



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

EKOTOXIKOLOGICKÉ POSOUZENÍ BIOUHLU PROSTŘEDNICTVÍM ORGANISMU FOLSOMIA CANDIDA

ECOTOXICOLOGICAL EVALUATION OF BIOCHAR VIA ORGANISM FOLSOMIA CANDIDA

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Juraj Marcinko

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. MVDr. Helena Zlámalová Gargošová,
Ph.D.

BRNO 2022

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1693/2021 Akademický rok: 2021/22
Ústav: Ústav chemie a technologie ochrany
životního prostředí
Student: **Juraj Marcinko**
Studijní program: Chemie a technologie ochrany
životního prostředí
Studijní obor: bez specializace
Vedoucí práce: **doc. MVDr. Helena Zlámalová**
Gargošová, Ph.D.

Název bakalářské práce:

Ekotoxikologické posouzení biouhlu prostřednictvím organismu *Folsomia candida*

Zadání bakalářské práce:

1. Vypracování literární rešerše týkající se problematiky biouhlu.
2. Charakterizace půdních destruentů a jejich úlohy v tvorbě pedosféry. Optimalizace chovu *F. candida* a jeho následné využití při hodnocení vybraného biouhlu.
3. Na podkladě vyhodnocení endpointů testu s *F. candida* posoudit ekotoxikologický dopad "využití" biouhlu na tohoto zástupce destruentů.

Termín odevzdání bakalářské práce: 27.5.2022:

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

Juraj Marcinko
student

doc. MVDr. Helena Zlámalová
Gargošová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Jiří Kučerík, Ph.D.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2022

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Cieľom tejto bakalárskej práce bolo ekotoxikologicky zhodnotiť vybrané vzorky biouhlia a posúdiť pomocou testovacieho organizmu možné dlhodobé a krátkodobé účinky na pôdne bezstavovce. Ako jedna z možností využitia biomasy je jej spracovanie na biouhlie s následnou aplikáciou na pôdu. Po aplikácii biouhlia môže dochádzať ku ovplyvneniu pôdnej fauny, preto boli vybrané ekotoxikologické testy v kontaktnom usporiadaní. Ako testovací organizmus bol použitý chvostoskok druhu *Folsomia candida*. Krátkodobé účinky boli zaznamenané prostredníctvom únikových testov, konkrétne nízkym výskytom organizmov pri vzorke (I) a (T). Pri vzorke (O) bola pozorovaná značná preferencia organizmov. Vzorky (I) a (T) mali ďalej vplyv na prežitie organizmov a na kvalitu reprodukcie, kde v niektorých prípadoch bol tento dopad razantný. Vzorka (O) nemala pri niektorých koncentráciách žiaden vplyv na testovacie organizmy. Výsledky týchto testov približujú ako by mohli byť ovplyvnené pôdne bezstavovce po aplikácii biouhlia.

ABSTRACT

The aim of this bachelor thesis was to ecotoxicologically evaluate selected biochar samples and to assess, using a test organism, the possible long-term and short-term effects on soil invertebrates. One of the possible uses of biomass is to convert it into biochar with subsequent application to soil. Soil fauna may be affected after biochar application, therefore ecotoxicological tests in a contact arrangement were chosen. *Folsomia candida* was used as the test organism. Short-term effects were recorded through escape tests, specifically low abundance of organisms in samples (I) and (T). Significant preference of organisms was observed for sample (O). Samples (I) and (T) had a further impact on the survival of organisms and on the quality of reproduction, where in some cases this caused a resolute impact. Sample (O), at different concentration levels, had no effect on the test organisms. The results of these tests approximate how soil invertebrates could be affected after biochar application.

KĽÚČOVÉ SLOVÁ

Kontaminácia, terestrická ekotoxikológia, biouhlie, *Folsomia candida*,

KEYWORDS

Contamination, terrestrial ecotoxicology, biochar, *Folsomia candida*

MARCINKO, Juraj. *Ekotoxikologické posouzení biouhlu prostřednictvím organismu Folsomia candida* [online]. Brno, 2022. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/139048>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí . Vedoucí práce Helena Zlámalová Gargošová.

PREHLÁSENIE

Prehlasujem, že som bakalársku prácu vypracoval samostatne, a že všetky použité literárne zdroje som správne a úplne citoval. Bakalárska práca je z hľadiska obsahu majetkom Fakulty chemickej VUT v Brne a môže byť využitá na komerčné účely len so súhlasom vedúceho bakalárskej práce a dekana FCH VUT.

.....
Juraj Marcinko

Pod'akovanie

Touto cestou by som rád poďakoval vedúcej tejto bakalárskej práce pani doc. MVDr. Helene Zlámalovej Gargošovej, Ph.D. za odborný prístup a cenné rady, stálu podporu a trpezlivosť počas celého spracovania bakalárskej práce.

OBSAH

1. ÚVOD	7
2. TEORETICKÁ ČASŤ	8
2.1 Pôda.....	8
2.1.1 Degradácia pôdy	8
2.2 Pôdny edafón	10
2.2.1 Chvostoskok (<i>Collembola</i>).....	11
2.3 Ekotoxikológia.....	11
2.3.1 Metodiky hodnotenia expozície a účinku.....	12
2.3.2 Využitie organizmu chvostoskok v ekotoxikológii.....	12
2.4 Biouhlie	13
2.4.1 Charakteristika	14
2.4.2 Metódy prípravy.....	15
2.4.3 Možnosti využitia.....	16
2.4.4 Ekotoxikologický pohľad na biouhlie	17
3. EXPERIMENTÁLNA ČASŤ.....	19
3.1 Charakteristika testovaných vzoriek biouhlia.....	19
3.2 Použitá prístrojová technika	19
3.3 Optimalizácia chovu organizmu <i>Folsomia candida</i>	19
3.3.1 Postup prípravy chovu.....	20
3.4 Príprava artificiálnej pôdy	20
3.4.1 Stanovenie a úprava pH artificiálnej pôdy	21
3.4.2 Stanovenie maximálnej vodnej kapacity pôdy WHC_{max}	21
3.5 Príprava koncentračnej rady artificiálnej pôdy s biouhlím	22
3.5.1 Stanovenie maximálnej vodnej kapacity zmesí WHC_{max}	22
3.5.2 Určenie pH testovanej zmesi	22
3.6 Únikové testy s organizmom <i>Folsomia candida</i>	23
3.6.1 Postup testu	23
3.7 Chronické testy s organizmom <i>Folsomia candida</i>	24
3.7.1 Postup chronického testu	24
4. VÝSLEDKY A DISKUSIA	25
4.1 Súhrnné výsledky a diskusia vlastností testovaných matric.....	25
4.1.1 Maximálna vodná kapacita WHC_{max}	26
4.1.2 pH testovaných matric.....	27

4.2	Výsledky a diskusia ekotoxikologických testov	29
4.2.1	Únikové testy	29
4.2.2	Chronické testy	30
5.	ZÁVER	33
6.	ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV	34
7.	ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK	41

1. ÚVOD

Pôda je nevyhnutným celkom pre správne fungovanie ekosystémov na zemi a zároveň je jedným z najrozsiahljších systémov, ktorý zabezpečuje napríklad cykly prvkov, filtračné procesy a v neposlednom rade je prostredím pre veľké množstvo žijúcich organizmov. Rozmanitosť výskytu organizmov v pôde je dôležitá pre jej kvalitu, vo väčšine tieto organizmy zastupujú trofickú úroveň konzumentov a dekompozitéroov, tým pádom sú zodpovedný za redukciu či transformáciu organickej a anorganickej hmoty. Mnohé druhy organizmov svojou činnosťou ovplyvňujú vlastnosti pôdy, tým dokážu zlepšiť jej stav a vytvoriť tak priaznivejšie podmienky napríklad pre rast rastlín. Práve preto je pôda a jej živé zloženie dôležité aj pre človeka, pretože mu poskytuje napríklad rekreačné, priemyselné a ekonomické využitie.

Vzhľadom na pokrok v oblasti priemyslu a technológií je tento ekosystém ohrozený degradáciou, a to najmä formou kontaminácie nebezpečnými prvkami, prípadne zvýšením koncentrácie určitých prvkov, ktoré sa následne stávajú toxickými. Ďalším možným spôsobom akým sa človek dopúšťa znehodnocovania je bezohľadné hospodárenie s územím, na ktorom napríklad dochádza ku pestovaniu plodín. Všetky tieto formy degradácie majú negatívny dopad na vlastnosti pôdy a jej živé zloženie.

Riešenie týchto problémov spočíva v navrátení degradovanej pôdy do priaznivého stavu, môžu byť použité napríklad sanačné a dekontaminačné procesy. Ďalším možným riešením je aplikácia materiálu, ktorý zabezpečí zlepšenie pôdneho stavu, konkrétne v tejto práci bolo použité biouhlie. Tento materiál je poslednú dobu často spomínaný a testovaný v súvislosti s pôdnym ekosystémom a s riešením klimatických zmien. Biouhlie je produkt spracovania nevyužitej biomasy, najčastejším typom suroviny na prípravu biouhlia je napríklad kal z ČOV, drevné alebo organické odpady. Tieto odpady by bolo vhodné využiť práve týmto spôsobom za účelom opätovného spracovania a využitia odpadu v kontextu cirkulárnej ekonomiky.

Vlastnosti biouhlia by mali mať pozitívny vplyv najmä na fyzikálne a chemické vlastnosti pôdy, a tým zlepšiť prostredie pre pôdne organizmy. Práve preto sa táto práca zamerala na zhodnotenie dlhodobých a krátkodobých efektov na vybraný pôdny organizmus. Vzhľadom na to, že sa jedná o pevnú maticu boli zvolené kontaktné usporiadania testov s cieľovým organizmom *Folsomia candida*, ktorý zastupuje pôdne bezstavovce. Celkom boli testované tri vzorky biouhlia, ktoré sú pripravené zo sušeného čistiarenského kalu.

2. TEORETICKÁ ČASŤ

2.1 Pôda

Pôda je najvrchnejšia časť zemskej kôry. Na procese tvorby pôdy sa podieľajú činitele ako litosféra, biosféra a hydrosféra. Tento proces trvá až niekoľko tisíc rokov. Pôdny profil sa skladá z jednotlivých horizontov. Každý horizont má špecifické zloženie a vlastnosti, všeobecne je možné pôdny profil rozdeliť na tri horizonty. Najvrchnejší je humusový horizont A, ktorý obsahuje veľké množstvo organických látok z odumretých rastlín a živočíchov. Nasleduje iluviálny horizont B, s obsahom prevažne anorganických látok, kde s rastúcou hĺbkou klesá obsah humusu. Najspodnejší horizont C je tzv. pôdotvorný substrát alebo matičná hornina z ktorého následne vzniká pôda. Vo všeobecnosti sa pôda skladá z biotickej a abiotickej zložky. Abiotickú zložku predstavuje anorganické a organické zloženie, pôdna vlhkosť a póry vyplnené plynom. Anorganické zastúpenie reprezentujú minerály a horniny. Rozkladom odumretých častí rastlín a živočíchov je pôda obohacovaná o organické látky, týmto sa do pôdy zaraďujú sacharidy, aminokyseliny, lipidy a ligníny. Tieto látky sa zároveň podieľajú na tvorbe humusu, ktorý je tvorený zmesou hnedých až čiernych organických látok, ktorého základné zložky sú humínové kyseliny, fulvokyseliny a humíny [1].

Rozkladnú úlohu zabezpečuje z väčšej miery biotická zložka pôdy. Drobné živočíchové a mikroorganizmy sú dekompozítnymi biomasami, ktorí redukovávajú a transformujú organickú hmotu. Začleňujú významné prvky do pôdy ako je napríklad uhlík, dusík, fosfor a síra. V pôde sa vyskytuje okolo desať tisíc rôznych druhov mikroorganizmov [2]. Pôda svojim zložením získava unikátne vlastnosti a funkčné schopnosti, medzi tie najdôležitejšie patrí distribúcia živín, zadržiavanie vody, filtrácia vody a produkčná funkcia voči rastlinám a živočíchom [3].

2.1.1 Degradácia pôdy

Vzhľadom na to, že tvorba tenkej vrstvy pôdy trvá až niekoľko tisíc rokov [1], je jej degradácia rozsiahly problém. Ku poškodzovaniu pôdy dochádza takmer neustále, ktorá je vo veľkej miere zapríčinená antropogénnou činnosťou. Bezohľadným zaobchádzaním s chemickými látkami dochádza ku kontaminácii pôdy, ďalší možný spôsob degradácie je mechanický zásah do pôdneho profilu, tento zásah narušuje vrchnú časť profilu a tým ho znehodnocuje. Degradáciou pôda stráca svoje významné vlastnosti, znižuje sa hustota organizmov v pôde, vzhľadom na nepriaznivé podmienky a všeobecne sa zhoršujú fyzikálne a chemické vlastnosti.

Kontaminácia

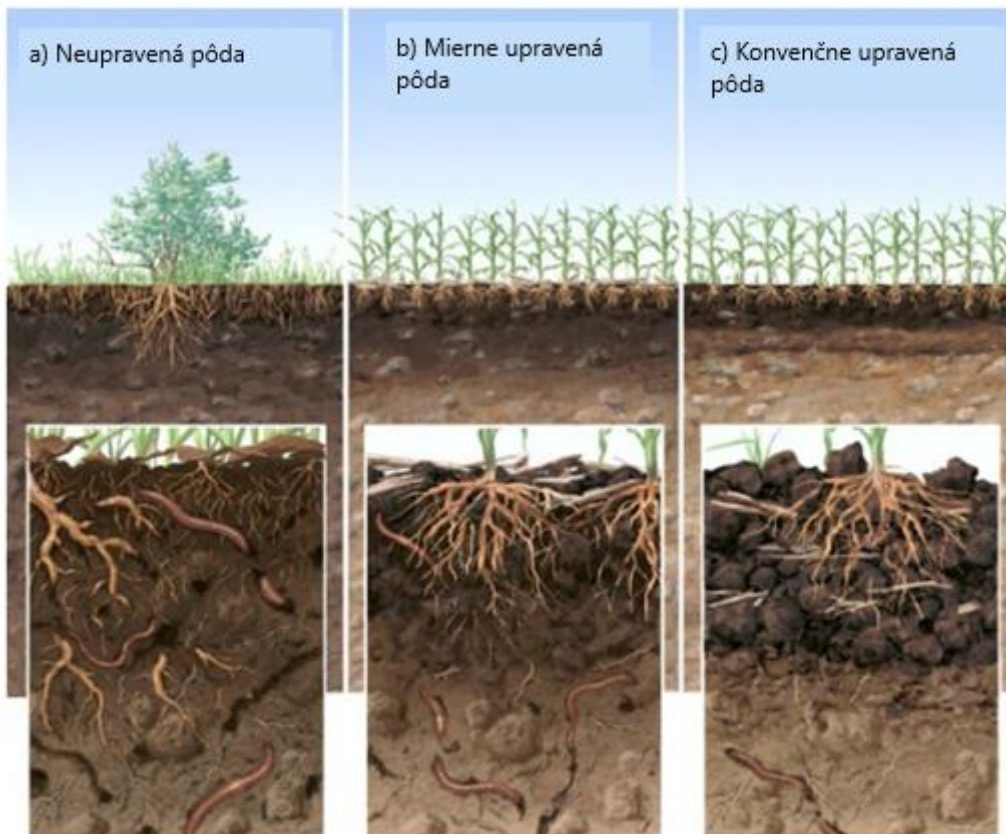
Kontaminácia pôdy je priamy proces degradácie pôdy. Tento proces je možné vysvetliť ako nárast koncentrácie látok v pôde, ktoré následne spôsobujú zhoršenie kvality a vlastností tohto ekosystému. Zdroje kontaminácie pôdy sa delia na prirodzené a antropogénne. Medzi prirodzené zdroje kontaminácie patrí napríklad vulkanická činnosť, zemetrasenie a tsunami. Vzhľadom na to, že sa jedná o prirodzené zdroje kontaminácie, ich dôsledok nie je tak výrazný ako kontaminácia antropogénnou činnosťou.

Antropogénnou činnosťou sa do pôdy dostávajú rôzne chemické látky, tieto látky je možné rozdeliť na polutanty anorganické a organické. Medzi najbežnejšie anorganické polutanty patria

ťažké kovy, ktoré majúmernú hmotnosť väčšiu ako 5000 kg/m^3 [4]. Typický príklad ťažkých kovov je olovo, kadmium a ortuť, zdrojom týchto polutantov je prevažne priemysel a autodoprava. Kontaminácia organickými polutantmi je rovnako vysoko riziková a z väčšej miery je zapríčinená antropogénnou činnosťou. Zdrojom organickej kontaminácie pôdy je predovšetkým ťažba ropy, aplikácia pesticídov a priemyselná výroba. Najproblémovejšie organické kontaminanty sú POPs tzv. perzistentné organické polutanty. Rizikovosť týchto látok je v ich schopnosti dlhodobo pretrvávajúť v životnom prostredí tzv. perzistencii, ich rezistencia spočíva v odolnosti voči chemickému, biologickému a fyzikálnemu odbúravaníu. Majú hydrofóbny charakter a dokážu sa akumulovať v rastlinách a živočíšnych tkanivách. DDT a hexachlórbenzén sú jedny z najznámejších pesticídov, ktoré boli aplikované v minulosti a dodnes je ich možné detegovať v životnom prostredí, pesticídy sú aj dnes zámerne aplikované za účelom ochrany rastlín, pred chorobami a nežiadúcim hmyzom. Ku ďalšiemu znečisťovaniu pôdy dochádza nezodpovedným nakladaním s priemyselne vyprodukovanými organickými kontaminantmi, ako sú napríklad polychlorované bifenyly. Organické znečistenie spôsobuje veľké riziko pre všetky sféry zeme, preto je nutné kontrolovať a zabezpečiť správne zaobchádzanie s týmito látkami [5].

Hospodárenie

Poľnohospodárstvo alebo hospodárenie s pôdou rovnako spôsobuje jej degradáciu. Nejedná sa o degradáciu vo forme kontaminovania pôdy cudzorodými látkami ale o deštruktívny proces vrchnej časti profilu. Človek s pôdou pracuje takmer od praveku a s pokrokom ľudstva v oblasti poľnohospodárstva sa vyvíjali aj techniky obrábania pôdy. Na začiatku boli používané ručné kultivátory pôdy a na hnojenie boli vo väčšine používané organické odpady. S vývojom technológií prišli automatické kultivátory a celý proces obrábania pôdy sa značne urýchlil a uľahčil. Do popredia sa vkladala rýchlosť produkcie plodín a surovín, práve tento nátlak na rýchlu produkciu degraduje pôdne vlastnosti. Doba medzi jednotlivými zbermi je nedostačujúca na to aby sa regeneroval pôdny stav, príliš častá kultivácia spôsobuje tvorbu veľkých agregátov, čo zapríčiňuje rýchle vysychanie pôdy a následnú vodnú alebo veternú eróziu [6]. Práve erózia pôdy je veľkým problémom, ktorá degradovala v európskych krajinách 25 % poľnohospodárskej pôdy [7]. Tieto degradačné procesy sú vedľajším účinkom nesprávneho zaobchádzania s ornou. Nesprávne vysadené plodiny neposkytujú dostatočnú ochranu vrchnej časti pôdy pred vetrom. V konvenčne upravenej pôde majú rastliny nedostatočne vyvinuté koreňové systémy vzhľadom na prítomné veľké pôdne agregáty vid' obr. 1. Táto skutočnosť spolu s narušením vrchnej časti profilu obrábaním má za následok pomalé vsakovanie vody. Takto upravená pôda má nízke zastúpenie mikroorganizmov vzhľadom na jej častú úpravu a zásah človeka, na takto degradovanú ornú je potrebné aplikovať opravné procesy, ktoré pomôžu navrátiť pôdu do priaznivého stavu [8].



Obr. 1. Porovnanie neupraveného a upraveného pôdneho profilu (upravené podľa: [8])

2.2 Pôdny edafón

Mikroorganizmy a malé živočíchy, ktoré obývajú pedosféru majú veľkú druhovú rozmanitosť. Meter štvorcový pôdy obsahuje minimálne 10^6 organizmov [3]. Baktérie, huby a riasy sú voľným okom nepozorovateľné no plnia významnú úlohu pri rozklade organickej masy a kolobehu určitých prvkov v pôde. Živočíchy sú delené do troch skupín podľa dĺžky a šírky tela, mikrofauna dĺžka tela do 100 μm , mezofauna do 2 mm a makrofauna od 2 mm vyššie [3].

Prvky a hlístice patria medzi najviac zastúpené organizmy z mikrofauny. Vo väčšine to sú parazitické organizmy, ktoré sa živia baktériami. Organizmy väčšie ako 100 μm spadajú do kategórie mezofauny [3], túto skupinu obývajú najpočetnejšie roztoče a chvostoskoky. Tieto dve rády sú ako početne, tak aj druhovo veľmi rozmanité, v niektorých úsekoch pôdy dosahujú až niekoľko tisíc jedincov [3]. Patria medzi významné rozkladače a živia sa saprofágne [9]. Makrofauna obsahuje všetky živočíchy väčšie ako 2 mm, počnúc od rôznych druhov mäkkýšov, chrobákov, žížal až po väčšie hlodavce. Tieto organizmy majú rovnako dôležitú rolu v ekosystéme a to pôdotvornú a rozkladnú funkciu.

2.2.1 Chvostoskok (*Collembola*)

Charakteristika

Chvostoskoky sú jedny z najpočetnejších suchozemských článkonožcov, je známych cez 8 000 druhov a tento počet sa podľa odhadov bude zvyšovať. Vyskytujú sa po celom svete a obývajú takmer všetky habitaty. Predovšetkým obývajú pôdny ekosystém, no niektoré druhy aj povrchy rastlín a opadavú časť pôdy. Niektoré druhy sa adaptovali natoľko, že sú schopné prežiť v biotopoch ako jaskyne, vulkanicky aktívne oblasti, pobrežné pláže a arktické oblasti [10].

Ich telo je tvorené zo segmentov, ako to je pri článkonožcoch bežné, majú tri páry končatín a ich charakteristickým znakom je skákavý aparát (*furca*) [9]. V prípade nebezpečenstva im tento aparát umožňuje rýchly únik pred predátorom, pomocou ktorého dokážu preskočiť až 10 cm, to činí približne desať násobok ich vlastnej dĺžky tela [9]. Plne vyvinutý aparát majú druhy, ktoré obývajú vrchnú časť pôdy a povrch rastlín [10].

Rovnako to je aj so zafarbením, farebná heterogenita sa vyskytuje najmä vo vyšších vrstvách pôdy a celkovo u nadzemných druhov. Jedince nachádzajúce sa v hlbších vrstvách postrádajú rozmanitosť stavby tela a farby. Nevyhnutnou časťou tela sú tykadlá, slúžia ako hmatové a chemické receptory. Ústne ústrojenstvo je skryté v hlavovej časti a významnou časťou je ventrálna trubica opatrená membránou, pomocou ktorej pravdepodobne vstrebávajú a vylučujú vodu a prípadne im slúži na uchytanie sa na povrch [10].

Ekologický význam

Chvostoskok je dôležitým ekologickým článkom. Populačná hustota môže dosahovať až jeden milión jedincov na meter štvorcový. Tento drobný organizmus má redukčnú a transformačnú úlohu organickej hmoty v pôde, zabezpečujú správnu distribúciu prvkov pre rastliny a vytvárajú nový priestor pre mikrobiálny vývin [11]. Živia sa prevažne saprofágne [9], no niektoré druhy sa živia aj inými mikroorganizmami [11]. Týmto spôsobom výživy udržiava biodiverzitu húb a mikroorganizmov v pôde. Počas svojho života neustále roznášajú výtrusy húb, ktoré sa im prichytia na telo a tým rovnako udržiavajú biodiverzitu húb v pôde. Dokážu stimulovať vývin mykorhíznych húb, čím ovplyvňujú vstrebávanie fosforu rastlinami alebo regulujú koreňovú sieť určitých rastlín [12]. Požieraním fytopatogénnych húb dokážu regulovať choroby rastlín [13]. Ich aktivita a výskyt sú spojené s rýchlosťou dekompozície a kolobehu nutrientov [14]. Chvostoskok je citlivý na zmeny v pôde, preto je vhodný ako bioindikátor kvality pôdneho ekosystému [15], tieto vlastnosti vytvárajú z chvostoskoka významného pôdotvorného činiteľa.

2.3 Ekotoxikológia

Ekotoxikológia je multidisciplinárna veda, ktorá sleduje efekt látok na organizmy, populácie a ekosystémy [16]. Monitoruje a predpovedá toxické vlastnosti jednotlivých látok [17]. Látky, ktoré majú negatívny vplyv a vyvolávajú poškodenie organizmu pri určitých koncentráciách sa nazývajú toxikanty [18]. Jednou z dôležitých metód ekotoxikológie je hodnotenie vzťahu expozície a účinku. Ak je živý organizmus exponovaný látkou znamená to, že je v priamom kontakte s týmto materiálom a je možný prechod do jednotlivých častí organizmu [18].

Dôležitou informáciou pri určovaní ekotoxikologických rizík je sledovanie vstupu toxikantu do prostredia alebo organizmu a jeho následná činnosť v danom mieste.

Účinkom sa sledujú biologické zmeny organizmu a zmeny správania, ktoré toxikant vyvolal. Na vytvorenie biologickej zmeny je potrebná priama expozícia, tzn. že látka dosiahla miesta, ktoré je dostatočne citlivé na jej pôsobenie a následne vstupuje do reakcie s ostatnými molekulami a zapája sa do metabolizmu, je to tzv. miesto účinku [19].

Bol vypracovaný presný metodický postup, ktorý hodnotí ekotoxikologické rizika toxických látok a ich účinkov na jednotlivé spoločnosti, populácie a ekosystémy. Tento proces sa nazýva EcoRa (Ecological Risk Assessment) v niektorých prípadoch aj ako ERA (Environmental Risk Assessment). Metodika udáva presný postup kvantifikácie, hodnotenia expozície a rizika toxického látky. Jedným z hodnotení sú spoločensky akceptovateľné rizika, v ktorých sú zohľadnené ekonomické, sociálne a technické aspekty. Na záver procesu je snaha znížiť alebo eliminovať možné riziko [20].

2.3.1 Metodiky hodnotenia expozície a účinku

Hodnotenie expozície sa zaoberá cestou toxikantu v prostredí, sleduje jednotlivé výstupné (emisie) a vstupné (imisie) cesty, ktoré následne hodnotí a jednotlivo popisuje [19]. Ďalej je predmetom hodnotenia transport a premena toxikantu, kde sa sledujú chemické a fyzikálne zmeny daných substancií a interakcie s inými látkami, ktoré môžu mať vplyv na toxicitu látky. V prípade zvýšenia toxicity sa jedná o synergický efekt v opačnom prípade sa jedná o antagonistický efekt. Toto hodnotenie je dôležité z hľadiska pohybu a premeny látky. Na základe týchto informácií je možné popísať jednotlivé procesy, ktoré pôsobia na toxikant v priebehu jeho transportu ku cieľovému organizmu. Po úspešnom trasovaní nasleduje hodnotenie množstva a rozšírenia toxikantu. Tento proces zahŕňa odber vzorky a jej následnú chemickú analýzu, vyhodnotením je popis množstva látky na danom mieste a v daný čas.

Pri hodnotení účinku je zložitá spojiť štandardizované testy a ekologickú podstatu. Štandardizované testy sú jasne dané normami a prebiehajú v laboratórnych podmienkach, zatiaľ čo ekologická podstata poukazuje na vplyv prostredia, ktorý je pri laboratórnych testoch náročne uskutočniť. Pomocou štandardizovaných testov je dosiahnutá dobrá reprezentatívnosť dávky a odpovede daného toxikantu v laboratórnych podmienkach, avšak v nekontrolovanom prostredí, môže byť tento výstup ovplyvnený rôznymi faktormi. Tieto odchýlky sú znižované prostredníctvom metodík, ktoré simulujú podmienky okolitého prostredia. Príkladom môžu byť mikro a mezokosmy, ako ďalšie formy môžu byť použité sady testov, v ktorých sú použité viaceré organizmy a tým sa rovnako zvyšuje ekologická podstata [19].

2.3.2 Využitie organizmu chvostokok v ekotoxikológii

Významné postavenie v ekotoxikologických testoch má práve organizmus chvostokok. Chvostokok je jeden z najpočetnejšie zastúpených článkonožcov v pedosfére [21]. Jeho úloha dekompozitéra je veľmi dôležitá a práve preto je využívaný v ekotoxikológii. Pomerne krátka reprodukčná doba zaisťuje možnosť častého nasadenie testov. Chov organizmu v laboratórnych podmienkach je pomerne nenáročný a prebieha spolu s testami podľa medzinárodne štandardizovaných metodík. Citlivosť chvostokoka na prítomné toxické látky je v niektorých

prípadoch vyššia ako pri rastlinnej indikácii [22], takže ako jeden z testovacích organizmov môže odrážať odozvu pôdnej fauny na prítomné toxikanty.

Jedná sa o najlepšie preštudovanú skupinu organizmov, ktoré sa využívajú pri štandardných testoch [22]. Látky môžu byť testované na chvostoskokoch prostredníctvom kontaktu s pôdou alebo pomocou potravy. Prostredníctvom týchto testov sú sledované zmeny správania, schopnosť prežitia a kvalita reprodukcie [23]. Na základe toho aký endpoint je potrebné sledovať, sú použité akútne alebo chronické testy, akútne testy sa vyznačujú zmenou správania a prípadnou akútnou intoxikáciou. Ako akútne testy na chvostoskokoch sú volené únikové testy, ktorých podstatou je možnosť výberu medzi prostredím s testovanou látkou alebo prostredím bez tejto látky. Výstupom v tomto prípade je miera únikovosti a na základe toho aké prostredie organizmus preferuje je posúdená toxicita pôdy. V prípade značne toxických látok môže byť sledovaným endpointom mortalita. Pri chronických testoch sa sledujú dlhodobé účinky na organizmus, a to kvalita reprodukcie a schopnosť udržať populáciu [24].

Najčastejšie používaný druh chvostoskoka je *Folsomia candida* [25], jedná sa o partenogenetický transparentný druh s plne vyvinutým skákavým orgánom [26]. Je to jeden z druhov, na ktorý sa zameralo veľké množstvo štúdií, a u ktorého je podrobne známy reprodukčný cyklus [25]. Je často používaný na určenie toxicity ťažkých kovov a POPs v pôdach [27, 28]. Významnou vlastnosťou je jeho odolnosť voči insekticídu DDT [27]. Ďalším druhom chvostoskoka, ktorý je využívaný je *Folsomia fimetaria*, rovnako sa jedná o transparentný druh, ktorý sa na rozdiel od *F. candida* rozmnožuje pohlavne. Tento druh sa prevažne vyskytuje v rozkladajúcom sa materiáli [28].



Obr. 2. *Folsomia candida* (zdroj: vlastný)

2.4 Biouhlie

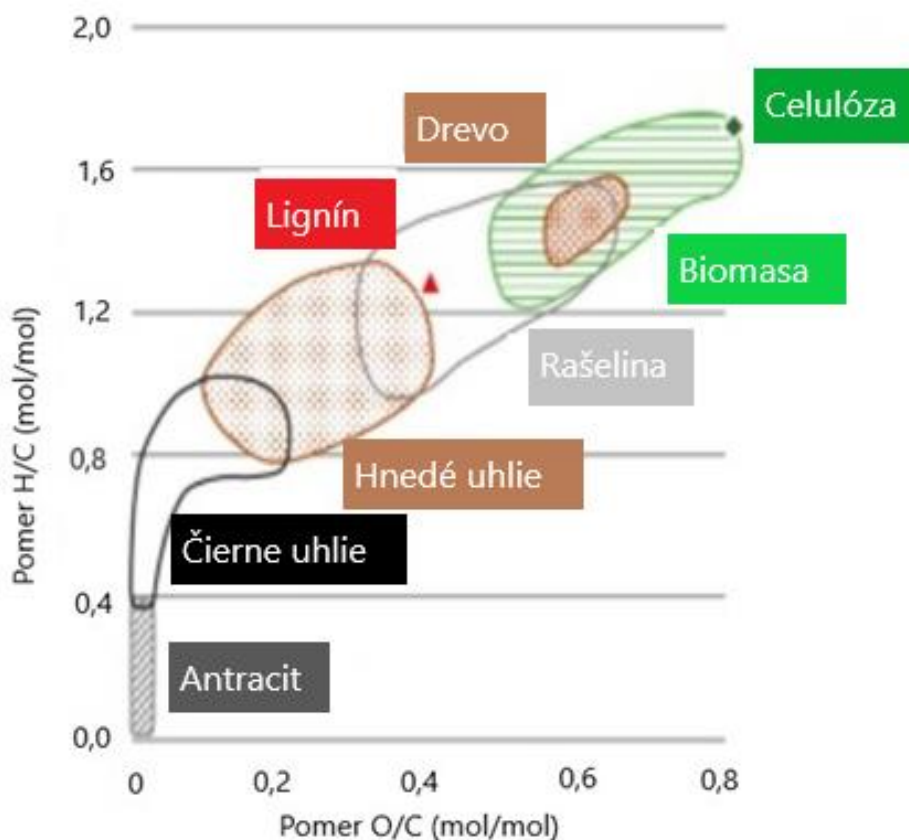
Nevyužitá biomasa, ako napríklad kal z ČOV, rastlinná biomasa alebo organické odpady, môžu byť dobrým zdrojom využiteľných materiálov. Vo väčšine je táto surová biomasa nevhodná na okamžité využitie kvôli toxickým vlastnostiam. Jednou z možností ako zaistiť bezpečné využitie, je tepelné spracovanie biomasy za vysokých teplôt a anaeróbných podmienok. Produkt tejto úpravy sa nazýva biouhlie alebo biochar. Na výbere teploty závisia vlastnosti výstupného produktu. Pomalé tepelné spracovanie a neprítomnosť vzduchu zabezpečuje odstránenie väčšiny nežiadúcich látok. Výsledný produkt má vysoký obsah nutričov a je pomerne stabilný, zatiaľ čo obsah nežiadúcich látok v biouhli musí byť minimálny. Takýto materiál má vďaka svojim vlastnostiam širokú škálu použitia.

2.4.1 Charakteristika

Biouhlie je pevný a krehký materiál tmavej farby, ktorý obsahuje vďaka tepelnému procesu prípravy vysoký obsah uhlíka. Množstvo uhlíka závisí od zvolenej teploty procesu a pri zvolení špecifických podmienok, ako je napríklad vysoká teplota nad 1000 °C, môže uhlík dosahovať až 95 % z celkového množstva. Všeobecne je pri vyšších teplotách obsah uhlíka zreteľnejší. S rastúcou teplotou klesá výťažnosť a rastie obsah popola v biouhli. Uhlík v biouhli je pomerne stabilný voči oxidácii a ďalšiemu rozkladu. Vysoký obsah uhlíka a jeho štruktúrne umiestnenie zabezpečuje veľkú porozitu materiálu [29]. Veľká porozita a špecifický povrch zabezpečuje dobrú sorpčnú schopnosť biouhlia. Rovnako ako sa s rastúcou teplotou zvyšuje obsah uhlíka, tak sa zvyšuje aj špecifický povrch, pri teplote 400 °C bol špecifický povrch 120 m²/g, avšak pri zvýšení teploty na 900 °C špecifický povrch vzrástol na 460 m²/g [30].

To, aké pomery prvkov biouhlie obsahuje závisí na vstupnej surovine a zvolenej teplote procesu. Všeobecne sa pomer H/C a O/C znižuje s rastúcou teplotou. Pokles týchto pomerov zobrazuje Van – Krevelenov diagram pre prirodzené karbonizačné procesy na obrázku č. 3. Tento pokles je spôsobený odpojením funkčných skupín, ktoré obsahujú kyslík a vodík. V prípade dusíka je tento trend rovnaký, pretože dochádza ku rozkladu bielkovín a strate prchavých frakcií amoniakálneho a dusičnanového dusíka.

Biouhlie ďalej obsahuje minerálne prvky ako fosfor, draslík, vápnik a horčík. Produkt bohatý na tieto nutrienty je prevažne pripravený z organických odpadov [31]. V biouhli sa koncentrujú aj ďalšie stopové prvky, ako napríklad Cu, Zn, Pb, As, Hg, Cd tieto prvky patria do skupiny ťažkých kovov. Koncentrácie ťažkých kovov vo výslednom produkte sa s rastúcou teplotou zvyšujú ale zároveň sa zvyšuje aj ich stabilita, ktorá súvisí so znížením ich vyluhovacieho potenciálu. Organické zastúpenie záleží od teploty procesu úpravy. Vysokou teplotou sa zabezpečí rozklad väčšiny nežiadúcich organických látok [32].



Obr. 3. Van – Krevelenov diagram pre prirodzenú karbonizáciu (upravené podľa: [33])

2.4.2 Metódy prípravy

Medzi základne metódy prípravy biouhlia patrí pyrolýza. Pyrolýza je proces, kde je teplota vyššia než je 300 °C a sú zachované anaeróbne podmienky. Produktom pyrolýzy je biouhlie, bioolej a bioplyn [34]. Bioolej má vysoký obsah organických látok, ktorý obsahuje aromatické a vysoko oksylované organické látky, ako napríklad fenoly, ketony a karboxylové kyseliny [35]. Bioolej je ďalej možné použiť ako palivo. Bioplyn vyprodukovaný pri pyrolýze obsahuje jednoduché plynné látky CO₂, CO, H₂O, CH₄, ktoré vznikajú tepelným rozkladom. Tento plyn je rovnako možné použiť ako palivo alebo ako syntézny plyn pri ďalšom použití. Pyrolýzny proces je možné rozdeliť podľa rýchlosti na dve metódy. Na metódu rýchlej a pomalej pyrolýzy [36]. Výstupom rýchlej pyrolýzy sú vysoké výťažky biooleja a bioplynu, rýchle vystavenie biomasy horúcim parám znemožní sekundárne reakcie prchavých látok [37]. Pomalou pyrolýzou sú dosiahnuté vyššie výťažky biouhlia, kedy dlhodobým zotrvaním je umožnená tvorba sekundárneho biouhlia [39, 40].

Hydrotermálnou karbonizáciou sa pripravuje tzv. hydrochar. Táto metóda umožňuje spracovanie mokrej biomasy za nižších teplôt [38]. Hydrochar má na rozdiel od biocharu vyšší obsah kyslíkatých skupín, vďaka čomu má hodnoty pH nižšie ako ma biochar [39].

Špecifickým typom pyrolýzy je mikrovlnná pyrolýza. Tento spôsob spracovania biomasy na biouhlie je energeticky menej náročný a vykazuje pomerne vysokú výťažnosť

biouhlia [43, 44]. Distribúcia energie a zahrievanie biomasy počas celého procesu je účinnejšia ako pri bežnej pyrolýze. Pri klasickej pyrolýze je teplo prenášané konvekciou alebo jeho vedením na materiál a z povrchu teplo prestupuje smerom do vnútra materiálu, týmto spôsobom je stred materiálu ohrievaný nižšou teplotou ako to je na povrchu, a preto je nutné aby bol materiál zahrievaný po dlhší čas. Mikrovlnná pyrolýza využíva na zahrievanie materiálu elektromagnetické žiarenie mikrovlnného charakteru. Materiál je ožarovaný a elektromagnetická energia sa vo vnútri materiálu mení na teplo, tým pádom je materiál rovnomerne zahrievaný a je umožnená lepšia tvorba poréznych štruktúr [40].

2.4.3 Možnosti využitia

Vďaka svojim vlastnostiam sa stáva z biouhlia všestranný materiál. Jeho značnú adsorpčnú schopnosť je možné využiť v procesoch čistení odpadovej vody. Rovnako ako dobrá adsorpčná schopnosť je biouhlie prisudzovaná vlastnosť zadržiavať vodu v pôde. Aplikácia biouhlia do pôdy je v poslednom období často diskutovaná téma. Špecifická štruktúra a vlastnosti biouhlia by mohli mať pozitívne účinky na pôdu a jej vlastnosti. Anorganické látky obsiahnuté v biouhli, ktoré majú alkalický charakter môžu priaznivo ovplyvniť pH acidifikovaných pôd. Štúdia [41] uvádza zlepšenie schopnosti zadržiavania vody v pôde a zároveň biouhlie vďaka svojej štruktúre, napomáha znižovať objemovú hmotnosť pôdy [42].

Tento materiál môže znížiť mobilitu anorganických kontaminantov, ako je napríklad kadmium, arzén a meď [48, 49]. Aniónové funkčné skupiny na organických molekulách v biouhli na seba môžu viazať prostredníctvom povrchovej komplexácie ťažké kovy [43]. V kyslých pôdach dokáže biouhlie stabilizovať organickú hmotu a tým znížiť uvoľňovanie oxidu uhličitého [44]. Šesť ročný poľný pokus, ktorý sa uskutočnil v Číne poukazuje na to, že biouhlie zvyšuje porozitu pôdy a tým zvyšuje koreňovú hustotu rastlín a napomáha ku lepšej distribúcií nutrientov [45].

Zostatkové rezidua organických látok v pôde sú rovnako problémové, pretože ich toxický vplyv pôsobí negatívne na všetky zložky pôdneho ekosystému. Štúdia ktorá sledovala toxický účinok herbicídu sulfentrazon na pšenicu, zaznamenala pokles fytotoxicity v pôde s prítomnosťou biouhlia [46]. Preukázaním schopnosti znižovať toxické účinky polutantov na pôdne organizmy pomocou biouhlia, by mohla byť jeho aplikácia do pôdy jedným z riešení ako znížiť ich dopad na tento ekosystém.

Potencionálne rizika

Rovnako ako sú sledované pozitívne účinky biouhlia a jeho aplikácie, je potrebné analyzovať a objektívne stanoviť potencionálne rizika jeho použitia. Účinky z dlhodobého hľadiska ako interakcia s okolitým prostredím, organizmami prípadne látkami je málo zdokumentovaná. Často sú objasnené iba krátkodobé účinky spojené s úpravou a prvkovým obsahom biouhlia. Je potrebné vypracovať prehľad možných rizík z každého aspektu. To znamená zhodnotiť riziká použitej vstupnej biomasy, rýchlej a pomalej pyrolýzy, hydrotermálnej karbonizácie a splyňovacích procesov apod.

V charakteristike biouhlia bolo spomenuté, že obsah organických látok je závislý na zvolenej teplote pyrolýzy. Všeobecne každé spaľovacie procesy súvisia s tvorbou PAU a dioxinov. Dioxiny patria medzi POPs a majú vysoké bioakumulatívne schopnosti. Spravidla tvorba

dioxínov prebieha pri vysokých teplotách a zatiaľ nie je potvrdená ich neprítomnosť v biouhli [47]. Dioxiny sú klasifikované ako veľmi rizikové a toxické látky, prevažuje u nich teratogenita a karcinogenita. Polycyklické aromatické uhľovodíky (PAU) sú ďalšou skupinou látok POPs. Vznikajú nedokonalým spaľovaním biomasy. Pri teplotách do 500 °C vznikajú priamou karbonizáciou. Ak je teplota nad 500 °C PAU vznikajú prostredníctvom voľného radikálu, po ktorom nasleduje pyrosyntéza do väčších aromatických štruktúr. Týmto látkam sú priradzované mutagénne a karcinogénne účinky. Biouhlie pripravené za nízkych teplôt, môže ďalej obsahovať toxické látky ako prchavé organické látky napríklad xylén, kresol, akrolein a formaldehyd [48].

Aplikácia biouhlia do pôdy môže ovplyvniť množstvo prirodzených alebo umelo vytvorených procesov, ktoré prebiehajú nad alebo pod povrchom pôdy. Ako uvádza štúdia Xiang-Yanga a kol. biouhlie vyrobené z rastlinnej biomasy konkrétne z drevnej štiepky, znižovalo účinnosť aplikovaných pesticídov [49]. Taktiež je potrebné dbať na množstvo, ktoré je aplikované do pôdy. A to práve preto, aby pôda, rastliny a organizmy neboli príliš zaťažené biouhlím. Štúdia Silvie a kol. uvádza zníženie produkcie plodín pri dávke vyššej ako je 60 t/ha biouhlia [50].

2.4.4 Ekotoxikologický pohľad na biouhlie

Biouhlie sa javí ako vhodný materiál na skvalitnenie vlastností pôdy a zároveň na uloženie oxidu uhličitého do pôdy bez zaťaženia atmosféry. Prítomnosť biouhlia v pôde môže mať rovnako pozitívny vplyv na biologickú zložku pôdy. Biouhlie môže slúžiť ako úkryt pre drobné organizmy pred predátormi. Pomáha zvýšiť zadržiavanie vody v pôde, čo zlepšuje podmienky pre výskyt potrebných organizmov v pôde. Biouhlie má schopnosť zvyšovať pH pôdy, a tým rovnako skvalitňuje podmienky pre organizmy.

Zvýšenú prítomnosť článkonožcov v pôde s biouhlím uvádzajú mnohé štúdie, kde bol zaznamenaný vyšší počet jedincov v prostredí s biouhlím ako v prostredí bez biouhlia [58, 59, 60]. Biologický index kvality pôdy (QBS – Soil Biological Quality), ktorý je založený na počte jedincov chvostoskoka v pôde bol vyšší v testovanej vzorke s prítomnosťou biouhlia než vo vzorke bez prídavku [51].

V štúdií Mohameda a kol. bol testovaný hydrochar ako potrava pre chvostoskoky. Obidve druhy použité do testu boli schopné hydrochar konzumovať a boli schopné dokončiť celý cyklus reprodukcie [52].

V nasledujúcej štúdií [53]. bolo biouhlie pripravené z rastlinného odpadu, toto biouhlie bolo testované pomocou organizmu *F. candida*. V prípade chronických testov bola pozorovaná znížená reprodukčnosť v koncentráciách vyšších ako je 5 hm. % biouhlia. Pri únikových testoch sa organizmy vyhýbali koncentráciám vyšším ako je 10 hm % biouhlia [53]. Tieto výsledky môžu poukazovať na možný toxický účinok na testovacie organizmy.

V štúdií Zhanga et al., ktorá sa zaoberala chronickými účinkami na *Eisenia fetida* (dážďovka hnojná), kde bolo aplikované biouhlie v 0, 1, 3, 10 hm. % do čistej pôdy a do pôdy kontaminovanej herbicídmi mezotrionom. V pôde s obsahom herbicídu a 0 hm. % biocharu nebol zaznamenaný účinok na rast a reprodukciu dážďovky druhu *E. fetida*, ale bol vyvolaný oxidačný stres a poškodenie DNA. V pôde s koncentráciou biocharu 1 a 3 hm. % a s obsahom herbicídu sa významne zvýšila hmotnosť dážďoviek, avšak v koncentrácií 10 hm. % bol

zaznamenaný opätovný pokles hmotnosti a poškodenie DNA. Biouhlie znížilo toxicitu herbicídu ale oneskorilo jeho degradáciu v pôde [54]. Pokles hmotnosti dážďoviek druhu *E. fetida* v prostredí biouhlia potvrdzuje aj ďalšia štúdia [55].

Minimálna mortalita dážďoviek druhu *Eisenia andrei* (dážďovka kalifornská) bola zaznamenaná v štúdií Prodana et al., v ktorej im bola podávaná potrava s prídavkom biouhlia, avšak bola negatívne ovplyvnená ich hmotnosť, ktorá bola významne nižšia a v tkanive boli zaznamenané metabolity PAU v rozsahu 54 µg/ml až 94 µg/ml. V tej istej štúdií boli testované pôdne výluhy na organizme *Daphnia magna* (hrotnatka veľka) a baktérií *Vibrio fischeri*, ani na jednom z akvatických druhov nebol zaznamenaný toxický efekt [56].

Mierne inhibičné účinky na reprodukčnosť organizmu *F. candida* zaznamenala štúdia Domeneho a kol., v ktorej bolo testovaných viacero vzoriek biouhlia pripravených z organických a drevených odpadov. Biouhlie bolo do pôdy pridané v množstve 0 hm. %, 0,2 hm. %, 0,5 hm. %, 2 hm. %, 7 hm. % a 14 hm. %. Inhibícia bola pozorovaná len pri niektorých surovinách a pri vyšších aplikačných dávkach biouhlia do pôdy. Záverom tejto štúdie bolo, že nízke aplikačné dávky (0,5 hm %) biouhlia do pôdy nemajú riziko z pohľadu krátkodobej toxicity, v prípade dlhodobého hľadiska predstavujú riziko vyššie aplikačné dávky biouhlia (7 hm.%) [57].

Výber teploty procesu úpravy biomasy na biouhlie má vplyv na toxicitu biouhlia, poukazuje na to štúdia, ktorá trvala 6 mesiacov a bola rozdelená do dvoch častí [58]. V tejto štúdií bol testovaný čistiarenský kal paralelne s biouhlím, ktoré bolo pripravené z tohto kalu pomocou pomalej pyrolýzy pri teplotách 500 °C, 600 °C a 700 °C. V prípade vzorky spracovanej pri teplote 500 °C bola zaznamenaná okamžitá toxicita a to v podobe 85,7 % mortality organizmu *F. candida*, táto vzorka vykazovala toxickejší efekt ako samotný čistiarenský kal. V prípade vzorky upravenej pri teplote 700 °C bol pozorovaný mierny nárast mortality až po šiestich mesiacoch. Vzorky, ktoré boli upravené pri teplote vyššej ako je 500 °C vykazovali nižšiu toxicitu ako kal a biouhlie (500 °C). Po vyhodnotení prvej časti (mesiac) bola zaznamenaná v prípade vzorky 500 a 600 °C mierna inhibícia reprodukcie, biouhlie pripravené pri teplote 700 °C vykazovalo najväčšiu inhibíciu reprodukcie. Druhá časť bola vyhodnotená po šiestich mesiacoch. Po uplynutí tejto doby bola pozorovaná stimulácia reprodukcie u každej vzorky a to v rozsahu 297 až 400 % [58].

Významnou vlastnosťou biouhlia by mohla byť schopnosť zníženia toxických účinkov polutantov na pôdnu faunu. V jednej zo štúdií bola zaznamenaná znížená biologická dostupnosť dimethoátu pomocou biouhlia, čo zapríčinilo zvýšenie LC50 a EC50 z 0,69 mg/kg a 0,46 mg/kg na hodnoty, ktoré boli vyššie ako 1,6 mg/kg [59].

Pozitívne účinky na *F. candida* a *Sinapis alba* (horčica biela) boli zaznamenané v sedem týždňovom experimente, kde bola testovaná pôda s prídavkom kompostu a s prídavkom biouhlia. V teste so *S. alba* v prostredí kompostu nebol pozorovaný žiaden významný efekt, pričom v prostredí s prídavkom biouhlia 0,5 a 1 hm. % po siedmich týždňoch bolo zaznamenané predĺženie koreňov o takmer 40 % v porovnaní s neošetrenou pôdou. Na konci testu s organizmom *F. candida* nebola zaznamenaná žiadna inhibícia a prídavok biouhlia v 0,5 a 1 hm. % mal pozitívny vplyv na reprodukciu. Konkrétne tieto dva prídavky viedli ku 36 % nárastu jedincov v porovnaní s neošetrenou pôdou [60].

3. EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

3.1 Charakteristika testovaných vzoriek biouhlia

Na testovanie boli vybrané tri vzorky biouhlia. Biouhlie označené písmenom (O) pochádza z čistiarene odpadových vôd, ktorá predstavuje malý až stredný zdroj znečistenia. Vyprodukovaný kal prešiel procesom sušenia. Sušenie biouhlia (O) prebehlo v solárnej sušiarňi typu Solartiger výrobcu Rothmeier GmbH, ktorá má dĺžku 72 m a šírku 12 m. Sušiareň pracuje pod automatickým režimom s celkovým počtom 12 ventilátorov o celkovom výkone 16,6 kW, za deň maximálne 160 kW. Výstupná surovina je prevažne práškového charakteru s veľkosťou častíc 2 – 10 mm a obsahu sušiny 86,66 %. Rovnako ďalšia vzorka biouhlia (T) bola pripravená z čistiarenskeho kalu z ČOV, pri ktorej je inštalovaná kalová koncovka, v tejto koncovke prebieha sušenie kalu. Vysušený kal ma obsah sušiny 80 – 90 %, spĺňa požiadavky Vyhlášky č. 437/2016 Sb. a je stabilný z mikrobiologického hľadiska. Spracovanie kalu na biouhlie prebiehalo v pyrolyzériu typu Pyreg. Teplota kalu v pyrolyzériu dosahuje 500 – 600 °C a teplota plynu v spaľovacej komore je 1200 °C. Vstupná surovina pre vzorku (I) je taktiež čistiarenský kal, ktorý bol sušený na pásovej sušičke značky Hueber, obsah sušiny je 90 %. Vzorky biouhlia (I) a (O) boli spracované pomocou pyrolyzy v centre AdMas technológiou AST Microwave. Mikrovlnná pyrolyza prebehla na zariadení Bionic Fuel za celkovej doby ožarovania 170 minút s maximálnou teplotou pyrolyzy 253 °C a výkonom magnetometru 3 kW. Všetky tri vzorky boli poskytnuté od výskumného centra AdMas.

3.2 Použitá prístrojová technika

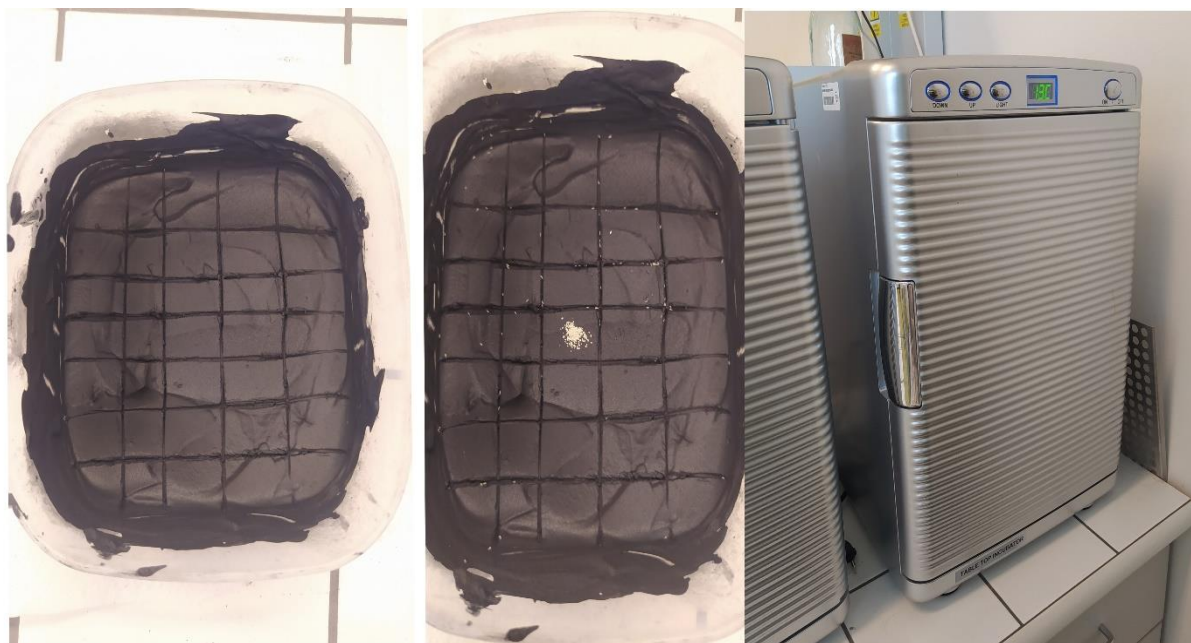
V tejto práci bol použitý pH meter SensoDirect pH110 značky Loviband, ktorým bolo stanovené pH pôdy a zmesí. Vzniknuté suspenzie boli trepané na trepačke značky WiseShake typu SHO – 1D pri frekvencií 180 ot/min. Chov organizmu prebiehal v inkubátore typu TOP TOXKIT. Obrázky jednotlivých zariadení sú zobrazené v nasledujúcich kapitolách.

3.3 Optimalizácia chovu organizmu *Folsomia candida*

Chov chvostoskoka prebieha v plastových krabičkách. Do krabičiek bol do výšky cca jeden centimeter nanesený chovný substrát, tento substrát obsahuje aktívne uhlie, ktoré zabezpečuje absorpciu metabolitov vyprodukovaných organizmami a sadru, ktorá udržuje celistvosť substrátu.

3.3.1 Postup prípravy chovu

Chovný substrát bol pripravený zo sadry a aktívneho uhlia v pomere 9 : 1, podľa metodiky ČSN EN ISO 11267 (836451) [24]. Táto zmes bola pomaly vlhčená do úplnej saturácie, následne bola ponechaná na vzduchu aby zaschla. Po zaschnutí boli pomocou špachtle vytvorené ryhy, do ktorých mohli organizmy klásť vajíčka. Správne pripravený chovný substrát je matný čiernej farby a po pridaní pár kvapiek vody sa táto voda pomaly vsakuje. Do takto pripravenej chovnej nádoby bolo pomocou odsávačky premiestnených niekoľko desiatok jedincov. Chov bol odvetrávaný každé dva dni, pri odvetrávaní bola odstránená vzniknutá pleseň na substráte a boli pridané sušené kvasnice ako potrava vid' Obr. 4. Krabičky boli počas chovu umiestnené v inkubátore pri teplote 20 ± 2 °C a bez svetelného zdroja.



Obr. 4. Chovný substrát (vľavo), optimalizovaný chov (stred), stolný inkubátor (vľavo)
(zdroj: vlastný)

3.4 Príprava umývanej pôdy

20 kg umývanej pôdy bolo pripravených podľa metodiky OECD 207 [61]. Umývajúca pôda bola zložená z 10 % rašeliny, 20 % kaolínu a 70 % kremenného piesku pričom 50 % piesku nesmie mať častice väčšie ako 0,2 mm. Jednotlivé zložky boli 24 hodín sušené voľne na vzduchu. Po sušení nasledovalo presievanie rašeliny a piesku cez sito. Rašelina bola presievaná cez sito s veľkosťou ok 2 mm a po presievaní boli všetky zložky dôkladne premiešané, aby bola zaistená čo najväčšia homogenita pripravenej umývanej pôdy. Výsledná pôda by mala mať pH v rozsahu $6 \pm 0,5$.



Obr. 5. Artificiálna pôda (zdroj: vlastný)

3.4.1 Stanovenie a úprava pH artificiálnej pôdy

Postup stanovenia pH artificiálnej pôdy bol nasledovný. Z dvoch rôznych miest bolo odobraných 5 gramov pôdy do reagenčnej nádoby. Následne bol pripravený 1M roztok chloridu draselného, ktorý bol pridaný v množstve 30 ml. Tato zmes bola intenzívne trepaná na trepačke po dobu jednej hodiny, následne bola zmes odložená a ponechaná v pokoji minimálne jednu hodinu a nasledovalo stanovenie pH. Vzhľadom na to, že pH výslednej artificiálnej pôdy sa nepohybovalo v rozsahu, ktorý je uvedený vyššie bola potrebná úprava. Úprava pH bola prevedená pomocou prídavku CaCO_3 a to v množstve 1,5 g na 500 g pôdy.

3.4.2 Stanovenie maximálnej vodnej kapacity pôdy WHC_{\max}

Stanovenie maximálnej vodnej kapacity prebiehalo v sklenenom valci, ktorý mal na dne jemnú textíliu. Textília na dne zabezpečila priesak vody a zároveň udržala pôdu vo valci. Do predom zväženého valca bolo navážených 50 g pôdy. Valec s pôdou bol umiestnený do misky s vodou, kde hladina vody dosahovala vrchný okraj pôdy vo valci. Valec bol v miske s vodou po dobu troch hodín. Po tejto dobe bol valec premiestnený na misku s kremenným pieskom, aby v pôde ostala iba voda obsiahnutá v kapilárnych póroch. Na piesku zotrval valec ďalšie tri hodiny. Po troch hodinách bol valec zväžený. Následne bol valec vážený v intervale 30 minút pokiaľ nebola dosiahnutá konštantná hmotnosť. Maximálna vodná kapacita WHC_{\max} bola vypočítaná pomocou rovnice č. 1,

$$\text{WHC}_{\max} = \frac{S-T-D}{D} \quad [1]$$

kde S je hmotnosť valca s nasýtenou pôdou, T je hmotnosť valca a D je hmotnosť suchej pôdy [24].

3.5 Príprava koncentračnej rady artificiálnej pôdy s biouhlím

Vzhľadom k tomu, že bolo potrebné testovaný materiál rovnomerne zakomponovať do artificiálnej pôdy aby bolo dosiahnuté potrebných koncentrácií, boli jednotlivé vzorky biouhlia namleté v elektrickom mlynčeku na jemný prášok. Po namletí bolo do 100 gramov artificiálnej pôdy zamiešané rozomleté biouhlie v množstve 0,5 g, 1 g, 2,5 g, 5 g a 10 g, týmto postupom vznikla koncentračná rada artificiálnej pôdy s biouhlím o 0,5 hm. %, 1 hm. %, 2,5 hm. %, 5 hm. % a 10 hm. %.

3.5.1 Stanovenie maximálnej vodnej kapacity zmesi WHC_{max}

Maximálnu vodnú kapacitu pôdy ovplyvňuje samotné zloženie pôdy. V prípade artificiálnej pôdy bola zaznamenaná určitá hodnota WHC_{max} , avšak v prípade prídavku ďalšej zložky do pôdneho systému, ktorá môže spôsobiť zmenu niektorých vlastností je nutné opäť stanoviť WHC_{max} výslednej zmesi. Preto bolo nutné tento fakt overiť opätovným stanovením WHC_{max} pre každú testovanú koncentráciu, pričom bolo postupované rovnakým spôsobom ako je uvedený v kapitole 3.4.2. Výsledky sú uvedené v kapitole 4.1.1.



Obr. 6. Stanovenie maximálnej vodnej kapacity zmesi (zdroj: vlastný)

3.5.2 Určenie pH testovanej zmesi

Rovnako ako je ovplyvnená maximálna vodná kapacita pôdy pridaním ďalšej zložky do systému, môže táto nová zložka pozmeniť hodnoty pH. Preto bolo nutné po zamiešaní biouhlia do pôdy opäť stanoviť pH výslednej zmesi podľa postupu uvedeného v kapitole 3.4.1 vid'. Obr. 7.



Obr. 7. Vzorky na trepačke (vľavo), pH meter (vpravo) (zdroj: vlastný)

3.6 Únikové testy s organizmom *Folsomia candida*

Vplyv biouhlia z krátkodobého hľadiska bol posúdený prostredníctvom únikových testov. V prípade tohto typu testov, má organizmus možnosť výberu podľa preferencií medzi kontrolnou artificiou pôdou a pôdou s prídavkom biouhlia. Testované boli prídavky 0,5 hm. %, 1 hm. %, 2,5 hm. %, 5 hm. % a 10 hm. % biouhlia. Tento test bol koncipovaný podľa ISO 17512-2:2011. Ako endpoint tohto testu bola sledovaná miera únikovosti jedincov, v prípade že je miera únikovosti vyššia ako 80 % považuje sa testovaná matrica za toxickú [62].

3.6.1 Postup testu

Plastové Petriho misky boli rozdelené na dve polovice, na jednu polovicu bola umiestnená kontrolná artificiou pôda a na druhú polovicu pôda s prídavkom biouhlia. Každá koncentrácia bola testovaná v troch opakovaníach.

Obe pôdy boli pred umiestnením do Petriho misky ovlhčené na hodnotu 40 % z príslušnej WHC_{max}. Následne bola odobraná priečka oddeľujúca obidve pôdy a do takto vzniknutej medzery bolo pomocou odsávačky premiestnených 10 jedincov zo synchronizovaného chovu starých 10 – 12 dní alebo 20 – 22 dní. Po prenesení potrebného počtu jedincov bola Petriho miska uzavretá a umiestnená do inkubátora o teplote 20 ± 2 °C a bez svetelného zdroja. Po 24 hodinách boli pomocou flotačnej metódy vyhodnotené únikové testy. Vyhodnotenie flotačnou metódou spočívalo v opatrnom premiestnení kontrolnej pôdy do jednej nádoby a pôdy s prídavkom biouhlia do druhej nádoby. Do každej nádoby bola pridaná voda a pár kvapiek atramentu. Pomocou sklenenej tyčinky bol celý obsah premiešaný, po ustálení hladiny boli spočítaní jedinci a určená miera únikovosti.



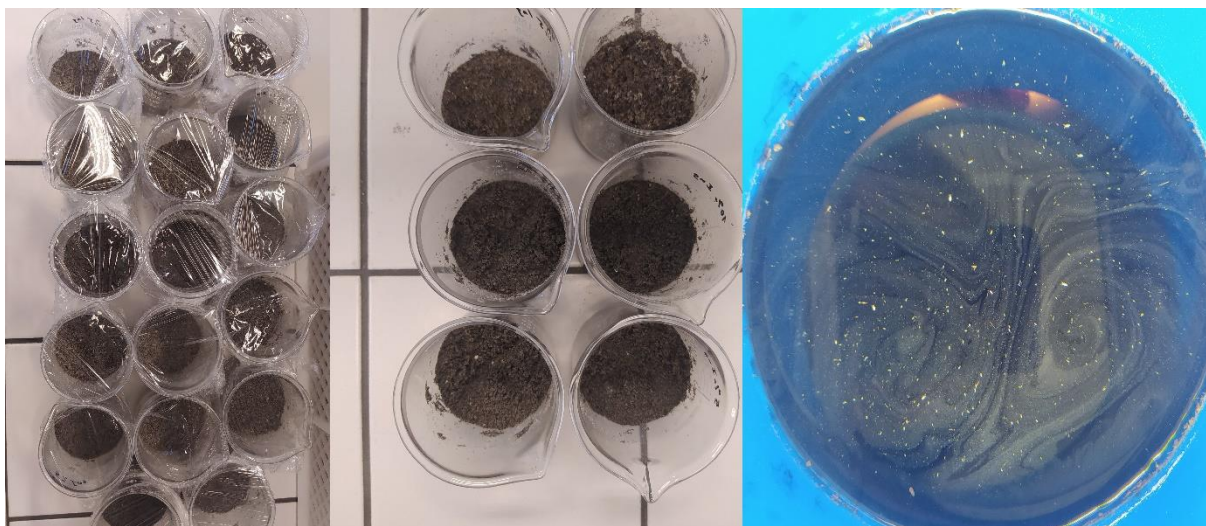
Obr. 8. Nasadenie únikového testu (vľavo), vyhodnotenie únikového testu (vpravo)
(zdroj: vlastný)

3.7 Chronické testy s organizmom *Folsomia candida*

V prípade posúdenia vplyvu biouhľia na *F. candida* z dlhodobejšieho hľadiska, bola použitá metodika chronického testu podľa ČSN EN ISO 11267 (836451) [24]. Ako endpointy tohto testu bola sledovaná kvalita reprodukcie tzn. počet nových jedincov a schopnosť prežitia dospelých i mladých jedincov. Doba trvania chronického testu s organizmom *Folsomia candida* je 28 dní [24].

3.7.1 Postup chronického testu

Bola pripravená koncentračná rada artificiálnej pôdy s prídavkom biouhľia v množstve 0,5 hm. %, 1 hm. %, 2,5 hm. %, 5 hm. % a 10 hm. %. Z jednotlivých koncentrácií bolo navážených 50 g v troch opakovaníach, ktoré boli prenesené do kadičiek o objeme 200 ml, tieto vzorky boli následne ovlhčené na hodnotu, ktorá odpovedá 50 % z maximálnej vodnej kapacity pôdy. Na takto pripravenú a dobre premiešanú pôdu bolo prenesených pomocou odsávačky 10 juvenilných jedincov vo veku 10 – 12 dní. Po prenesení potrebného počtu jedincov bolo na stred do kadičky pridaných cca 2 mg sušených kvasníc, ovlhčených malým množstvom vody. Takto pripravená kadička bola prikrytá potravinárskou fóliou a umiestnená do inkubátora s teplotou 20 ± 2 °C a bez svetelného zdroja. Pred vloženíom do inkubátora bola zaznamenaná hmotnosť každej kadičky. Každých sedem dní boli kadičky opäť zvažované a prípadný úbytok na hmotnosti bol dorovnaný destilovanou vodou. Po vážení sa kadičky na malú chvíľu otvorili a nechali sa vyvetrať, sušené kvasnice boli pridávané každých sedem dní. Po uplynutí stanovenej doby testu, bol test vyhodnotený pomocou flotačnej metódy. Obsah kadičky bol opatrne prenesený do nádoby s vodou kde sa následne pridalo pár kvapiek atramentu aby bolo možné spočítať živých dospelých a juvenilných jedincov.



Obr. 9. Nasadenie chronického testu (vľavo, stred), vyhodnotenie chronického testu (vpravo)
(zdroj: vlastný)

4. VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tejto kapitole sú súhrnne výsledky vlastností čistej artificiálnej pôdy a pôdy s prídavkom biouhlia o množstve 0,5 hm. %, 1 hm. %, 2,5 hm. %, 5 hm. % a 10 hm. %. V nasledujúcom texte boli tieto prídavky označené pojmom zmesi. Výsledky sú zobrazené v nasledujúcich podkapitolách formou tabuliek a grafov. Rovnakou formou sú uvedené výsledky chronických a únikových testov, ďalej sú v tejto kapitole diskutované vplyvy biouhlia na vlastnosti pôdy a na organizmus *F. candida*.

4.1 Súhrnné výsledky a diskusia vlastností testovaných matric

Boli vybrané a pripravené jednotlivé zmesi artificiálnej pôdy a biouhlia o hmotnostnej koncentrácii, ktorá je uvedená v tabuľke č. 1. Vzhľadom na to, že bola pridaná ďalšia zložka do pôdy vo forme biouhlia, bolo nutné opäť stanoviť maximálnu vodnú kapacitu týchto zmesí, aby bolo možné zabezpečiť optimálnu vlhkosť v testovacej nádobe.

Tabuľka 1 : Vybrané koncentrácie biouhlia

c (hm. %)	0,5	1	2,5	5	10
c (g/kg)	5	10	25	50	100

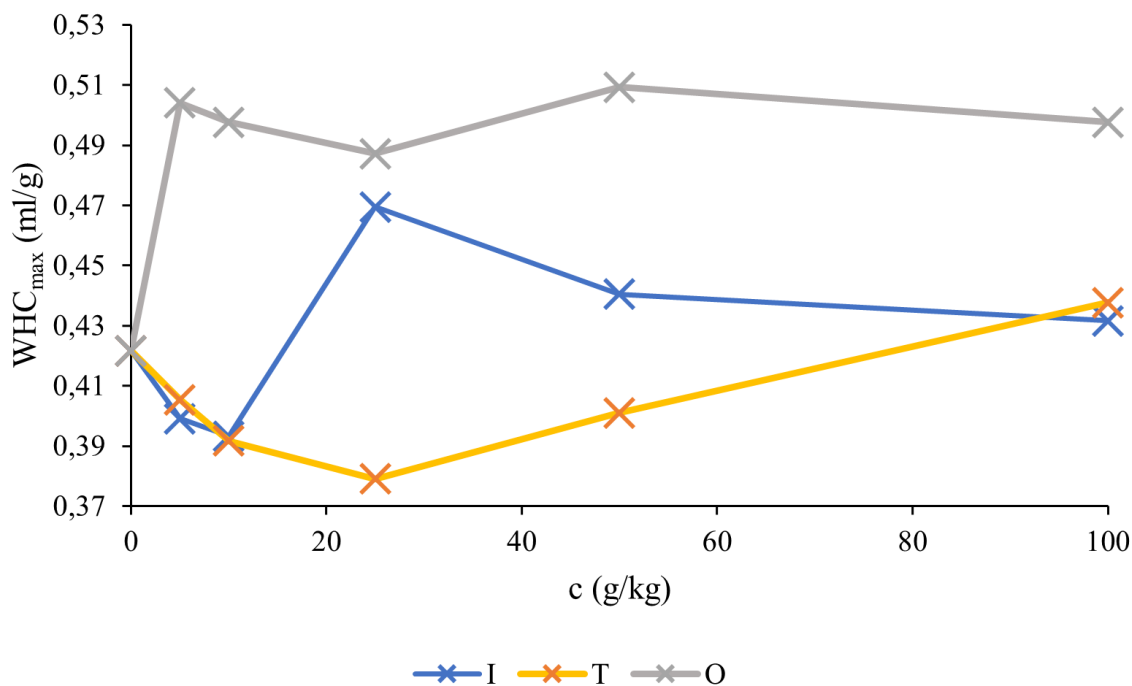
4.1.1 Maximálna vodná kapacita WHC_{max}

V tabuľke č. 2 sú zobrazené hodnoty WHC_{max} príslušných vzoriek a ich koncentrácií, grafické zobrazenie týchto hodnôt je v obrázku č. 10, kde je uvedená závislosť hodnôt WHC_{max} na príslušnej koncentrácii testovanej matrice. Najvyšší nárast hodnoty WHC_{max} bol zaznamenaný v prípade vzorky (O) o koncentrácii 5 g/kg, kde rozdiel navýšenia je 0,08 ml/g, čo znamená, že kilogram tejto pôdy pojme o 80 ml viac vody ako štandardná pôda, postupne so zvyšujúcou sa koncentraciou tieto hodnoty mierne klesali. V prípade vzorky (I) bol po miernom poklese zaznamenaný prudký nárast hodnôt, a to v prípade koncentrácie 25 g/kg, po prekročení tejto koncentrácie mali hodnoty klesajúci charakter. V malých koncentráciách spôsobila vzorka (T) pokles hodnôt, navýšenie množstva zadržanej vody v pôde bolo pozorované až pri koncentrácii 100 g/kg.

Vplyv biouhlia na fyzikálne vlastnosti artificálnej pôdy je zreteľný, pri stanovení WHC_{max} artificálnej pôdy boli s prídavkom biouhlia pozorované výkyvy hodnôt. Mnohé štúdie poukazujú na fakt, že biouhlie obsiahnuté v pôde má priaznivý efekt na zadržané množstvo vody [46, 72, 73]. V tejto práci bol pozorovaný pozitívny efekt v prípade určitých koncentrácií biouhlia v pôde, avšak najvyššie koncentrácie vykazovali oproti artificálnej pôde samotne väčšiu schopnosť zadržiavať vodu. Meranie každej koncentrácie testovaného biouhlia bolo uskutočnené iba raz, preto jedným z vysvetlení týchto nejednoznačných výsledkov môže byť nedostatočná homogenita zmesi vzorku odobraného pre stanovenie WHC_{max} .

Tabuľka 2 : Hodnoty maximálnej vodnej kapacity jednotlivých vzoriek zmesí

c (g/kg)	WHC_{max} (ml/g)		
	I	T	O
0	0,422	0,422	0,422
5	0,399	0,405	0,504
10	0,393	0,392	0,498
25	0,469	0,379	0,487
50	0,440	0,401	0,509
100	0,432	0,438	0,498



Obr. 10. Graf závislosť WHC_{max} na koncentrácii testovanej matrice

4.1.2 pH testovaných matric

Medzi základné vlastnosti pôdy patrí nepochybne jej pH. Preto bolo nutné stanoviť pH všetkých vzoriek zmesí. Zvýšené hodnoty pH boli zaznamenané v prípade vzorky biouhlia (I) a (T). V oboch prípadoch je možné sledovať rastúci trend, ktorý by so zvyšujúcim sa množstvom biouhlia pokračoval, pretože obidve vzorky vykazujú značný alkalický charakter, ktorý potvrdzujú hodnoty pH vodných výluhov v tabuľke č. 4. Mierny nárast bol pozorovaný aj pri vzorke (O), po prekročení množstva 10 g/kg sa hodnoty pH ustálili a dosahovali takmer rovnakých hodnôt. Pri porovnaní hodnôt pH vodných výluhov, má vzorka (O) značne nižšie hodnoty ako predchádzajúce vzorky biouhlia. Výsledky pH jednotlivých zmesí sú v tabuľke č. 3 a v obrázku č. 11.

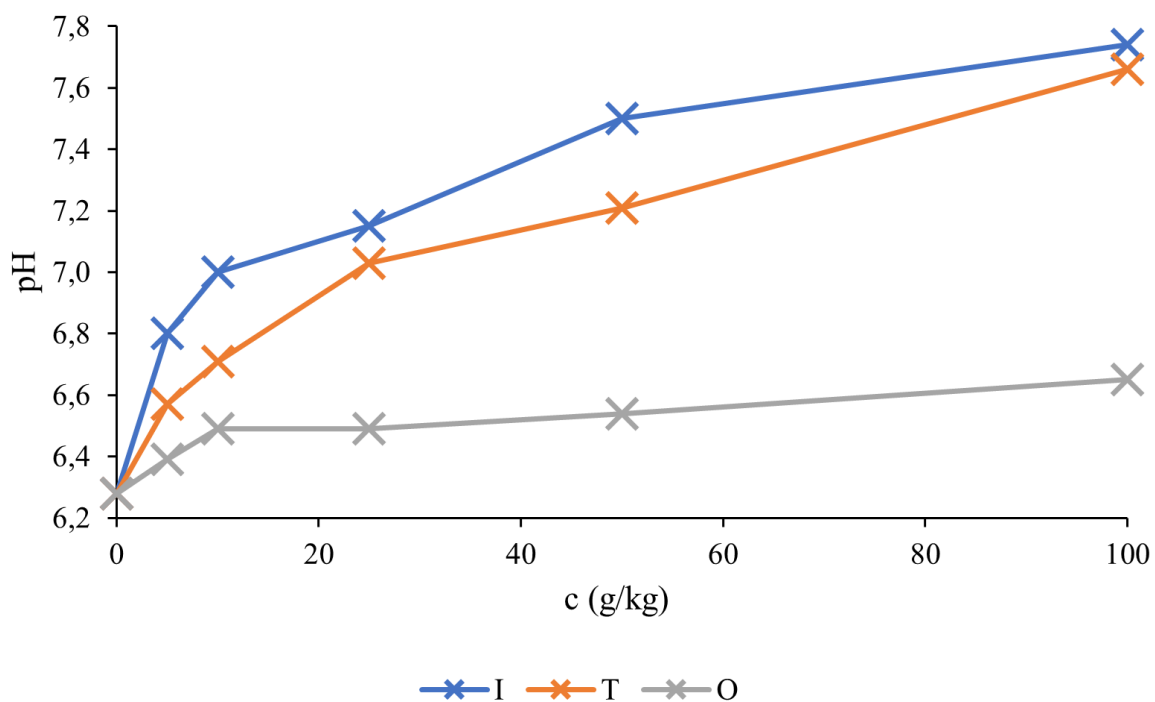
Tieto výsledky sa zhodujú s výsledkami štúdií, ktoré rovnako poukazujú na fakt, že biouhlie má alkalický charakter a spôsobuje zvýšenie hodnôt pH [63, 64]. Tento charakter biouhlia závisí na teplote úpravy biomasy, a na tom aká bola použitá biomasa na prípravu biouhlia [64], v tomto prípade má najvyššiu teplotu úpravy vzorka (T) (500 - 600 °C) čomu odpovedá aj najvyššia hodnota pH (9,37), ostatné dve vzorky mali teplotu úpravy 253 °C.

Tabuľka 3 : Výsledné hodnoty pH zmesí biouhlia

c (g/kg)	pH		
	I	T	O
0	6,28	6,28	6,28
5	6,80	6,57	6,39
10	7,00	6,71	6,49
25	7,15	7,03	6,49
50	7,50	7,21	6,54
100	7,74	7,66	6,65

Tabuľka 4 : Hodnoty pH a elektrickej konduktivity vodných výluhov

	I	T	O
pH	8,58	9,37	7,20
EC ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	1113	604	2490



Obr. 11. Graf závislosť pH na koncentracii testovanej matrice

4.2 Výsledky a diskusia ekotoxikologických testov

V nasledujúcich podkapitolách sú uvedené výsledky únikových testov v podobe miery únikovosti, a výsledky chronických testov v podobe percentuálnej mortality a počtu juvenilných jedincov. Na základe týchto výstupov sú diskutované krátkodobé a dlhodobé účinky biouhlia na zástupcov pôdných článkonožcov.

4.2.1 Únikové testy

Organizmy preferovali najviac vzorku (O) a to od koncentrácie 25 g/kg, v ktorej bola hodnota miery únikovosti najnižšia. Zvýšené hodnoty NR boli v prípade vzorky (T) od koncentrácie 10 g/kg, s rastúcou koncentráciou sa táto hodnota zvyšovala. Najvyššie hodnoty NR vykazovala vzorka (I), kde už koncentrácia 5 g/kg spôsobila 53 % únikovosť jedincov, najvyššia miera únikovosti 93 % bola v prípade tohto vzorku a to pri koncentracii 100 g/kg, tieto výsledky sú uvedené v tabuľkách č. 5, 6 a obrázku 12. Miera únikovosti bola vypočítaná podľa rovnice č. 2,

$$NR = \frac{K-T}{N} \cdot 100 \quad [2]$$

kde K je počet jedincov v kontrolnej pôde, T je počet jedincov v testovanej pôde a N je celkový počet nasadených jedincov.

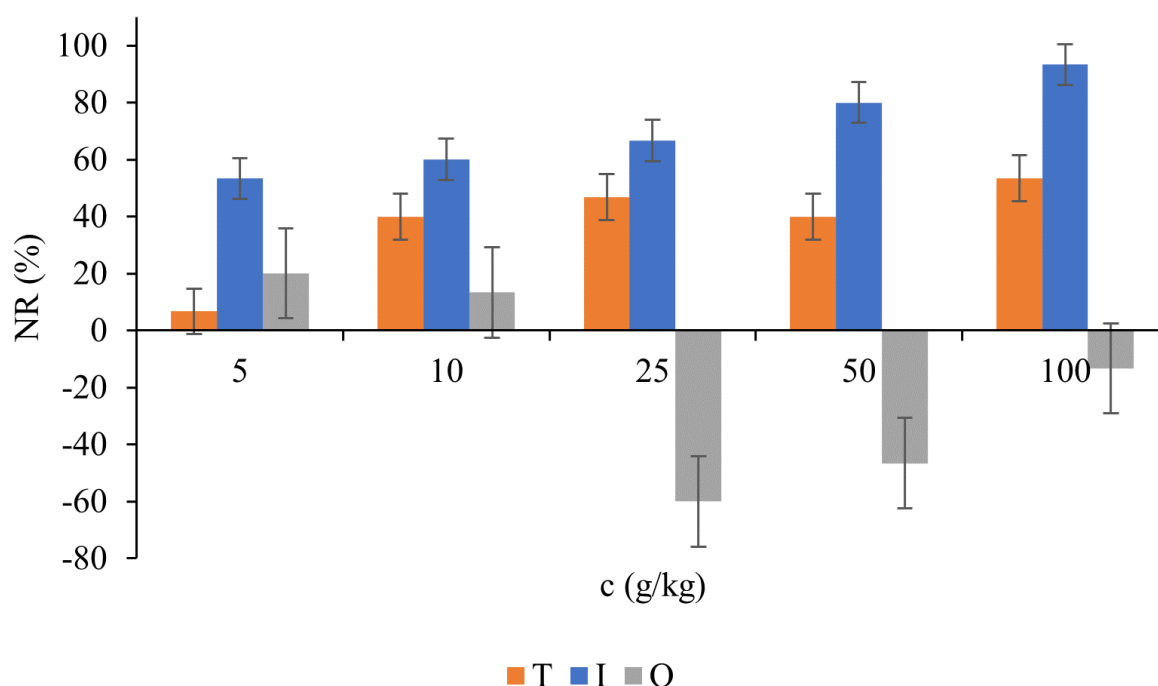
Prítomnosť vzorky biouhlia (I), mala výrazný efekt na testovacie organizmy v únikových testoch. Vzhľadom na to, že chvostoskoky preferujú kyslejšiu pôdu [65], môže prídavok biouhlia, ktoré upraví pH smerom ku zásaditým hodnotám, znížiť výskyt týchto organizmov. Podobný efekt na mieru únikovosti mala aj vzorka (T), ktorá taktiež dosahovala zásaditých hodnôt pH. Jediná vzorka, ktorá organizmom vyhovovala v únikových testoch bola vzorka (O), v prípade tejto vzorky dosahovala miera únikovosti záporne hodnoty a to až -60 %, príčinou prečo organizmy preferovali túto vzorku môže byť pomerne stála hodnota pH pôdy. Vzorky, ktoré vykazovali mieru únikovosti vyššiu ako 80 % sú považované za toxické [62].

Tabuľka 5 : Priemerné počty jedincov v kontrolnej a testovanej pôde

Vzorka	I		T		O	
	K	T	K	T	K	T
5	7,7	2,3	5,3	4,7	6,0	4,0
10	8,0	2,0	7,0	3,0	5,7	4,3
25	8,3	1,7	7,3	2,7	2,0	8,0
50	9,0	1,0	7,0	3,0	2,7	7,3
100	9,7	0,3	7,7	2,3	4,3	5,7

Tabuľka 6 : Výsledná miera únikovosti

c (g/kg)	NR (%)		
	I	T	O
5	53,3	6,7	20,0
10	60,0	40,0	13,3
25	66,7	46,7	-60,0
50	80,0	40,0	-46,7
100	93,3	53,3	-13,3



Obr. 12. Miera únikovosti v závislosti na koncentrácií testovanej matrice

4.2.2 Chronické testy

Po 28 dňoch trvania chronického testu boli spočítané rodičovské organizmy a určená ich mortalita podľa rovnice č. 3,

$$M = \frac{N-P}{N} \cdot 100 \quad [3]$$

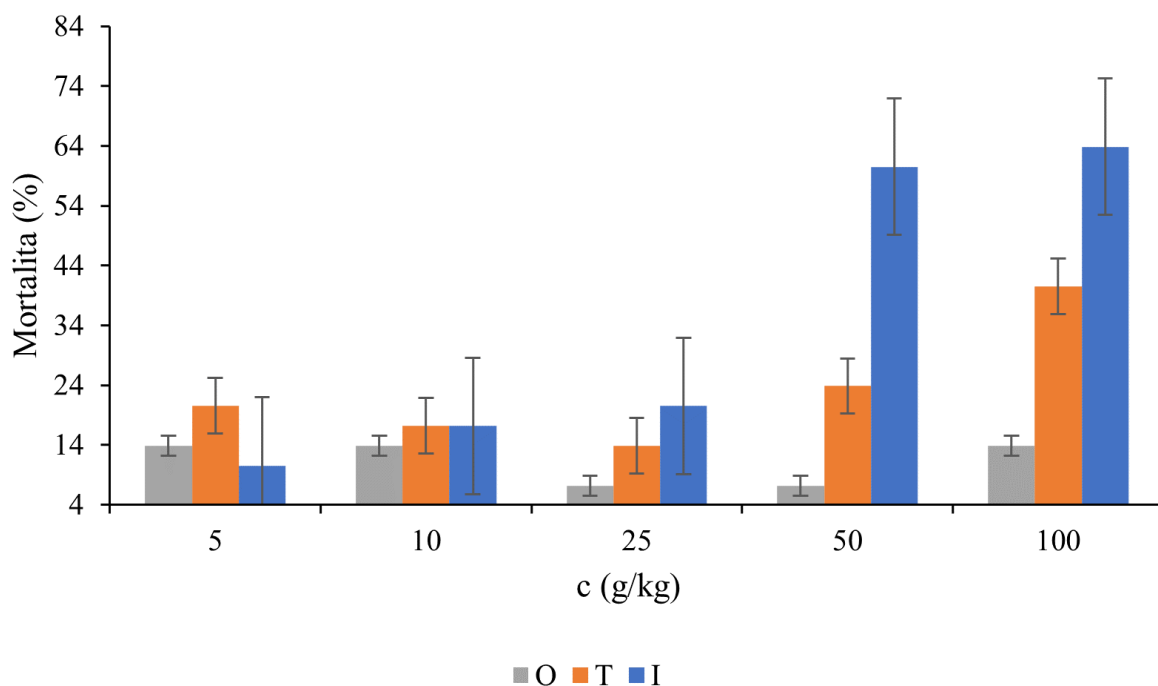
kde N je celkový počet nasadených jedincov a P je počet živých jedincov na konci testu.

Najvyššia mortalita bola pozorovaná pri vzorke (I), kde po prekročení koncentrácie 25 g/kg dosahovala mortalita až 60 %, pomerne nízku mortalitu do 20 % vykazovali koncentrácie 5 a 10 g/kg. Nižšiu mortalitu ako vzorka (I) mala vzorka (T) a (O), v prípade vzorky (T) bola najvyššia úmrtnosť v koncentrácií 100 g/kg a to 40 %, v koncentrácií 5 g/kg bola mortalita 20 %, avšak so zvýšením množstva biouhľia táto hodnota klesala až do koncentrácie 25 g/kg, kde dosiahla hodnoty 13 %, po prekročení tohto množstva začala mortalita značne narastať. Vzorka (O) ako jediná vykazovala nízke hodnoty úmrtnosti, v koncentráciách 25 a 50 g/kg bola úmrtnosť nižšia ako v prípade matrice bez prídavku biouhľia, najvyššia hodnota mortality

v prípade tejto vzorky bola 13 %. Mortalita jednotlivých vzoriek je uvedená v tabuľke č. 7 a obrázku 13. Je možné že zvýšené hodnoty pH zapríčinili vysokú mortalitu a efekt na kvalitu reprodukcie, kde v prípade vzorky (I) 100 g/kg a (T) 100 g/kg bola zaznamenaná najvyššia mortalita, podobný efekt na schopnosť prežitia organizmov bol pozorovaný aj v štúdií [53].

Tabuľka 7 : Výsledky percentuálnej mortality

c (g/kg)	Mortalita (%)		
	I	T	O
0	13	10	10
5	10	20	13
10	17	17	13
25	20	13	7
50	60	23	7
100	63	40	13



Obr. 13. Percentuálna mortalita v závislosti na koncentrácii

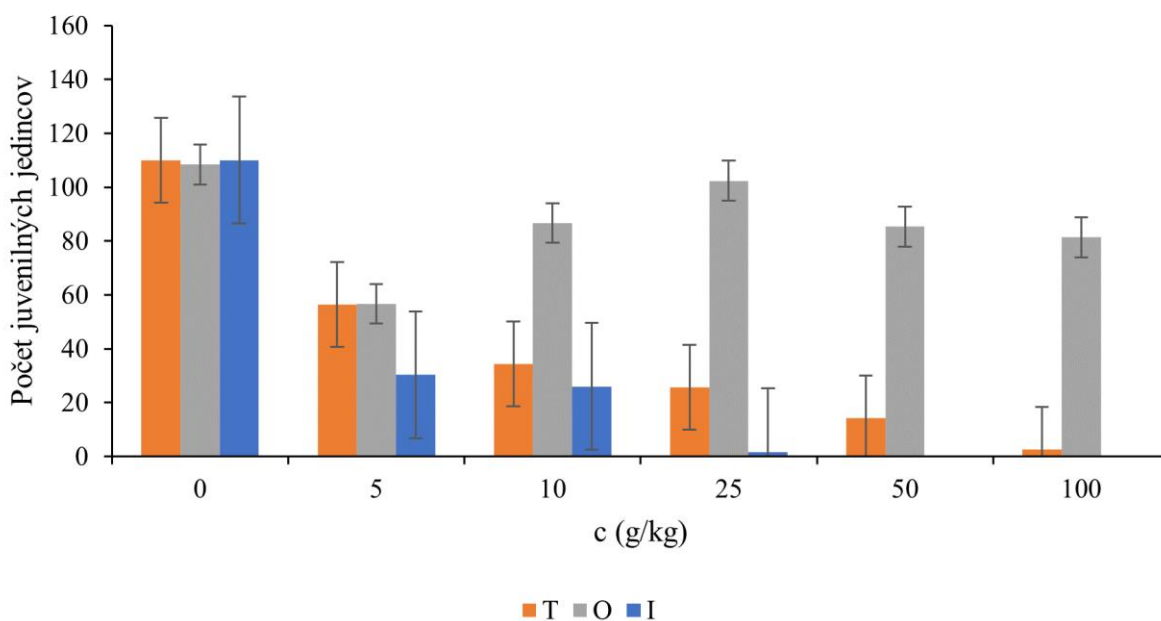
Taktiež po 28 dňoch boli spočítané juvenilné jedinci, ktorých počet je uvedený v tabuľke č. 8 a obrázku 14. Hodnoty sú uvedené ako priemerný počet juvenilných jedincov z troch opakovaní. Najnižší počet jedincov mala vzorka (I), kde v prítomnosti biouhlia o koncentracií vyššej ako 25 g/kg bol výskyt jedincov nulový. Postupný pokles jedincov oproti kontrole bol zaznamenaný pri vzorke (T), ktorý je pozorovateľný už od koncentrácie 5 g/kg, kde bol počet juvenilných jedincov menší o 51 % oproti nulovej koncentrácii biouhlia, pri maximálnej koncentrácii 100 g/kg bol priemer traja jedinci na opakovanie. Najvyššie počty juvenilných jedincov mala vzorka (O), v najnižšej koncentrácii bolo pozorované zníženie počtu jedincov o 53 %, ale so zvýšením množstva biouhlia počet jedincov pribúdala, a to až

do koncentrácie 25 g/kg, v ktorej počet dosiahol 102 jedincov na stanovenie. Po prekročení tejto koncentrácie nastalo opätovné zníženie počtu jedincov.

Tento značný vplyv na počet juvenilných jedincov v prípade vzorky (I) a (T) môže byť zapríčinený rastúcim pH [53], poprípade ako uvádza štúdia Domeneho et al., môžu mať toxický efekt na organizmy nie len kontaminanty ale aj rozpustný Na a NH₃, ktorý sa v biouhľí vyskytuje [57]. Jediný pozitívny vplyv biouhľia bol opäť zaznamenaný iba v prípade vzorky (O), kde koncentrácia 25 g/kg mala najmenšiu úmrtnosť dospelých jedincov a zároveň mala aj najvyšší počet juvenilných jedincov, ktorý bol takmer totožný s kontrolou pôdou.

Tabuľka 8 : Priemerný počet juvenilných jedincov v jednotlivých koncentráciách

c (g/kg)	Počet juvenilných jedincov		
	I	T	O
0	110	110	108
5	30	56	57
10	26	34	87
25	2	26	102
50	0	14	85
100	0	3	81



Obr. 14. Počet juvenilných jedincov v závislosti na koncentrácii testovanej matrice

5. ZÁVER

Účelom tejto práce bolo zhodnotenie dlhodobých a krátkodobých účinkov na zástupcovi pôdnych bezstavovcov. Ako testovacie organizmy boli použité chvostoskoky, ktoré sú pomerne využívané na hodnotenie látok aplikovaných na pôdu. Dlhodobé účinky na mortalitu a kvalitu reprodukcie boli sledované pomocou chronických testov (28 dní), metodika únikových testov bola využitá na zistenie krátkodobých účinkov a to prostredníctvom prostredia, ktoré organizmy preferovali.

Testované koncentrácie mali už v malých množstvách negatívne dôsledky na organizmy, avšak jedna vzorka (O) mala v množstve 25 g/kg pri chronických testoch priam rovnaké účinky ako kontrolná pôda. Únikové testy rovnako preukázali, že toto biouhlie by mohlo byť aplikované na pôdu bez toho aby boli ovplyvnené pôdne bezstavovce, pretože pôdu s prídavkom tohto biouhlia testovacie jedince preferovali. U ostatných dvoch vzoriek (I) a (T) bolo možné sledovať, že čím bola koncentrácia biouhlia vyššia tým sa zvyšoval aj negatívny efekt na chvostoskoky. Na tento fakt poukazujú aj únikové a chronické testy, kde miera únikovosti rástla a počet juvenilných jedincov klesal so zvyšujúcou sa koncentráciou biouhlia, preto by tieto dve vzorky mali byť aplikované na pôdu iba do určitého množstva a to takého, ktoré ovplyvní organizmy do najmenej možnej miery. Vysoké koncentrácie vzorky (I) by sa mohli považovať za toxické, pretože pri únikových testoch bola miera únikovosti vyššia ako 80 % a počet juvenilných jedincov bol v niektorých koncentráciách nulový.

Ďalším cieľom tejto práce bola optimalizácia chovu chvostoskoka *F. candida*. Optimalizácia chovu bola dosiahnutá zhruba po jednom mesiaci, kedy bolo možné pozorovať v intervale každých 14 dní nový prírastok jedincov. Týmto bol zabezpečený dostatočný počet jedincov na nasadenie potrebného množstva testov v danom časovom rozsahu.

Prítomnosť biouhlia mala vplyv aj na vlastnosti pôdy, konkrétne na pH a WHC_{max} . V dvoch prípadoch boli hodnoty pH zmesí razantne zvýšené a to až na hodnoty 7,74 a 7,66, táto zmena môže priaznivo prispieť ku problému acidifikácie pôd, avšak s dopadom na výskyt pôdnych článkonožcov. Zlepšené schopnosti zadržiavať vodu v pôde boli pozorované pri každej vzorke a pri určitej koncentrácii, opäť by bolo možné využitím biouhlia zvýšiť zadržané množstvo vody v pôde.

6. ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV

- [1] ČURLÍK, Ján a Ľubomír JURKOVIČ. Pedogeochemia. 1. Bratislava: Univerzita Komenského v Bratislave, 2012. ISBN 978-80-223-3210-1.
- [2] ZHANG, Weixin a Shenglei FU. Special issue on *the Biodiversity and Ecological Functions of Soil Fauna*. Soil Ecology Letters [online]. 2021, 3(2), 83-83 [cit. 2021-11-07]. ISSN 2662-2289. Dostupné z: doi:10.1007/s42832-021-0079-1
- [3] MILOSLAV, Šimek, Dana ELHOTTOVÁ a Václav PIŽL. Živá pôda: *ROZMANITOSŤ ŽIVOTA A ZDRAVÍ EKOSYSTÉMU*. Vydání 1. Národní 3, 117 20 Praha 1.: SERIFA®, s. r. o., 2015. ISBN 978-80-200-2567-8.
- [4] MAKOVNÍKOVÁ, J., G. BARANČÍKOVÁ, P. DLAPA a K. DERCOVÁ. *Inorganic Contaminants in Soil Ecosystems*. Chemické listy. 2006, 2006(100), 424432.
- [5] KROMKA, Miroslav a Zoltán BEDRNA. *Hygiena pôdy*. 1. vyd. Bratislava: Univerzita Komenského, 2002. ISBN 80-223-1602-4.
- [6] FERREIRA, Carla, Samaneh SEIFOLLAHI-AGHMIUNI, Georgia DESTOUNI, Navid GHAJARNIA a Zahra KALANTARI. Soil degradation in the European Mediterranean region: Processes, status and consequences: Processes, status and consequences. *Science of The Total Environment*. 2022, 805, 150106. ISSN 0048-9697. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150106
- [7] ŠIMEK, Miloslav. Bez pôdy to nepůjde. České *Budějovice*: Biologické centrum AV ČR, Ústav půdní biologie, 2020. ISBN 978-80-86668-59-8.
- [8] OR, Dani, Thomas KELLER a William SCHLESINGER. *Natural and managed soil structure: On the fragile scaffolding for soil functioning: On the fragile scaffolding for soil functioning*. *Soil and Tillage Research*. 2021, 208, 104912. ISSN 0167-1987. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.still.2020.104912
- [9] SMRŽ, Jaroslav. *Základy biologie, ekologie a systému bezobratlých živočichů. 1. V Praze: Karolinum, 2013. ISBN 978-80-246-2258-3.*
- [10] CHRISTIANSEN, Kenneth, Peter BELLINGER a Frans JANSSENS. *Collembola*. 2009, s. 206-210. ISBN 9780123741448. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-374144-8.00064-3
- [11] RUSEK, Josef. *Biodiversity of Collembola and their functional role in the ecosystem*. *Biodiversity & Conservation*. 1998, 7(9), 1207-1219. ISSN 1572-9710. Dostupné z: doi:10.1023/A:1008887817883
- [12] SALMON, Sandrine. *Collembola: actors of soil life*: Encyclopedia of the Environment [online]. 1-8 [cit. 2021-11-07]. ISSN 2555-0950. Dostupné z: https://www.encyclopedie-environnement.org/en/life/collembola-actors-of-soil-life/.
- [13] SCHRADER, Stefan, Friederike MEYER-WOLFARTH a E. OLDENBURG. Biological control of soil-borne phytopathogenic fungi and their mycotoxins by soil fauna-a review. 2013, 70, 291-298.
- [14] FILSER, Juliane. *The role of Collembola in carbon and nitrogen cycling in soil*: Proceedings of the Xth international Colloquium on Apterygota, České Budějovice 2000:

- Apterygota at the Beginning of the Third Millennium: Proceedings of the Xth international Colloquium on Apterygota, České Budějovice 2000. *Pedobiologia*. 2002, 46(3), 234-245. ISSN 0031-4056. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1078/0031-4056-00130>
- [15] FRAMPTON, G.K. *The potential of* Collembola as indicators of pesticide usage: Evidence and methods from the UK arable ecosystem. *Pedobiologia*. 1997, 41, 179-184.
- [16] NEWMAN, M.C. *Fundamentals of Ecotoxicology*. CRC Press, 2009. ISBN 9781439883129. Dostupné také z: https://books.google.cz/books?id=sg_SBQAAQBAJ
- [17] TARAZONA, Jose a G. DOHMEN. *Chapter 5 - Ecotoxicology of Rice Pesticides*. Amsterdam: Elsevier, 2008, s. 69-90. ISBN 978-0-444-53087-5. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/B978-044453087-5.50006-0>
- [18] KOČÍ, Vladimír a Klára MOCOŤÁ. *Ekotoxikologie pro chemiky*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2009. ISBN 978-80-7080-699-9.
- [19] ANDĚL, Petr. *Ekotoxikologie, bioindikace a biomonitoring*. 1. Liberec: Evernia, 2011. ISBN 978-809-0378-797.
- [20] ENVIRONMENTAL ASSESSMENTS OF PLANS, PROGRAMMES AND PROJECTS RULINGS OF THE COURT OF JUSTICE OF THE EUROPEAN UNION [online]. 1. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2020 [cit. 2022-04-10]. ISBN 978-92-76-25274-0. Dostupné z: doi:[10.2779/88827](https://doi.org/10.2779/88827)
- [21] HOPKIN, Stephen P. *Biology of the Springtails (Insecta Collembola)*. 1. New York, USA: Oxford University Press, 1997. ISBN 0-19-854084-1.
- [22] FILSER, Juliane, Sonja WIEGMANN a Birthe SCHRÖDER. Collembola in ecotoxicology—Any news or just boring routine?. *Applied Soil Ecology*. 2014, 83, 193-199. ISSN 0929-1393. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.07.007>
- [23] FOUNTAIN, Michelle a Steve HOPKIN. *Folsomia candida* (Collembola): a “standard” soil arthropod. *Annu Rev Entomol: a “standard” soil arthropod. Annu Rev Entomol. Annual review of entomology*. 2005, 50, 201-22. Dostupné z: doi:[10.1146/annurev.ento.50.071803.130331](https://doi.org/10.1146/annurev.ento.50.071803.130331)
- [24] ČSN EN ISO 11267 (836451): *Kvalita půdy - Inhibice reprodukce chvostoskoků (Folsomia candida) látkami znečišťujícími půdu*. 09/2014. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, 2014.
- [25] GREENSLADE, Penelope a Gary VAUGHAN. A comparison of Collembola species for toxicity testing of Australian soils. *Pedobiologia*. 2003, 47(2), 171-179. ISSN 00314056. Dostupné z: doi:[10.1078/0031-4056-00180](https://doi.org/10.1078/0031-4056-00180)
- [26] GARDI, Ciro, Cristina MENTA a Alan LEONI. Evaluation of the environmental impact of agricultural management practices using soil microarthropods. *Fresenius Environmental Bulletin*. 2008, 18, 1165-1169.
- [27] Microarthropod cryptozoan predators: *DDT metabolism and food chain studies*. USA, 1971. Ph.D. Thesis. Michigan State University.

- [28] SCOTT-FORDSMAND, Janeck, *Paul KROGH a Stephen HOPKIN*. Toxicity of Nickel to a Soil-Dwelling Springtail, *Folsomia fimetaria* (Collembola: Isotomidae): Isotomidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 1999, 43(1), 57-61. ISSN 0147-6513. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1006/eesa.1998.1758>
- [29] YANG, Caidi, *Jingjing LIU a Shenggao LU*. Pyrolysis temperature affects pore characteristics of rice straw and canola stalk biochars and biochar-amended soils. *Geoderma*. 2021, 397, 115097. ISSN 0016-7061. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2021.115097>
- [30] DAY, Danny, *Robert EVANS, James LEE a Don REICOSKY*. Economical CO₂, SO_x, and NO_x capture from fossil-fuel utilization with combined renewable *hydrogen production and large-scale carbon sequestration*. *Energy*. 2005, 30, 2558-2579. Dostupné z: doi:[10.1016/j.energy.2004.07.016](https://doi.org/10.1016/j.energy.2004.07.016)
- [31] EL-NAGGAR, Ali, *Ahmed EL-NAGGAR, Sabry SHAHEEN, Binoy SARKAR, Scott CHANG, Daniel TSANG, Jörg RINKLEBE a Yong OK*. Biochar composition-dependent impacts on soil nutrient release, carbon mineralization, and potential environmental risk: A review: A review. *Journal of Environmental Management*. 2019, 241, 458-467. ISSN 0301-4797. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.02.044>
- [32] POHOŘELÝ, MICHAEL A *KOL*. *Materiálové a energetické využití suchého stabilizovaného čistírenského kalu – výroba biocharu středně-teplotní pomalou pyrolýzou*. Praha: Ústav chemických procesů AV ČR, 2017.
- [33] VAN KREVELEN, DW. *Graphical-statistical method for the study of structure and reaction processes of coal*. *Fuel*. 1950, 29, 269-284.
- [34] PALAMANIT, Arkom, *Phonthip KHONGPHAKDI, Yutthana TIRAWANICHAKUL a Neeranuch PHUSUNTI*. Investigation of yields and qualities of pyrolysis products obtained from oil palm biomass using an agitated bed pyrolysis reactor. *Biofuel Research Journal*. Green Wave Publishing of Canada, 2019, 6(4), 1065. ISSN 2292-8782.
- [35] BISWAS, Bijoy, *Nidhi PANDEY, Yashasvi BISHT, Rawel SINGH, Jitendra KUMAR a Thallada BHASKAR*. Pyrolysis of agricultural biomass residues: Comparative study of corn cob, wheat straw, rice straw and rice husk: Comparative study of corn cob, wheat straw, rice straw and rice husk. *Bioresource Technology*. 2017, 237, 57-63. ISSN 0960-8524. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.046>
- [36] SELVARAJOO, Anurita, *Yu WONG, Kuan KHOO, Wei-Hsin CHEN a Pau SHOW*. Biochar production via pyrolysis of citrus peel fruit waste as a potential usage as solid biofuel. *Chemosphere*. 2022, 294, 133671. ISSN 0045-6535. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133671>
- [37] RONSSE, Frederik. *Biochar production. Biochar: a regional supply chain approach in view of climate change mitigation*. Cambridge University Press New York, NY, 2016, 199-226.
- [38] SHARMA, Hari, *Ajit SARMAH a Brajesh DUBEY*. Hydrothermal carbonization of renewable waste biomass for solid biofuel production: A discussion on process mechanism, the influence of process parameters, environmental performance and fuel

- properties of hydrochar: A discussion on process mechanism, the influence of process parameters, environmental performance and fuel properties of hydrochar. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2020, 123, 109761. ISSN 1364-0321. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.109761>
- [39] LIU, Ziyun, *Zihan WANG, Hongxu CHEN*, Tong CAI a Zhidan LIU. Hydrochar and pyrochar for sorption of pollutants in wastewater and *exhaust gas*: A critical review: A critical review. *Environmental Pollution*. 2021, 268, 115910. ISSN 0269-7491. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115910>
- [40] ZHANG, Yaning, *Sichen FAN, Tao LIU*, Wenming FU a Bingxi LI. A review of biochar prepared by microwave-assisted pyrolysis of organic wastes. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*. 2022, 50, 101873. ISSN 2213-1388. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.seta.2021.101873>
- [41] LEHMANN, Johannes a *Stephen JOSEPH*. *Biochar for environmental management: science, technology and implementation: science, technology and implementation*. Routledge, 2015. ISBN 1134489536.
- [42] MA, Ningning, *Lili ZHANG, Yulan ZHANG* et al. Biochar improves soil aggregate stability and water availability in a mollisol after three years of field application. *PloS one*. Public Library of Science San Francisco, CA USA, 2016, 11(5), 0154091. ISSN 1932-6203.
- [43] HE, Lizhi, *Huan ZHONG, Guangxia LIU*, Zhongmin DAI, Philip BROOKES a Jianming XU. Remediation of heavy metal contaminated soils by biochar: *Mechanisms*, potential risks and applications in China: Mechanisms, potential risks and applications in China. *Environmental Pollution*. 2019, 252, 846-855. ISSN 0269-7491. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.151>
- [44] LIU, Mengyuan, *Jun ZHU, Xin YANG*, Qingling FU, Hongqing HU a Qiaoyun HUANG. Biochar produced from the straw of common crops *simultaneously stabilizes soil organic matter and heavy metals*. *Science of The Total Environment*. 2022, 828, 154494. ISSN 0048-9697. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154494>
- [45] AN, Ning, *Lei ZHANG, Yaxian LIU* et al. Biochar application with reduced chemical fertilizers improves soil pore structure and rice productivity. *Chemosphere*. 2022, 298, 134304. ISSN 0045-6535. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134304>
- [46] WANG, Yanru, *Xinxin MA, Muhammad SALEEM*, Yong YANG a Qingming ZHANG. Effects of corn stalk biochar and pyrolysis temperature on wheat *seedlings growth and soil properties* stressed by herbicide sulfentrazone. *Environmental Technology & Innovation*. 2022, 25, 102208. ISSN 2352-1864. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.102208>
- [47] GARCIA-PEREZ, Manuel. *The Formation of Polyaromatic Hydrocarbons and Dioxins During Pyrolysis: A Review of the Literature with Descriptions of Biomass Composition, Fast Pyrolysis Technologies and Thermochemical Reactions: A Review of the Literature*

- with Descriptions of Biomass Composition, Fast Pyrolysis *Technologies and Thermochemical Reactions*. 2008.
- [48] CHAGGER, H.K, A KENDALL, A MCDONALD, M POURKASHANIAN a A WILLIAMS. Formation of dioxins and other semi-volatile organic compounds in *biomass combustion*. *Applied Energy*. 1998, 60(2), 101-114. ISSN 0306-2619. Dostupné z: doi:[https://doi.org/10.1016/S0306-2619\(98\)00020-8](https://doi.org/10.1016/S0306-2619(98)00020-8)
- [49] YU, Xiang-Yang, Chang-Li MU, Cheng GU, Cun LIU a Xian-Jin LIU. Impact of woodchip biochar amendment on the sorption and dissipation of *pesticide acetamiprid* in agricultural soils. *Chemosphere*. 2011, 85(8), 1284-1289. ISSN 0045-6535. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.07.031>
- [50] BARONTI, Silvia, Giorgio ALBERTI, Gemini DELLE VEDOVE et al. The Biochar Option to Improve Plant Yields: First Results From Some Field and Pot Experiments in Italy: First Results From Some Field and Pot Experiments in Italy. *Italian Journal of Agronomy*. 2010, 5. Dostupné z: doi:10.4081/ija.2010.3
- [51] GRUSS, Iwona, Jacek TWARDOWSKI, Agnieszka LATAWIEC, Jolanta KRÓLCZYK a Agnieszka MEDYŃSKA-JURASZEK. The Effect of Biochar Used as Soil Amendment on Morphological Diversity of *Collembola*. *Sustainability*. 2019, 11, 1-13. Dostupné z: doi:10.3390/su11185126
- [52] SALEM, Mohamed, Josef KOHLER a Matthias RILLIG. Palatability of carbonized materials to *Collembola*. *Applied Soil Ecology*. 2013, 64, 63-69. ISSN 0929-1393. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.10.009>
- [53] CONTI, Federica, Giovanna VISIOLI, Alessio MALCEVSCI a Cristina MENTA. Safety assessment of gasification biochars using *Folsomia candida* (*Collembola*) ecotoxicological bioassays. *Environmental Science and Pollution Research*. 2018, 25(7), 6668-6679. ISSN 1614-7499. Dostupné z: doi:10.1007/s11356-017-0806-4
- [54] ZHANG, Qingming, Muhammad SALEEM a Caixia WANG. Effects of biochar on the earthworm (*Eisenia foetida*) in soil contaminated with and/or without *pesticide mesotrione*. *Science of The Total Environment*. 2019, 671, 52-58. ISSN 0048-9697. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.364>
- [55] HUANG, Caide, Weiyue WANG, Shizhong YUE, Muhammad ADEEL a Yuhui QIAO. Role of biochar and *Eisenia fetida* on metal bioavailability and *biochar effects on earthworm fitness*. *Environmental Pollution*. 2020, 263, 114586. ISSN 0269-7491. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114586>
- [56] PRODANA, M., C. SILVA, C. GRAVATO, F.G.A. VERHEIJEN, J.J. KEIZER, A.M.V.M. SOARES, S. LOUREIRO a A.C. BASTOS. Influence of biochar particle size on biota responses. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2019, 174, 120-128. ISSN 0147-6513. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.044>
- [57] DOMENE, X., A. ENDERS, K. HANLEY a J. LEHMANN. Ecotoxicological characterization of biochars: Role of feedstock and pyrolysis temperature: *Role of feedstock and pyrolysis temperature*. *Science of The Total Environment*. 2015, 512-513,

- 552-561. ISSN 0048-9697. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.12.035](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.12.035)
- [58] TOMCZYK, Beata, Anna SIATECKA, Aleksandra BOGUSZ a Patryk OLESZCZUK. Ecotoxicological assessment of sewage sludge-derived biochars-amended soil. *Environmental Pollution*. 2021, 275, 116484. ISSN 0269-7491. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116484](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116484)
- [59] MALHEIRO, Catarina, Diogo CARDOSO, Joana NEVES, Diana LIMA, Valdemar ESTEVES, Amadeu SOARES a Susana LOUREIRO. Biochar in soil mitigates dimethoate hazard to soil pore water exposed biota. *Journal of Hazardous Materials*. 2020, 400, 123304. ISSN 0304-3894. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123304](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123304)
- [60] MOLNÁR, Mónika, Emese VASZITA, Éva FARKAS et al. Acidic sandy soil improvement with biochar — A microcosm study. *Science of The Total Environment*. 2016, 563-564, 855-865. ISSN 0048-9697. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.091](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.091)
- [61] OECD. Test No. 207: *Earthworm, Acute Toxicity Tests*. Dostupné z: [doi:https://doi.org/https://doi.org/10.1787/9789264070042-en](https://doi.org/https://doi.org/10.1787/9789264070042-en)
- [62] ISO 17512-2:2011. *Soil quality — Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour — Part 2: Test with collembolans (Folsomia candida)*. 1 ed. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, 2011.
- [63] FU, Guiquan, Xiaona QIU, Xianying XU, Wen ZHANG, Fei ZANG a Chuanyan ZHAO. The role of biochar particle size and application rate in promoting the hydraulic and physical properties of sandy desert soil. *CATENA*. 2021, 207, 105607. ISSN 0341-8162. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.catena.2021.105607](https://doi.org/10.1016/j.catena.2021.105607)
- [64] YUAN, Haoran, Tao LU, Hongyu HUANG, Dandan ZHAO, Noriyuki KOBAYASHI a Yong CHEN. Influence of pyrolysis temperature on physical and chemical properties of biochar made from sewage sludge. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2015, 112, 284-289. ISSN 0165-2370. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.jaap.2015.01.010](https://doi.org/10.1016/j.jaap.2015.01.010)
- [65] OECD. Test No. 232: *Collembolan Reproduction Test in Soil*. Dostupné z: [doi:https://doi.org/https://doi.org/10.1787/9789264264601-en](https://doi.org/https://doi.org/10.1787/9789264264601-en)
- [66] BEZCHLEBOVÁ, Jitka, Jitka ČERNOHLÁVKOVÁ, Jan LÁNA, Ivana SOCHOVÁ, Klára KOBETIČOVÁ a Jakub HOFMAN. Effects of toxaphene on soil organisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2007, 68(3), 326-334. ISSN 0147-6513. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.05.009](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.05.009)
- [67] BUR, T, Y CROUAU, A BIANCO, Laure GANDOIS a Anne PROBST. Toxicity of Pb and of Pb/Cd combination on the springtail *Folsomia candida* in natural soils: Reproduction, growth and bioaccumulation as indicators: Reproduction, growth and bioaccumulation as indicators. *The Science of the total environment*. 2011, 414, 187-97. Dostupné z: [doi:10.1016/j.scitotenv.2011.10.029](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.10.029)

- [68] GARBUZ, Stanislav, *Alec MACKAY, Marta CAMPS-ARBESTAIN, Brian DEVANTIER* a Maria MINOR. Biochar amendment improves soil physico-chemical properties and alters root biomass *and the soil food web* in grazed pastures. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 2021, 319, 107517. ISSN 0167-8809. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107517>
- [69] BRIONES, M.J.I., P. PANZACCHI, C.A. DAVIES a P. INESON. Contrasting responses of macro- and meso-fauna to biochar *additions in a bioenergy* cropping system. *Soil Biology and Biochemistry*. 2020, 145, 107803. ISSN 0038-0717. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107803>
- [70] COLLARD, François-Xavier a *Joël BLIN*. A review on pyrolysis of biomass constituents: Mechanisms and composition of the products obtained from the conversion of cellulose, hemicelluloses and lignin: Mechanisms and composition of the products obtained from the conversion of cellulose, hemicelluloses and lignin. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2014, 38, 594-608. ISSN 1364-0321. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.06.013>
- [71] JIANG, Jun, *Ren-kou XU, Tian-yu JIANG* a Zhuo LI. Immobilization of Cu(II), Pb(II) and Cd(II) by the *addition of rice straw* derived biochar to a simulated polluted Ultisol. *Journal of Hazardous Materials*. 2012, 229-230, 145-150. ISSN 0304-3894. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.05.086>
- [72] BEESLEY, Luke a *Marta MARMIROLI*. The immobilisation and retention of soluble arsenic, cadmium and zinc by biochar. *Environmental Pollution*. 2011, 159(2), 474-480. ISSN 0269-7491. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.10.016>
- [73] ZHANG, Yaning, *Yunlei CUI, Shiyu LIU* et al. Fast microwave-assisted pyrolysis of wastes for biofuels production – A review. *Bioresource Technology*. 2020, 297, 122480. ISSN 0960-8524. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122480>
- [74] MOTASEMI, F. a *Muhammad AFZAL*. A review on the microwave-assisted pyrolysis technique. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2013, 28, 317-330. ISSN 1364-0321. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.08.008>
- [75] MAO, Jiefei, *Kun ZHANG* a *Baoliang CHEN*. Linking hydrophobicity of biochar to the water repellency and water holding capacity of biochar-amended soil. *Environmental Pollution*. 2019, 253, 779-789. ISSN 0269-7491. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.07.051>

7. ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK

AdMas	Advanced Materials, Structures and Technologies – výskumné centrum
ČOV	Čistiareň odpadových vôd
ČSN	České technické normy
DDT	Dichlordifenyiltrichlorethan
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
EC	Efektívna koncentrácia
EcoRa	Ecological Risk Assessment
ERA	Environmental Risk Assessment
ISO	International Organization of Standardization – Medzinárodná organizácia pre normalizáciu
LC	Letálna koncentrácia
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development – Organizácia pre hospodárskou spoluprácu a rozvoj
PAU	Polyaromatické cyklické uhľovodíky
POPs	Perzistentné organické polutanty
QBS	Biological Soil Quality – Biologický index kvality pôdy
WHC _{max}	Maximálna vodná kapacita pôdy