1002/elps.200305473

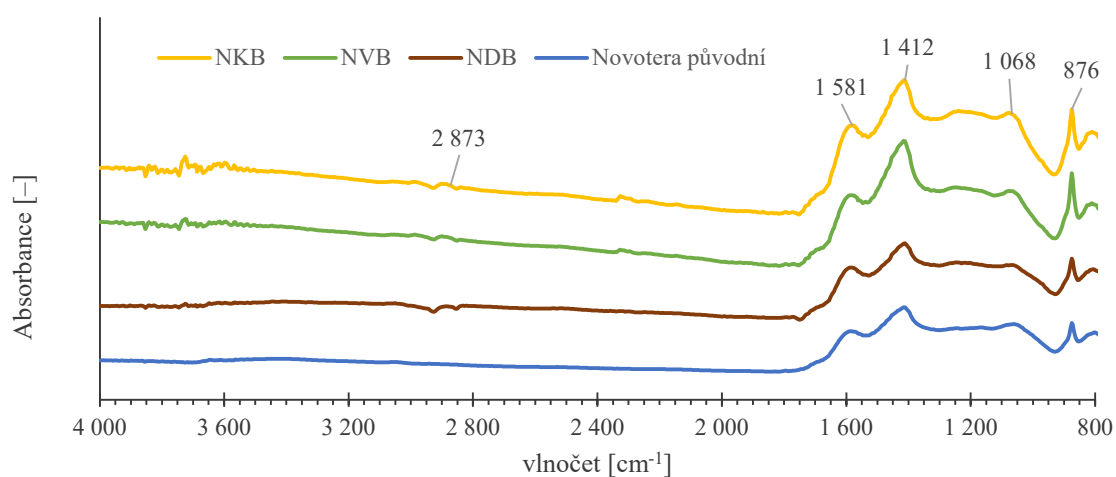
SEZNAM ZKRATEK

Symbol	Význam
ATR	Tlumená celková odrazivost
FTIR	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
ICP-OES	Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
KVK	Kationtově výměnná kapacita
LC-OCD	Kapalinová chromatografie-detekce organického uhlíku
PLFA	Fosfolipidové mastné kyseliny
RPM	Rotací za minutu
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie
TGA	Termogravimetrická analýza

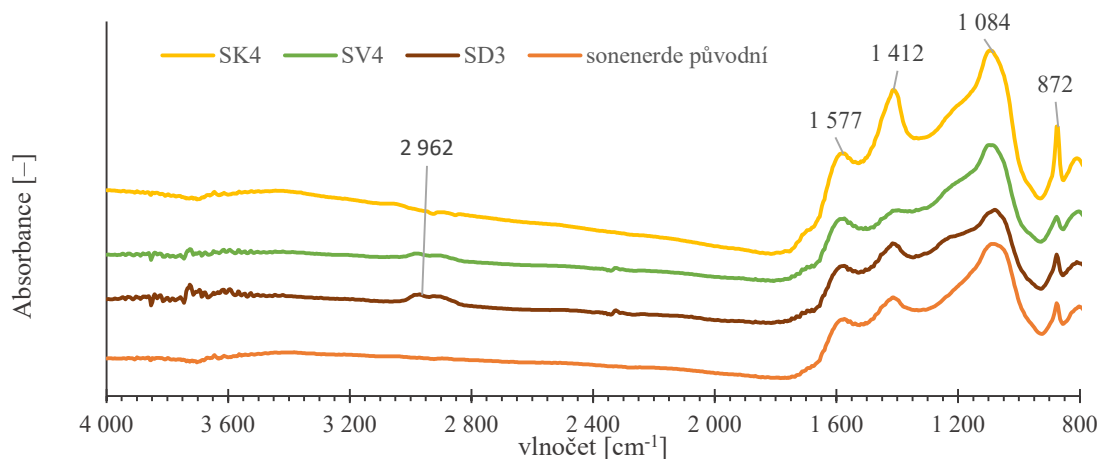
PŘÍLOHY



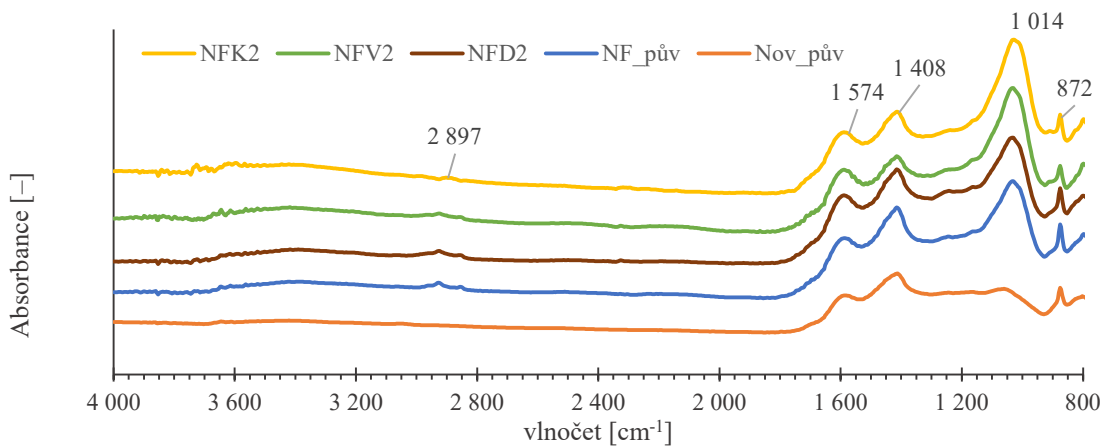
Obrázek 25: Fotografie biouhlů ze SEM zobrazovací analýzy, zvětšeno 2000×: a) *Sonnenerde* po kultivaci ve fluvizemi, b) *Sonnenerde* po kultivaci v písčité půdě c) *Sonnenerde* po kultivaci ve fluvizemi a následné extrakci v modelové dešťové vodě, d) *Sonnenerde* po kultivaci v písčité půdě a následné extrakci v modelové dešťové vodě.



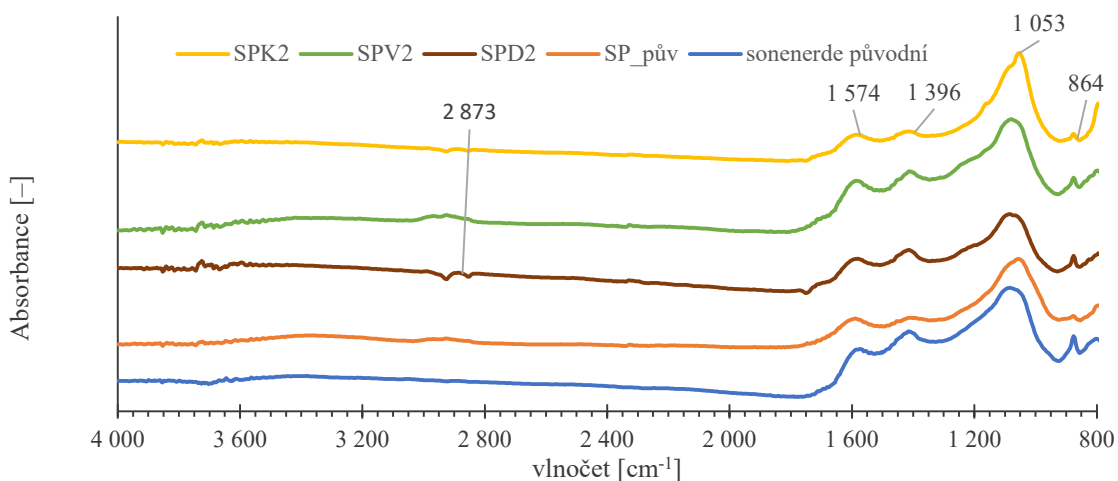
Obrázek 26: FTIR spektra biouhlů po jednorázových extrakcích biouhlu NovoTerra bez předchozí kultivace biouhlu v půdě.



Obrázek 27: FTIR spektra biouhlů po dlouhodobých sekvenčních extrakcích biouhlu NovoTerra bez předchozí kultivace biouhlu v půdě.



Obrázek 28: FTIR spektra po extrakcích biouhlu NovoTerra s předchozí kultivací biouhlu ve fluvizemi.



Obrázek 29: FTIR spektra po extrakcích biouhlu NovoTerra s předchozí kultivací biouhlu v písčité půdě.