

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta chemická

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Brno, 2023

Bc. Natálie Vybíralová



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

DEGRADACE LIGNITU V PŮDNÍM PROSTŘEDÍ

LIGNITE DEGRADATION IN SOIL ENVIRONMENT

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Natálie Vybíralová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.

BRNO 2023

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1906/2022 Akademický rok: 2022/23
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Bc. Natálie Vybíralová**
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace
Studijní obor: Chemie bioaktivních látek
Vedoucí práce: **prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.**

Název diplomové práce:

Degradace lignitu v půdním prostředí

Zadání diplomové práce:

1. Rešerše na téma využití (jihomoravského) lignitu jako pomocné půdní látky a související téma půdní organické hmoty.
2. Navrhnout modelové laboratorní experimenty zkoumání degradace lignitu v půdním prostředí – mikroorganismy i chemickými modely.
3. Realizovat navržené experimenty.
4. Vyhodnotit výsledky experimentů, srovnat je s dosavadními zkušenostmi z polních aplikací lignitu, zhodnotit význam pro praxi péče o zdravou půdu.

Termín odevzdání diplomové práce: 8.5.2023:

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

Bc. Natálie Vybíralová
studentka

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2023

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

Abstrakt

Tato diplomová práce se zabývá tematikou uhlí a přesněji jihomoravského lignitu. Lignit byl degradován jak biologicky, tak i pomocí chemických metod, které zahrnovaly oxidaci lignitu peroxidem vodíku. Pozornost byla zvláště věnována degradaci lignitu v půdním prostředí, kde proběhla simulace přirozených polních podmínek po dobu 6 měsíců. Dále byla provedena simulace kořenových exudátů pomocí organických kyselin, které přirozeně probíhají v půdním prostředí a přímo ovlivňují život v půdě a kolem kořenů rostliny. Také byla provedena degradace lignitu pomocí nakultivované bakteriální zálivky a poté pomocí komerčně dostupných zahradnických přípravků, které mají zvyšovat aktivitu půdních mikroorganismů a podporovat růst.

Klíčová slova

Lignit, uhlí, degradace, biologická degradace, kořenové exudáty, půdní prostředí

Abstract

This Master's thesis deals with the topic of coal and, more precisely South Moravian lignite. Lignite was degraded by using biological and chemical methods, which included oxidation of lignite with hydrogen peroxide. Special attention was paid to the degradation of lignite in the soil environment, where the simulation of natural fields conditions took place for 6 months. Furthermore, a simulation of root exudates was carried out using organic acids, which occur naturally in the soil environment and directly affect life in the soil and around the roots of the plant. Lignite degradation was also performed using a cultured bacterial solution and then using a commercially available horticultural products to increase the activity of soil microorganisms and promote growth.

Keywords

Lignite, coal, degradation, biological degradation, root exudates, soil environment

Bibliografická citace

VYBÍRALOVÁ, Natálie. *Degradace lignitu v půdním prostředí*. Brno, 2023. Dostupné také z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/148817>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Miloslav Pekař. CSc.

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.

V Brně dne: 26. dubna 2023

podpis autora

Poděkování

Ráda bych poděkovala panu prof. Ing. Miloslavovi Pekařovi, CSc. za možnost pracovat na tomto tématu a hlavně za jeho podporu, vstřícnost, poskytnuté rady a neutuchající optimismus. Dále bych velmi ráda poděkovala paní laborantce Leoně Kubíkové, za praktické rady a pomoc při experimentální činnosti. Taktéž bych velmi ráda poděkovala paní Ireně Drobiličové ze Zahradnické fakulty univerzity Mendelovy v Lednici, za odborné rady a možnost vykonání experimentů v prostorách Zahradnické fakulty.

V Brně dne: 26. dubna 2023

podpis autora

Obsah

ÚVOD	9
1. TEORETICKÁ ČÁST	10
1.1 VZNIK UHLÍ	10
1.1.1 <i>Biochemická fáze</i>	10
1.1.2 <i>Geochemická fáze</i>	11
1.2 SLOŽENÍ UHLÍ	11
1.2.1 <i>Organické složení</i>	11
1.2.2 <i>Těkavé složky</i>	12
1.2.3 <i>Obsah a vlastnosti huminových látek</i>	12
1.2.4 <i>Minerální složky</i>	12
1.3 CHEMICKÁ STRUKTURA UHLÍ	13
1.3.1 <i>Klíčové funkční skupiny v chemické struktuře uhlí</i>	15
1.4 DEGRADACE UHLÍ	17
1.4.1 <i>Chemická degradace uhlí</i>	17
1.4.2 <i>Tepelná degradace uhlí</i>	18
1.5 BIOLOGICKÁ DEGRADACE UHLÍ	20
1.5.1 <i>Degradace pomocí plísní a hub, solubilizace lignitu, ligninu a huminových kyselin</i>	20
1.5.2 <i>Bakteriální degradace, solubilizace lignitu, ligninu a huminových kyselin</i>	21
1.5.3 <i>Kořenové exudáty rostlin a ligninolýza</i>	21
1.5.4 <i>Fytobiodegradace lignitu a odpadního uhlí</i>	22
1.6 NEENERGETICKÉ VYUŽITÍ UHLÍ	23
1.6.1 <i>Lignit jako sorbent</i>	23
1.6.2 <i>Pomocný půdní prostředek</i>	24
1.6.3 <i>Lignit jako součást polymerů</i>	25
1.6.4 <i>Uhlíkové materiály z uhlí</i>	26
1.7 METODY ANALÝZY UHLÍ	27
1.7.1 <i>Laserová difrakce částic</i>	27
1.7.2 <i>Infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací (FTIR)</i>	28
2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	30
2.1 POUŽITÝ MATERIÁL	30
2.2 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	30
2.3 PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ	30
2.4 DEGRADACE LIGNITU POMOCÍ KOMPOSTOVÝCH BAKTERIÍ	31
2.4.1 <i>Kultivace kompostových bakterií</i>	31
2.4.2 <i>Příprava médií a lignitu</i>	31
2.4.3 <i>Průběh experimentu</i>	32
2.5 SIMULACE KOŘENOVÝCH EXUDÁTŮ BEZ VÝMĚNY ČINIDEL	33
2.5.1 <i>Příprava loužících činidel</i>	33
2.5.2 <i>Příprava lignitu</i>	33
2.5.3 <i>Průběh experimentu</i>	33
2.6 SIMULACE KOŘENOVÝCH EXUDÁTŮ S VÝMĚNOU ČINIDEL	33
2.6.1 <i>Příprava loužících činidel</i>	33
2.6.2 <i>Příprava lignitu</i>	34
2.6.3 <i>Průběh experimentu</i>	34
2.7 DEGRADACE LIGNITU POMOCÍ KOMERČNĚ DOSTUPNÝCH ZAHRADNICKÝCH PŘÍPRAVKŮ	34
2.7.1 <i>Příprava roztoků komerčně dostupných zahradnických přípravků</i>	34
2.7.2 <i>Příprava lignitu</i>	34
2.7.3 <i>Průběh experimentu</i>	34
2.8 DEGRADACE LIGNITU V PŮDNÍM PROSTŘEDÍ	35
2.8.1 <i>Příprava lignitu</i>	35
2.8.2 <i>Kultivace kompostových bakterií</i>	35
2.8.3 <i>Průběh experimentu</i>	35

3. VÝSLEDKY A DISKUZE	37
3.1 DEGRADACE LIGNITU POMOCÍ KOMPOSTOVÝCH BAKTERIÍ	37
3.2 SIMULACE KOŘENOVÝCH EXUDÁTŮ BEZ VÝMĚNY ČINIDEL	39
3.3 SIMULACE KOŘENOVÝCH EXUDÁTŮ S VÝMĚNOU ČINIDEL	40
3.4 DEGRADACE LIGNITU POMOCÍ KOMERČNĚ DOSTUPNÝCH ZAHRADNICKÝCH PŘÍPRAVKŮ	41
3.5 DEGRADACE LIGNITU V PŮDNÍM PROSTŘEDÍ.....	42
3.6 LASEROVÁ DIFRAKCE ČÁSTIC	49
4. ZÁVĚR	52
LITERATURA	53
SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK	60

ÚVOD

Lignit je složitý makromolekulární systém, který od svého vzniku z původní rostlinné hmoty, byl několikrát transformován. Při těchto transformacích získal své specifické chemické složení, které předurčuje jeho povrchové vlastnosti, například členitost povrchu, na kterém jsou situovány defekty (kapiláry, mikrotrhliny, radikály).

Lignit představuje nejméně prouhelněné uhlí, které má nízkou výhřevnost, vysoký obsah vody a kyslíku, což z něj činí nevhodné uhlí pro spalování v elektrárnách. Tento neefektivní proces spalování lignitu je plýtvání surovinou, která by mohla najít efektivnější využití jinde, které by mohlo být i šetrnější pro životní prostředí.

Ačkoliv se vědci studiem uhlí zabývají více než sto let, tak úplné znalosti o složení uhlí, jeho struktuře a vzniku jsou stále poměrně omezené. Tyto znalosti by nás jistě posunuly a bylo by možné přesněji vysvětlit a pochopit mnohé fyzikálně-chemické děje, jako je oxidace, sorpce, extrakce, spalování a pyrolyzní zpracování uhlí.

Ke studiu lignitu jsme motivováni z důvodu jeho možného použití jako pomocného půdního prostředku, avšak v minulých pokusech vykazoval velmi pomalou degradaci. Z toho důvodu byl navrhnout model přímé degradace, kde dochází k působení modelových složek půdního roztoku a mikroorganismů. Tyto poznatky se snažíme aplikovat na jihomoravský lignit, který je už několik let předmětem studia a experimentů, jejichž cílem je najít nové a vylepšit stávající neenergetické využití lignitu.

Pro studium degradace lignitu byly zvoleny především biologické metody degradace lignitu, ale byla provedena i chemická degradace lignitu pomocí peroxidu vodíku. Pro biologickou degradaci lignitu bylo navrženo několik experimentů, které si kladly za úkol úspěšnou degradaci lignitu, která by se pohybovala v desítkách procent a stanovit základní postupy při bakteriální degradaci lignitu. Biologická degradace lignitu byla provedena pomocí komerčně dostupných zahradnických biostimulantů, nakultivovanou bakteriální zálivkou, simulací kořenových exudátů a především v půdním prostředí, kde experiment probíhal po dobu 6 měsíců.

1. TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Vznik uhlí

Uhlí vznikalo v oblasti mírného pásma především z rostlinných zbytků, které se nahromadily ve vodních tocích, jezerech, lagunách a mořských zálivech. Postupným hromaděním rostlinných zbytků docházelo k zaplňování a začaly vznikat bažiny, na kterých v dalších geologických obdobích rostla další vegetace [1].

V období sedimentace hornin bylo ideální podnebí, které umožňovalo vznik velkých ložisek uhlí. V období třetihor byly atmosférické a geologické podmínky nejpriznivější a proto došlo k nahromaděni a vytvoření značných zásob uhlí [1],[2].

Nejstarším uhlím je uhlí černé, které se z časového hlediska vyskytuje především v období karbonu až křídly, zatímco hnědé uhlí je ve velké většině z období třetihor. Fáze, ve kterých docházelo ke vzniku uhlí se nazývají biochemická a geochemická fáze [1].

1.1.1 Biochemická fáze

Při biochemické fázi dochází nejprve k hromaděni rostlinného materiálu a poté k jeho následnému rozkladu. Nahromaděním dostatečného množství rostlinného materiálu vznikají rašeliniště. Pokud rostlina odumře stává se součástí nekromasy a začínají rozkladné procesy. Rozkladné procesy se uskutečňují před překrytím nekromasy, za účasti mikroorganismů, jak aerobních tak anaerobních bakterií a hub. Další nedílnou součástí rozkladných procesů jsou larvy, červy a působení vody a plynů. Během rozkladných procesů vznikají plynné produkty a to především amoniak, methan, oxid uhličitý a sulfan. Dále se při rozkladných procesech tvoří i tekuté, nebo tuhé látky, které jsou bohaté na vodík. K rašelinění uhlí dochází zčásti a nebo úplně v prostředí, kde je částečný přístup vzduchu. Abychom rašeliněním skutečně dosáhli vzniku uhlí, musí dojít k ochraně nekromasy, před jejím úplným rozložením. Rozklad nekromasy probíhá pomocí biologických, chemických a geologických faktorů. V rámci biologické ochrany nekromasy je narušen a omezen život mikroorganismů pomocí látek, které jsou pro ně jedovaté. U chemické ochrany nekromasy probíhá ztráta vody a dehydratace koloidů, což způsobí smrt rozkladných mikroorganismů [1],[2].

U geologické ochrany se snažíme zabránit přístupu vzdušného kyslíku, např. přikrytím naneseným sedimentem nebo zalití vodou. V okamžiku, kdy přestanou existovat podmínky, které jsou vhodné pro život rozkladných organismů, dojde k ukončení rozkladných procesů a tím i biochemické fáze. Dochází k tomuto tehdy, když se rozložená a sedimenty překrytá hmota dostane hlouběji pod zemský povrch. Pod povrchem dochází k dlouhodobému působení tlaku a teploty, a především k dalším chemickým reakcím, kterými se organická hmota již dále nerozkládá, ale jen přeměňuje. V tomto kroku je rašelinění pozastaveno a začíná probíhat prouhelnění, čímž začíná geochemická fáze [1].

1.1.2 Geochemická fáze

Prouhelnění je složitý geochemický proces, nelze jednoduše definovat, je to proces, při kterém se z vrstev rašeliny a sapropelu vzniká černouhelná, hnědouhelná a nebo antracitová sloj. Hmota, u které došlo k největším a nejintenzivnějším změnám se mění na grafit. Mezi nejdůležitější prouhelňovací faktory patří teplota a tlak, v tomto případě je význam časového faktoru menší [1],[2].

Teplota a její změny, především její růst snadno mění chemickou a strukturní stavbu organické hmoty. Vliv tlaku je důležitý jako faktor, který výrazně ovlivňuje objem plynné fáze a tím i intenzitu probíhajících reakcí při prouhelňování [1],[2].

1.2 Složení uhlí

1.2.1 Organické složení

Uhlí je organická sedimentární hornina, která je primárně složena z uhlíku společně s vodíkem, kyslíkem, sírou, dusíkem a jsou v ní rozptýleny malé množství anorganických nečistot a stopových prvků. Celkovému složení uhlí však dominuje organický podíl, který dosahuje 85 až 95 %. Obsah fixovaného uhlíku je považován za primární faktor, který rozhoduje o kvalitě uhlí a na základě jeho složení je určen jeho konkrétní stupeň jakosti. Síra a dusík jsou přítomny ve velmi malém množství a změny s rostoucím prouhelněním jsou v procentuálních zastoupeních méně významné (obsah síry i dusíku pod 2 hm. %) [3].

V rašelině se obsah uhlíku pohybuje okolo 55 hm. % a obsah vodíku okolo 10 hm. %, s prouhelněním se však obsah uhlíku zvyšuje, zatímco obsah vodíku klesá. Kyslík je v rašelině obsažen okolo 35 hm. % [4]

V antracitu se vyskytuje nejvyšší pevné procento uhlíku a to nad 75 hm. % (může dosahovat i 90 hm. %). Obsah vodíku a kyslíku se v antracitu pohybuje pouze okolo 2 až 3 hm. %. Naopak v lignitu je obsaženo nejnižší procento pevného uhlíku a to kolem 25 až 30 hm. % [3].

Kyslík se v uhlí vyskytuje zejména ve funkčních skupinách karboxylových, karbonylových, hydroxylových (alkoholové a fenolové) a methoxylových, ovšem u různých typů uhlí se mění zastoupení těchto funkčních skupin [3],[4],[5]

Dusík se vyskytuje v uhlí většinou ve formě pyrrolu a pyridinu, kde množství pyrrolu většinou převažuje. Pyridinový dusík začíná převažovat až u antracitu, ale s dalším prouhelněním obsah jeho obsah klesá. Výskyt aminů v uhlí není jednoznačně vyřešen, ale byly pozorovány malé množství aromatických aminů. Nejčastěji se vyskytují aromatické primární aminy, ale jejich množství je velmi malé [6],[7].

Síra se v uhlí vyskytuje jak v anorganické, tak i organické formě. V anorganické formě se nejčastěji vyskytuje ve formě pyritu, ale mohou být přítomny i jiné sulfidy kovů nebo sírany (obsah síranů je velmi malý). Síra se v organické formě vyskytuje ve formě thiolů, sulfidů, disulfidů, thiofenů a benzothiofenů. Množství aromatické síry (thiofeny a diarylsulfidy) se zvyšuje s postupujícím prouhelněním [3],[4].

1.2.2 Těkavé složky

Další organické látky tvoří těkavou složku uhlí, která se od uhlí odděluje až při teplotě 950 °C (ztráta hmotnosti). Těkavé složky zahrnují alifatické uhlovodíky, aromatické uhlovodíky, dusíky, síru a kyslíky, které jsou obecně ve formě karboxylu, hydroxyly a nebo jako můstkové prvky mezi aromatickými jednotkami [3].

Těkavost uhlí však s jeho zralostí klesá, proto má antracit nejnižší podíl těkavé složky, a to méně než 10 %. Naopak nejvyšší podíl těkavých složek má hnědé uhlí a to více než 37 % [3].

1.2.3 Obsah a vlastnosti huminových látek

Huminové kyseliny se nacházejí v hnědých uhlí, rašelinách a v menší míře i v černém uhlí. U hnědých uhlí a rašelin tvoří významnou část celkového složení. Huminové kyseliny se mohou nacházet jak ve volné formě, tak i ve vázané, například na různé kovy (vápník, železo nebo hliník). Složení huminových látek zahrnuje širokou škálu organických sloučenin, které vznikají z rozkládajících se rostlinných zbytků a organismů, jak živočišného, tak i rostlinného původu. Kvůli celkové složitosti se dá jen velmi těžko definovat struktura [8],[9].

Obecně můžeme říci, že to jsou koloidní chemické látky, které vznikly kondenzací nebo polymerací jednodušších látek. Základními stavebními prvky jsou uhlík, vodík a kyslík a jejich množství klesá, na základě způsobu přípravy a původu huminových kyselin. Huminové látky se podle rozpustnosti dělí na huminy (nerozpustné v kyselých ani alkalických roztocích), huminové kyseliny (rozpustné v alkalických roztocích) a fulvinové kyseliny (rozpustné v alkalických i kyselých roztocích) [8],[9],[10].

Huminové kyseliny mají různý původ a mohou být charakterizovány jako kyselé aromatické polymery, obsahující karboxylové a fenolické hydroxylové skupiny ve své struktuře [8],[10].

1.2.3.1 Huminy

Vyznačují se černou barvou a nejvyšším stupněm polymerace, mají nejvyšší molekulární hmotnost. Huminy mají nejvyšší obsah uhlíku a nejmenší obsah kyslíku, dále jsou huminy nerozpustné ve vodě a to při jakémkoli pH [8],[10].

1.2.3.2 Huminové kyseliny

Typickou barvou pro huminové kyseliny je hnědá až hnědočerná. Huminové kyseliny jsou nerozpustné ve vodě při velmi nízkém pH, naopak při vyšších hodnotách pH jsou rozpustné [8],[10].

1.2.3.3 Fulvinové kyseliny

Fulvinové kyseliny jsou rozpustné ve vodě, jak v kyselých, tak i v alkalických roztocích. Fulvinové kyseliny mají nejsvětlejší barvu ze všech huminových látek, jejich barva je světle žlutá až žlutohnědá [8],[10].

1.2.4 Minerální složky

Uhlí se může skládat z různých druhů minerálních látek, jejichž druh a množství může ovlivňovat vlastnosti a využití uhlí. Ve většině uhelných slojích je možné najít minerály jako křemen, jílové minerály (kaolinit, illit), živce a uhličitany jako je kalcit a dolomit, nebo i sulfidy, jako je pyrit [3].

1.3 Chemická struktura uhlí

Zjišťování a objevování chemické struktury uhlí začalo v období, kdy věda v oblasti polymerů výrazně pokročila. Chemická struktura uhlí byla intenzivně zkoumána v 60. letech 20. století pomocí techniky bobtnání rozpouštědla a bylo zjištěno, že uhlí je zesíťovaná makromolekulární struktura skládající se z heterocyklických monomerů, která je držena pohromadě prostřednictvím kovalentních a nekovalentních vazeb [3],[11],[12].

Dříve byla struktura uhlí nejčastěji zjišťována pomocí výše zmíněné techniky a to pomocí bobtnání rozpouštědla. Tato metoda byla časem vzhledem k závislosti na několika faktorech zpochybněna, i když nastaly podmínky, kdy se sloučeniny uhlí úspěšně rozpustily. Tato technika neposkytovala kvantitativní analýzu dat o aromatických strukturách nebo o délce alifatických postranních řetězců. Nebylo tak možné získat komplexní porozumění o chemické struktuře uhlí, proto se v poslední době metoda extrakce rozpouštědlem využívá především na výrobu čistého uhlí [3],[11],[13].

Nyní se na hodnocení chemické struktury uhlí používají dokonalejší moderní techniky a to především nukleární magnetická rezonance (NMR), rentgenová difrakce (XRD), infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR) a nebo transmisní elektronová mikroskopie (TEM). Techniky NMR se běžně používají na charakterizaci uhlí a techniky jako je křížová polymerace H-C nebo magické úhlové zvláknování, kde dochází k tvorbě spekter s lepším rozlišením. FTIR je také jedna z velmi používaných metod charakterizace uhlí, protože dokáže klasifikovat chemické funkční skupiny v matici uhlí a metody prokládání křivek umožňují kvantifikovat typ vazeb existujících v chemické struktuře uhlí [3],[13],[14].

Primárním strukturním parametrem u uhlí je zjevná aromaticita (f_a), která je definovaná jako poměr atomů uhlíku přítomných v aromatickém kruhu k atomům uhlíku přítomných v postranních řetězcích a poskytuje rozumnou indikaci o zralosti uhlí. Strukturní parametr $(R/C)_u$ se využívá k vyjádření počtu kruhů aromatického uhlíku, protože uhlí je polymerní pevná látka obsahující monomer. Tento strukturní parametr nám poskytuje informace o stupni kondenzace aromatických kruhů. Dalším z důležitých strukturních parametrů je C_{al}/C , což je poměr mezi alifatickými uhlíkovými jednotkami k celkovému počtu atomů uhlíku, stejně tak funguje poměr mezi H_{al}/H [3],[15].

Se zvyšující se kvalitou uhlí směrem od lignitu k antracitu, bylo zjištěno pomocí technik NMR a FTIR, že zjevná aromaticita se lineárně zvyšuje, když se obsah uhlíku blíží 90 %. Při zvyšování aromatických uhlíkových jednotek se zvyšuje průměrná velikost aromatického klastru. Jak se aromatické jednotky zvětšují, tak se na sebe začnou hromadit vrstvy aromatických jednotek, které indukují aromatické kruhy [16].

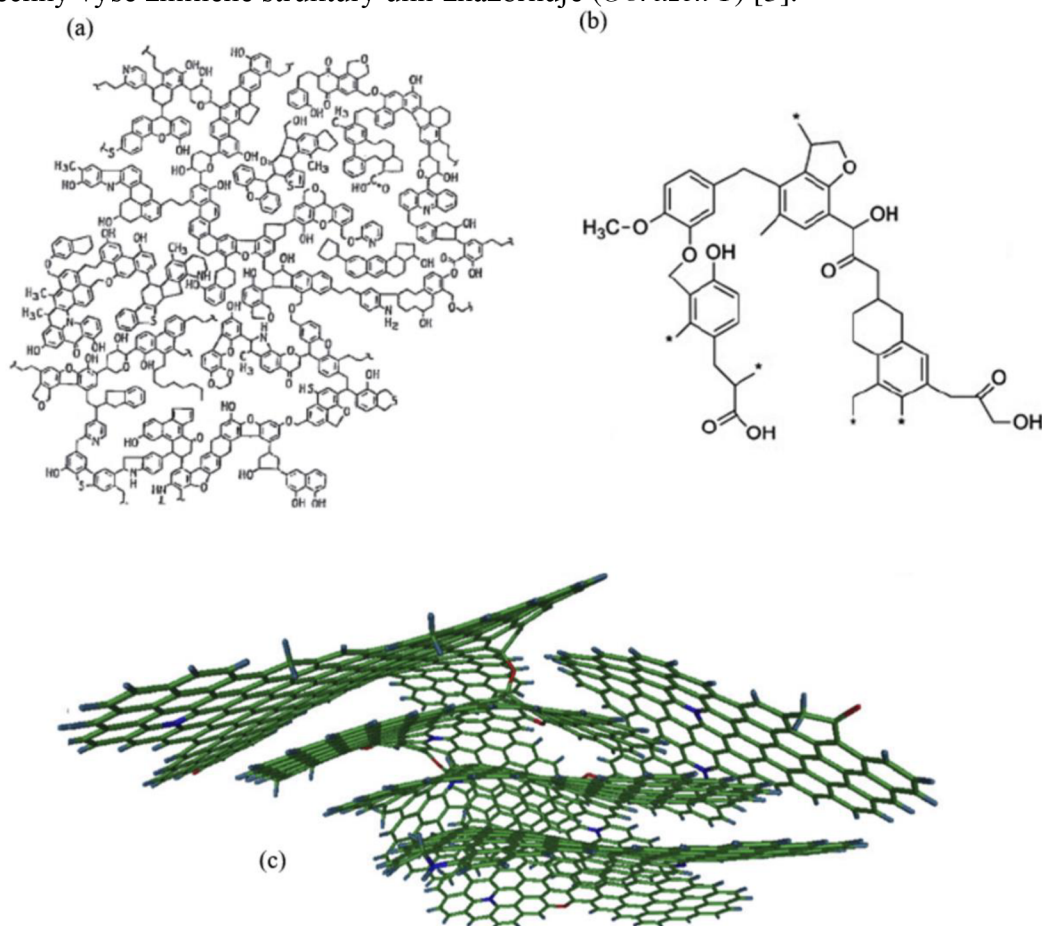
Bylo zjištěno, že pokud uhlí obsahuje méně než 87 % uhlíku, tak jsou aromatické klastry a aromatické kruhy uspořádány lineárním způsobem. Po překročení hranice 87 % uhlíku dochází ke změně uspořádání, aromatické klastry a kruhy jsou uspořádány kruhovým zřetěžením, což poskytlo vyšší průměrný počet atomů uhlíku na 32 ve srovnání s 18 dosaženými při lineárním zřetěžení. Na základě těchto výsledků a dalších studií se předpokládá, že počet atomů uhlíků se zvyšuje až do úrovně černého uhlí a rychle se zvyšuje, když se blíží antracitové fázi [3].

Na základě dalších studií bylo zjištěno, že lignit má nejmenší průměrnou velikost aromatických jednotek a to 9 atomů uhlíku v aromatickém kruhu, který je menší než naftalen (10 atomů uhlíku v kruhu), u černého uhlí je průměrná aromatická jednotka

složena z 15 až 18 atomů uhlíků na vrstvu, což odpovídá 3 až 5 kondenzovaným kruhům. V případě antracitu je počet atomů uhlíků obecně vyšší než 30, což odpovídá vyššímu počtu aromatických kruhů než u černého uhlí [3],[16].

Při další studii byly zavedeny další dva parametry, pomocí kterých se zkoumá vrstvená struktura uhlí. Prvním parametrem je mezivrstevná vzdálenost krystalické struktury a druhý velikost krystalů a jejich shluku, označována jako L_a a L_c . Při snížení vzdálenosti mezi vrstvami a těsnou blízkostí mezi aromatickými vrstvami a pokles alifatických postranních řetězců naznačují, že chemická struktura uhlí se postupně stává hustou a kompaktní podél lignit–antracitové řady. Tato studie byla nezávisle potvrzena dalšími analýzami, ze kterých vychází, že strukturální parametr $(R/C)_u$ se zvyšuje s pořadím, což ilustruje, že se zvýšil stupeň kondenzace [17].

Postupem času, jak se znalosti o chemické struktuře uhlí rozrůstaly, byly v posledních pěti až šesti desetiletích vyvíjeny modelové reprezentace uhlí. Za posledních 73 let bylo publikováno více než 133 modelů uhlí. Narážíme ale na problém, že může existovat model, který může reprezentovat jedno uhlí, ale nemusí reprezentovat jiné uhlí, i když je ze stejné kategorie. Nejčastěji z důvodu složitosti a různorodé struktury materiálu. Navzdory této problematice existují modely, které jsou široce akceptovány, a to model černého uhlí Shinn (bituminózní model Shinn, 1984), model lignitu Wender (Wender, 1976), který zachycuje všechny podstatné rysy hnědouhelné struktury a model antracitu Pappano (Pappano, 2000), který zachycuje stohování a velké aromatické listy. Všechny výše zmíněné struktury uhlí znázorňuje (Obrázek 1) [3].



Obrázek 1: Vybrané strukturální modely uhlí (a) Shinnův model bituminózního uhlí, (b) Wenderův model lignitu, (c) Pappanovo znázornění antracitu [3]

1.3.1 Klíčové funkční skupiny v chemické struktuře uhlí

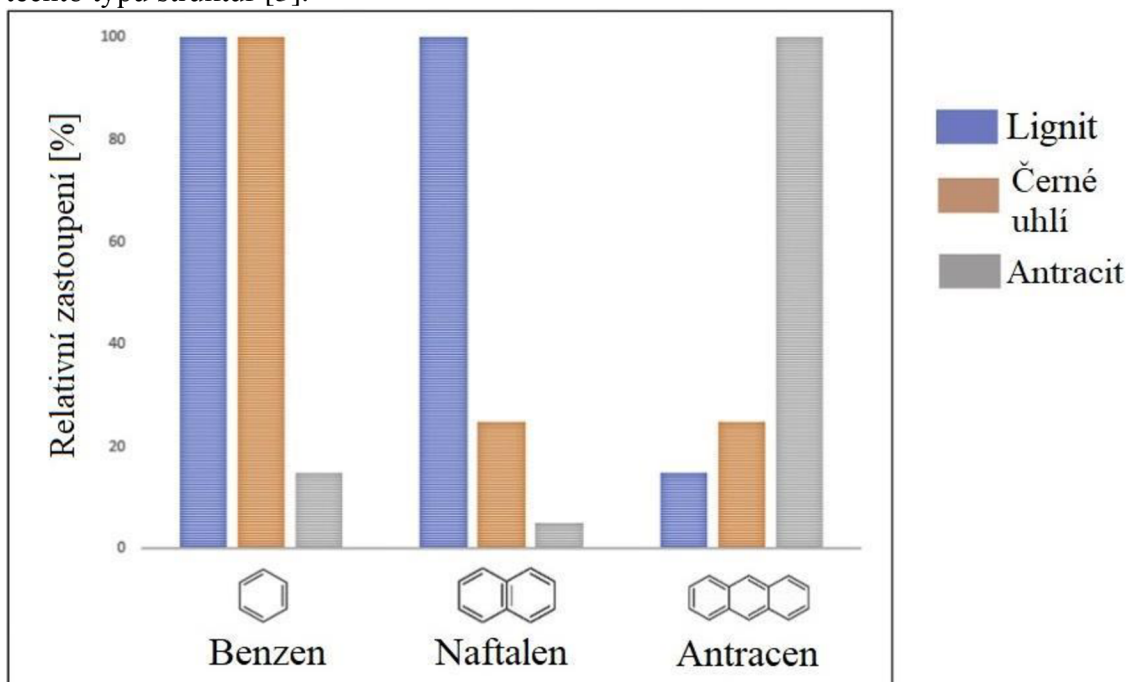
Pro snadnější pochopení lze chemickou strukturu uhlí považovat za kombinaci tří klíčových funkčních skupin. Jsou to aromatické struktury, různé typy můstků spojující aromatické struktury a kyslíkové funkční skupiny. Ačkoliv jsou tyto klíčové funkční skupiny přítomny ve všech typech uhlí, rozdíly mezi nimi se navzájem liší [3].

1.3.1.1 Aromatické struktury

Uhlí je přirozeně nestabilní sedimentární hornina, jejíž struktura se s narůstající zralostí postupně přeměňuje na aromatizovanou strukturu, která umožňuje, aby chemická struktura uhlí byla stabilnější a kompaktnější. Aromatické struktury můžeme rozdělit do tří typů. První typ aromatických uhlovodíků jsou polycyklické aromatické struktury, které mají připojeny dva nebo více aromatických kruhů. Příkladem této kategorie může být naftalen, antracen, pyren, fenantren a jejich deriváty. Druhý typ jsou heteroaromáty, které obsahují prvky jako kyslík, dusík a síra, které jsou připojené k aromatickému kruhu. Příkladem této kategorie může být benzofuran, fenol a anisol. Poslední, třetí kategorie jsou jednotlivé kondenzované aromatické kruhy, jako je benzen, fenol a toluen [3],[18].

Struktury typu jedna se obecně nacházejí v černých uhlích a jejich podíl se blíží antracitu. Tyto typy struktur mají větší velikost klastru a obsahují dva a více kondenzovaných kruhů, což do značné míry přispívá ke stabilitě chemické struktury. Při dalších výzkumech byly objeveny i další strukturní jednotky mimo naftalen a fenantren, například chrysen a perylen. Je poměrně těžké a vzácné najít tyto struktury u uhlí nízké kvality [3],[18].

(Obrázek 2) znázorňuje antracitové, lignitové a bituminózní (černé) uhlí. Z obrázku lze vyčíst, že antracitové uhlí má hlavní procento strukturních jednotek aromatického uhlí, které obsahují 3 nebo více kondenzovaných kruhů. Například antracénová aromatická struktura má relativní zastoupení 100 % pro antracitové uhlí, pro bituminózní uhlí je relativní zastoupení menší než 25 % a pro lignit vykazuje velmi malou přítomnost těchto typů struktur [3].



Obrázek 2: Relativní zastoupení aromatických struktur v různých typech uhlí [3]

Struktury typu dva se běžně nacházejí v černém uhlí a v menší míře i v uhlí nižší jakosti. Antracit může určité množství těchto struktur obsahovat, ale jejich množství se nakonec sníží, když se heteroatomy odpojí od aromatické jednotky na vyšších úrovních zralosti. Hlavní i strukturami typu jsou fenoly, anisol, benzofuran, idol a karbazol. V černém uhlí se mohou přímo nacházet sloučeniny druhého typu a to v podobě kyseliny ftalové, kyseliny tetralin-ftalové nebo bifenylyltetrakarboxylová kyselina [3],[19].

Struktury typu tři se obecně nacházejí u uhlí nízké jakosti, protože převládající aromatickou strukturou jsou benzenové jednotky. Jednou z nejběžnějších struktur třetího typu je benzen, jak je již znázorňuje (*Obrázek 2*). Uhlí nižší kvality si nárokuje vyšší procento benzenu, zatímco u antracitu je výrazně sníženo. To je způsobeno skutečností, že aromatické struktury s jedním kruhem se spojují s jinými aromatickými strukturálními jednotkami a přecházejí na polycyklické arény nebo heteroareny. Fenoly, alkylbenzeny, benzenkarboxylové kyseliny a jejich deriváty jsou běžné struktury typu tři nalézané v uhlí [3],[18],[19].

1.3.1.2 Meziklastrové můstky

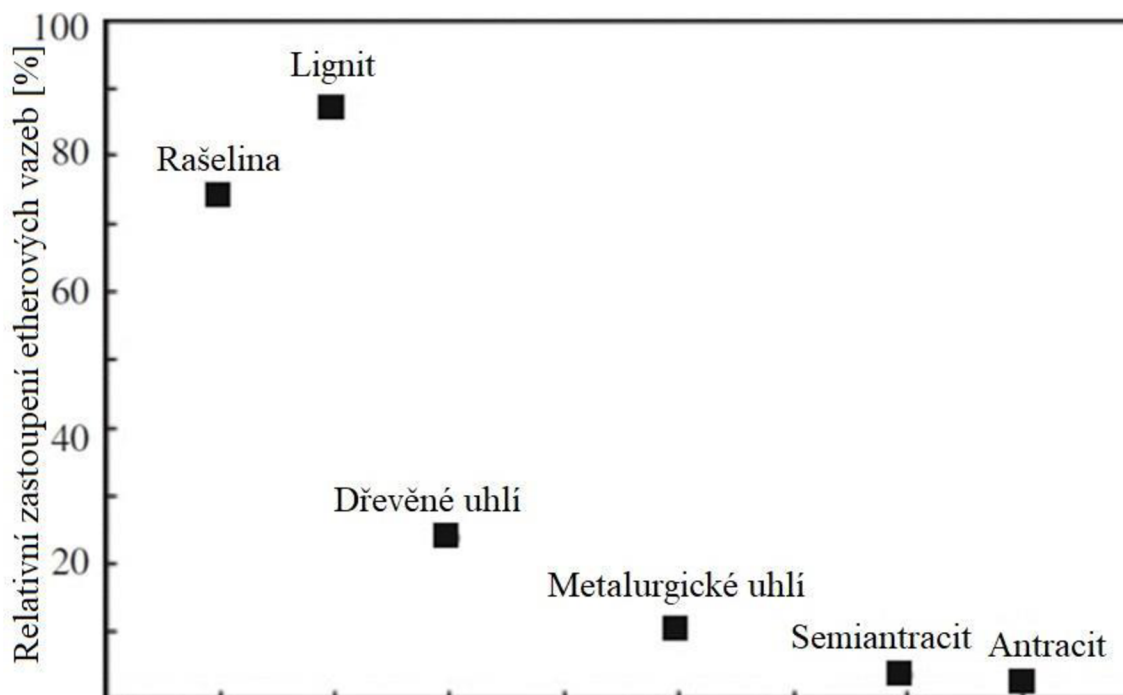
Aromatické klastry jsou propojeny dlouhými alifatickými postranními řetězci a etherovými nebo esterovými můstky. Etherové vazby mezi aromatickými klastry jsou běžnější ve srovnání s esterovými vazbami. Při prouhelnění však dochází ke štěpení etherových a esterových vazeb, což snižuje jejich počet [3].

1.3.1.3 Kyslíkové funkční skupiny

Funkční skupiny kyslíku v uhlí byly hodnoceny pomocí chemických činidel a analytických metod. V uhlí byly nalezeny hydroxylové skupiny (-OH), které převládaly u fenolických sloučenin a nacházely se ve velkém počtu v hnědém uhlí a lignitu. Dále byly nalezeny karboxylové skupiny (-COOH) a methoxy skupiny (-OCH₃), které jsou přítomny převážně v lignitu a hnědém uhlí. Karbonylové skupiny (-R₁R₂CO) se obecně vyskytují ve všech typech uhlí, ale jejich zvýšené množství bylo pozorováno v lignitu a hnědém uhlí [19].

Etherové skupiny byly později nalezeny ve značném množství ve všech uhlích, jak již znázorňuje (*Obrázek 3*). Při studii hnědého uhlí bylo ukázáno, že obsahuje etherové i karbonylové skupiny, které dosahovaly podíl 20 % každá, vztaheno na celkový kyslík v uhlí. Zbytek kyslíku je rozdělen mezi alkoholy, fenoly a karboxylové skupiny, což ukazuje, že etherové funkční skupiny jsou důležitou složkou v chemické struktuře uhlí. Ve velmi malých množstvích se v uhlí mohou vyskytovat i estery a anhydridy [3],[19].

Pokles kyslíkových funkčních skupin si můžeme vysvětlit odstraněním vody. Voda se pomalu odstraňuje prouhelněním a reaktivní funkční skupiny, jako jsou karboxylové skupiny, tak interagují a spojují organické struktury dohromady, což ničí funkční skupiny a v důsledku toho dochází ke ztrátě kyslíku. Z toho důvodu můžou mít funkční skupiny kyslíku a jejich interakce s vlhkostí zásadní vztah na strukturu a variace uhlí [3],[19].



Obrázek 3: Relativní zastoupení etherových vazeb u různých typů uhlí [3]

1.4 Degradace uhlí

Degradaci uhlí lze rozdělit na tepelnou, chemickou a biologickou. Obecně lze studium struktury uhlí rozdělit na dvě strategie, přičemž první se pokouší degradovat, nebo rozbít makromolekuly uhlí na fragmenty, ze kterých se dále odvozuje původní struktura uhlí. Druhá strategie nepoužívá destruktivní techniky, ale používá techniky, ke studiu uhlí v pevném stavu [20].

1.4.1 Chemická degradace uhlí

1.4.1.1 Oxidace pomocí H_2O_2

Tato metoda je vhodná ke studiu alifatických struktur uhlí, ale je důležité upozornit, že peroxid vodíku není příliš specifické oxidační činidlo. Oxidací lignitu, vzhledem k jeho struktuře, může být získáno mnoho zajímavých látek využitelných pro průmysl [21].

Lignit oxidovaný 30 % peroxidem vodíku po dobu 24 hodin, při teplotě 60 °C byla dosažena 40 % konverze uhlíku na malé molekuly jako je methanol, kyselina octová a mravenčí, glykolová a malonová kyselina. Při oxidaci hnědého uhlí dostaneme nejvíce kyseliny šťavelové, dále pak kyselinu mravenčí, jantarovou, octovou a malonovou. Při oxidaci hnědého uhlí byla detekována celá řada molekul obsahující heteroatomy jako je dusík, kyslík, síra a chlór [21],[22].

Malé molekuly vznikají pravděpodobně oxidací aromatických jader. Toluén a propylbenzen byly vybrány jako modelové molekuly, které byly oxidovány 30 % roztokem peroxidu vodíku. V případě toluenu byl jediným produktem kyselina octová, zatímco v případě propylbenzenu vznikala nejvíce kyselina butanová. Dále vznikaly i další kyseliny, jako kyselina propanová a octová, ale v mnohem menší míře, přičemž

nedocházelo ke vzniku kyseliny propanové a octové z butanové kyseliny. Došlo i ke vzniku malých blíž nespecifikovatelných molekul [22].

Častěji, než na uhlí je oxidace peroxidem vodíku aplikována na lignin, ale také na huminové kyseliny. Po oxidaci lignitických huminových kyselin lipofilní frakce se skládala především vysokomolekulárních sloučenin a hydrofilní frakce obsahovala kyselinu jantarovou, malonovou, jablečnou a vinnou [21],[23].

Při oxidaci peroxidem vodíku dochází ke štěpení slabých vazeb mezi kyslíkem a uhlíkem za vzniku oxidu uhličitého a menšího množství organických kyselin, které jsou rozpustné ve vodě. Zároveň dochází ke vzniku velkého množství karboxylových skupin na aromatických sloučeninách, takto vzniklé aromatické sloučeniny se pomalu začínají rozkládat, za vzniku organických kyselin. S postupnou oxidací se oxidované uhlí stává bohaté na alifatické sloučeniny a karboxylové skupiny. Při oxidaci dochází i porušení aromatického jádra, díky katalytickému účinku železa, které se běžně v uhlí vyskytuje [21],[22],[23].

1.4.1.2 Oxidace pomocí CuO

Oxidace pomocí oxidu měďnatého je narušena od oxidace peroxidem vodíkem vhodnější díky svému mírnějšímu průběhu. Oxid měďnatý, ale i další alkalické roztoky oxidů kovů, jako je Ag_2O a HgO mají schopnost velmi selektivně oxidovat uhlí, huminové kyseliny a lignin. Při oxidaci oxidem měďnatým, či jinými roztoky kovů nedochází k degradaci aromatických jader, jak je tomu v případě peroxidu vodíku [21],[24].

V průběhu této oxidace nedochází ke kompletní depolymerizaci ligninu, ale dochází ke štěpení aryletherů ze svrchních částí makromolekuly, které odhadují obsah a složení ligninu. Výsledky z oxidace mohou být použity na výpočet parametrů, které ukazují původ ligninu a míru jeho degradace. Poměr mezi kyselinami a aldehydy monomeru ligninu jsou považovány za indikátor míry degradace [24].

Oxidace pomocí oxidu měďnatého je aplikována na půdy, kde probíhá oxidace ligninu a taninu, dále na dřevěné uhlí, rostliny, huminové kyseliny a mořské sedimenty [25],[26].

1.4.2 Tepelná degradace uhlí

1.4.2.1 Pyrolýza

Pyrolýza je způsob získávání kapaliny z uhlí vyloučením uhlíku a tím zvýšením poměru vodíku k uhlíku v surovém uhlí. Pyrolýza probíhá tak, že se uhlí zpracovává při zvýšených teplotách v nepřítomnosti kyslíku a během této pyrolýzy dochází k řadě reakcí. Díky nepřítomnosti kyslíku nemůže docházet k nežádoucím spalovacím reakcím. Hlavními produkty pyrolýzy jsou tedy plyn, dehet a uhlí. Množství a složení jednotlivých produktů závisí na typu uhlí, reakční teplotě, tlaku, rychlosti ohřevu a velikosti částic [27].

Kinetika pyrolýzy uhlí je důležitá, protože je počátečním krokem hlavních procesů přeměny uhlí, jako je zkapalňování, zplyňování a spalování, ve kterých částice uhlí procházejí velkými fyzikálními a chemickými změnami. Pro lepší pochopení pyrolýzy se provádí i tepelný rozklad uhlí termogravimetrickou analýzou (TGA) [27].

V současné době je pyrolýza spojená s plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií (pyr–GC–MS), což nám umožňuje lepší pozorování struktury makromolekul. Nevýhodou této metody jsou polární pyrolýzní produkty, které jsou špatně měřitelné plynovou chromatografií a může docházet k jejich dekarboxylaci nebo dehydrataci. Přítomnost těchto reakcí způsobuje částečnou ztrátu strukturních informací, což může vést k nesprávným výsledkům [27],[28].

1.4.2.2 Termogravimetrie

Termogravimetrie je metoda, která se běžně využívá k charakterizaci uhlí. Vzhledem k tomu, že uhlí bylo používáno jako palivo od počátku průmyslového rozvoje, patřilo mezi první materiály, které byly podrobeny termické analýze. Ke zkoumání kinetiky procesu rozkladu se často používá TGA. V termogravimetrii je pozorována změna hmotnosti vzorku při jeho zahřívání pod řízenou atmosférou jako je dusík, vzduch a nebo jiné plyny. Záznam úbytku hmotnosti s ohledem na čas se nazývá termogravimetrický termogram. Když je rychlost úbytku hmotnosti (první derivace s ohledem na čas) zaznamenávána jako funkce času nebo teploty, nazývá se to diferenciální termogravimetrický termogram (DTG). DTG se používá ke studiu kinetiky reakcí tepelného rozkladu různých pevných látek, včetně uhlí. Kinetiku tepelného chování materiálu lze určit aplikací kinetického modelu na rychlosti degradace hmoty. Hlavními výhodami TGA pro studium pyrolýzy uhlí je jednoduchost implementace, použití a snadná opakovatelnost [27].

V současné době se termogravimetrie spojuje s infračervenou spektrometrií s Fourierovou transformací (TGA–FTIR), která umožňuje analýzu uvolněných plynů během pyrolýzy. Tohle spojení je výhodnější ve srovnání s hmotnostní spektrometrií, protože nám umožňuje analyzovat i velmi těžké produkty a oproti plynové chromatografií je analýza pomocí FTIR mnohem rychlejší [27],[29].

Pomocí TGA–FTIR jsou během pyrolýzy nejčastěji detekovány plyny jako CO₂, CO, H₂O, CH₄, C₂H₄, NH₃, COS a SO₂. V některých případech může docházet i ke vzniku dusíku N₂ [27],[30],[31],[32].

Oxid uhličitý vzniká s největší pravděpodobností z karboxylových skupin a karboxylátů, které jsou rozkládány při vysoké teplotě. Dalšími zdroji CO₂ by mohly být anhydridy a estery, jejichž výskyt byl pozorován na základě měření FTIR spekter. Voda pravděpodobně vzniká během pyrolýzy kondenzací fenolů. Při teplotách nižších než 200 °C se objevuje voda, která byla zadržována v pórech a souvisí tak s vlhkostí uhlí. CH₄ pravděpodobně vzniká z hydroaromatických sloučenin, které se rozkládají při nižší teplotě a z arylmethylů, které vznikají při vyšší teplotě. Dalším možným prekurzorem pro vznik CH₄ je rozklad ligninu [30],[31].

TGA–FTIR může být aplikováno i na celulózu, hemicelulózu, lignin a biomasu [32],[33].

1.5 Biologická degradace uhlí

Uhlí je v dnešní době stále představuje značnou část celkových zásob fosilních paliv a poptávky po tomto zdroji a zásobováním tímto zdrojem vytváří obrovské množství hlušiny a nízkokvalitního odpadu. Rozsáhlé bioremediační technologie pro zhodnocování odpadního uhlí bohužel dosud nebyly realizovány, navzdory mnoha objevům, že jsou mikroorganismy schopny rozkladu lignitu, ligninu a huminových kyselin [34].

Biologická degradace uhlí je složitý proces, kterého se účastní půdní bakterie, ligninolytické houby, rostliny a kořenové exudáty. Přesný model degradace zatím není znám, ale degradační model naznačuje, že degradace a solubilizace lignitu začíná interakcí exudátů z rostlinných kořenů a ligninolytických mikroorganismů, která je vzájemná a zahrnuje půdní bakterie a mykorrhizní i nemykorrhizní houby [34],[35].

Po dalším a důkladnějším rozpracování modelu biodegradace, se předpokládá, že napomůže rozvoji funkčních technologií pro bioremediaci hlušiny uhelných dolů, přispěje k tvorbě a zlepšení kvality půdy a celkové biogeochemii [34],[36].

Je důležité zpočátku přiznat, že studium biodegradace je podloženo a opírá se o pozorování z tepelné a chemické degradace uhlí. Produkty, které byly analyzovány z těchto dvou typů degradací uhlí, nám poskytly pohled na sílu chemických vazeb v uhlí a na to, zda jsou či nejsou přístupné mikrobiálnímu napadení [35].

Ligninolytické houby jsou dobrým biodegradátorem polyaromatických uhlovodíků, které degradují prostřednictvím produkce a sekrece jednoho, nebo více ze tří hlavních ligninolytických enzymů (ligninperoxidáza, Mn–dependentní peroxidáza a fenoloxidáza). Od prvního prokázání mikrobiální degradace uhlí bylo identifikováno velké množství bakterií, které jsou schopny degradovat uhlí, například *Ascomycota* a *Basidiomycota*. Kromě bakterií bylo identifikováno několik mikrořas schopných využívat aromatické uhlovodíky jako zdroje uhlíku, s čímž souvisí jejich přímý rozklad [34],[36],[37].

1.5.1 Degradace pomocí plísní a hub, solubilizace lignitu, ligninu a huminových kyselin

Biosolubilizaci uhlí můžeme rozdělit na tři obecné procesy: alkalické chemikálie, enzymatický proces a povrchově aktivní látky. Jelikož uhlí nízké kvality je strukturálně podobné ligninu, lze očekávat, že enzymy degradující lignin, budou solubilizovat a degradovat uhlí. Alkalické chemikálie také způsobují solubilizaci uhlí, protože huminové složky jsou snadno rozpustné v alkáliích. Povrchově aktivní látky působí tak, že snižují povrchové napětí, které má tendenci zvyšovat rozpustnost uhelných částic. Nedávno bylo zjištěno, že biosolubilizace uhlí povrchově aktivními látkami vzniká spíše v důsledku interakce mezi uhlím, povrchově aktivní látkou a mikroorganismy nebo enzymy, než mezi samotným uhlím a povrchově aktivní látkou [34],[38].

Dále bylo prokázáno, že *Hypocrea lixii*, *Ascomyceta*, *Basidiomycota* solubilizují oxidovaný lignit degradací karboxylových a hydroxylových skupin. Podle dalších výzkumů existují zprávy, že i druhy *Deuteromycota* (fungi imperfecti), jako je *Penicillium sp.* a *Neosartorya fischeri* také degradují lignit [34],[38].

Huminové kyseliny byly předmětem zkoumání mikrobiální degradace a výsledky ukazují, že navzdory své složité struktuře mohou podporovat mikrobiální růst. Bylo prokázáno, že zvětralou huminovou kyselinu pocházející z uhlí lze použít jako jediný zdroj uhlíku pro podporu růstu hub na bazálním médiu. Huminová kyselina je tedy biologicky odbouratelná a slouží jako zdroj uhlíku pro mikrobiální proliferaci a aktivitu.

Dále bylo prokázáno, že houby *Ascomycota* a *Basidiomycota* aktivně rozkládají huminové látky pomocí nespecifického ligninolytického enzymového systému obsahující peroxidázy, fenoloxidázy, podpůrné enzymy (např. oxidázy generující peroxid vodíku) a nízkooorganické kyseliny s molekulovou hmotností jako je oxalát, malát a malonát [34].

Mikroorganismy, které degradují huminové kyseliny uvolňují chelátory, které oddělují anorganické kationty a alkalické látky i ionizaci kyselých funkčních skupin, které společně destabilizují strukturu huminových kyselin. Výsledná nestabilní struktura je dále solubilizována na aromatické molekuly s vysokou molekulovou hmotností [34],[39].

1.5.2 Bakteriální degradace, solubilizace lignitu, ligninu a huminových kyselin

Půdní bakterie hrají při biodegradaci nebo solubilizaci zásadní roli, protože se podílejí na metabolismu ligninu. Bylo zjištěno, že bakterie *Streptomyces viridosporus* T7A a *Streptomyces setonii* rozpustily lignit i subbituminózní uhlí, když byly přidány na pevné médium nebo do ponořených kultur. U submerzních kultur tyto bakterie uvolňovaly uhelná solubilizační činidla, o kterých se předpokládá, že jsou bazickými polypeptidy nebo polyaminy. V jiných studiích bylo popsáno zkapalnění lignitu, když došlo k jeho přidání do smíšených bakteriálních kultur trávníků rostoucích na pevném médiu. U smíšených kultur složených z *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus* a *Bacillus subtilis* bylo pozorováno, že rozpouštějí oxidovaný lignit srovnatelně se solubilizací uhelné houby *Cunninghamella* [34],[40],[41].

Několik výzkumů uvádí, že půdní bakterie jsou schopné metabolizovat lignin. Uvádí se, že *Streptomyces viridosporus* produkuje extracelulární peroxidázy a metabolizuje modelové sloučeniny ligninu. Pomocí radiochemického testu byla aktivita degradace hlášena u kmenů *Nocardia autotrophica* a *Rhodococcus spelaei* [41].

1.5.3 Kořenové exudáty rostlin a ligninolýza

Kořenové exudáty hrají primární roli při minerální výživě rostlin a obsahují molekulární signály, které regulují mikrobiální růst a vývoj. Chemické sloučeniny, které zprostředkovávají procesy rhizosféry za účelem zvýšení příjmu a asimilace živin. Kořenové exudáty jsou obvykle exkrece, která zahrnuje uvolňování opadu závislého na gradientu, nebo sekrece, zahrnující exudaci sloučenin se známými funkcemi. Výsledkem je, že kořenové exudáty jsou složité a mohou obsahovat sliz, buňky, extracelulární enzymy, povrchově aktivní látky, jednoduché a komplexní cukry, fenoly, aminokyseliny, vitamíny, organické kyseliny, dusíkaté puriny, nukleosidy a anorganické nebo plynné molekuly, jako je HCO_3^- , OH^- , H^+ , CO_2 a H_2 [34],[42].

Rhizosféru můžeme rozdělit na aktivní a dynamickou, přičemž nově generovaný uhlík, který pochází z kořenových exudátů a starý uhlík v organické hmotě je využíván půdními mikroby k výrobě energie a biomasy [43].

DNA extrahována z rhizosférické půdy, byla použita ke studiu vlivu rostlinných druhů produkujících různé živiny a signální molekuly na mikrobiální populace asimilující kořenové exudáty a na to, jak různé druhy rostlin přispívají k využívání uhlíku z organické hmoty. Z extrahované DNA bylo zjištěno, že někteří zástupci čeledi *Sphingomonadaceae* využívají širokou škálu zdrojů uhlíků a mnozí z nich jsou obstojnými degradátory xenobiotických molekul. Dále bylo zjištěno, že *Sphingomonas sp.* se podílí na degradaci

lignitu a aktivně metabolizuje bifenylové struktury v ligninu. U třídy *Alphaproteobacteria* byly zjištěny katalytické i oxidativní vlastnosti a schopnost degradovat fenantren, naftalen, fluoren, bifenyl a dibenzothiofen [43].

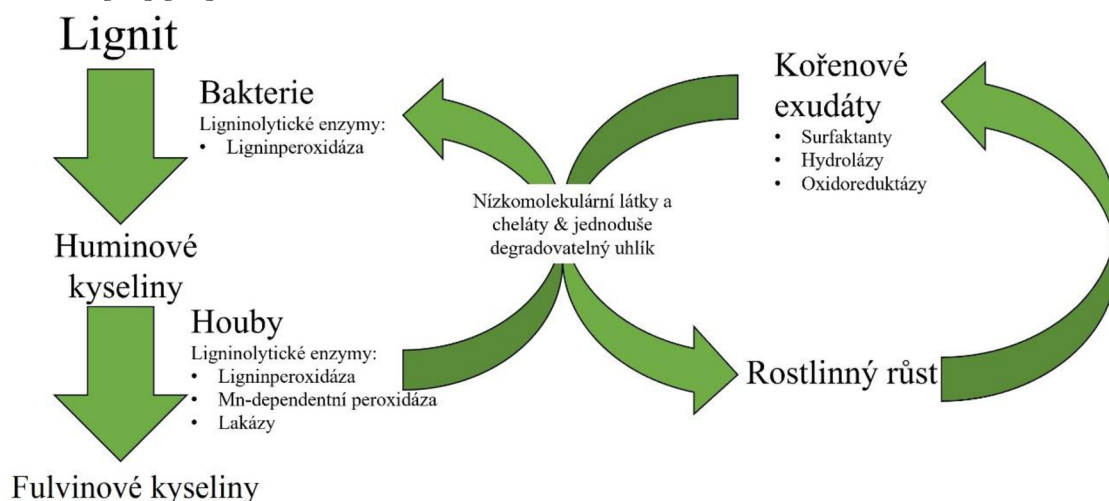
Tvrdilo se, že čím větší je mikrobiální aktivita kolem kořenů rostlin ve srovnání s objemnou půdou, tím rychlejší je obrat organického materiálu a mineralizace dusíku. Kořenoví symbionti využívají jednoduchý organický uhlík v kořenových exudátech, zatímco volně žijící bakteriální a houboví rozkladači používají převážně komplexní uhlík, ale i přesto jsou ovlivněni kořenovými exudáty, odpadními látkami a vstupem uhlíku od symbiontů. Rozkladače ovlivňuje kvalita půdního organického materiálu. Půdní organická hmota je důležitým zdrojem uhlíku pro půdní mikrobiální komunitu a to i v přítomnosti snadněji dostupného uhlíku rostlinného původu [34],[44].

1.5.4 Fytobiodegradace lignitu a odpadního uhlí

Výzkum biokonverze uhlí rychle postupuje z laboratorního měřítka do průmyslového využití a to z důvodu zvyšujícím se oceněním úlohy mikrobiální aktivity a příspěvku souvisejících s vyššími rostlinami [34],[45].

Na základě nashromážděných dat z rozsáhlých studií o různých způsobech degradace a přeměny uhlí mikroorganismy, byl vytvořen model fytobiodegradace uhlí nízké kvality s vzájemnou interakcí mezi ligninolytickými mikroorganismy a vyššími rostlinami (Obrázek 4). Tento model naznačuje, že solubilizace a degradace lignitu a odpadního uhlí začíná interakcí exudátů rostlinných kořenů a ligninolytických mikroorganismů, která je vzájemná a zahrnuje půdní bakterie a mykorhizní i nemykorhizní houby. Rozpouštění lignitu na huminové kyseliny je také prováděno houbami při okolní teplotě a tlaku [34].

Příkladem takových hub může být *Penicillium simplicissimum*, *Hypocrea lixii* a nebo *Neosartorya fischeri*, všechny degradují a solubilizují lignit. Solubilizaci lignitu ovlivňují povrchově aktivní látky, které usnadňují adsorpci ligninolytických enzymů na povrch uhlí. Kromě vlastností podobných povrchově aktivním látkám obsahují kořenové exudáty také malé bioaktivní molekuly zapojené do chemotaxe, které mohou působit tak, že podporují intermolekulární vazbu, například při rozpoznávání hostitele a mikrobu [34],[45].



Obrázek 4: Model popisující fytobiokonverzi lignitu na huminové kyseliny a fulvinové kyseliny ilustrující hlavní interaktivní cesty mezi ligninolytickými mikroorganismy a kořenovými exudáty pro usnadnění růstu rostlin [34]

1.6 Neenergetické využití uhlí

Lignit z jihomoravského revíru představuje podle mezinárodní ECE–UN ortho-lignit, který je podle této klasifikace označován jako měkké hnědé uhlí. Lignit se stále využívá jako palivo, i zde na jižní Moravě, i přestože je jeho výhřevnost velmi nízká a obsahuje značné množství vody. Tento způsob využití lignitu můžeme nazývat jako velice neefektivní a můžeme jej vnímat jako plýtvání cennou surovinou. Lignit může být díky svým specifickým vlastnostem a složení použit jako všestranná a zajímavá látka v několika oblastech [46].

1.6.1 Lignit jako sorbent

V posledních letech se rozšiřuje výroba uhelných sorbentů. Na měrném povrchu se podílejí převážně mikropóry. Jeden z důvodů, proč je upřednostňováno hnědé uhlí (včetně lignitu) pro výrobu uhelných sorbentů, je na základě některých studií, které označují hnědé uhlí za vhodnější prekurzory pro přípravu sorbentů [1],[46].

Lignit jako sorbent se využívá v upravené formě a to jako tzv. aktivní uhlí, které bylo připraveno karbonizací (tepelná aktivace). Karbonizace slouží k zvýšení obsahu uhlíku a ke snížení obsahu heteroatomů (dusík, vodík, kyslík a síra) v meziprojektu, který se nazývá karbonizát. Jako další krok je obvykle fyzikální aktivace karbonizátu, která je prováděna parciálním zplyněním vodní parou, oxidem uhličitým nebo kyslíkem. Při fyzikální aktivaci karbonizátu je neúčinnější zplynění vodní parou a to z důvodu, že dochází k největšímu rozvoji povrchu (mikroporezita). Zlepšení jeho sorpčních vlastností můžeme docílit pomocí demineralizace uhlí kyselinami (chlorovodíková, fluorovodíková, nebo kyselina dusičná) [1].

Byly publikovány práce, které uvádějí využití lignitu v jeho surovém stavu nebo pouze minimálně upravený. Z oblasti minimální úpravy lignitu můžeme nalézt postup biologické aktivace uhlí. Surový lignit vykazuje dobré sorpční schopnosti, které by mohly být využity bez dalšího chemického zpracování. Sorpční kapacita lignitu zejména pro toxické kovy (olovo a kadmium), by byla vhodná pro odstraňování těžkých kovů z odpadních vod. Vysoce vhodný by byl jihomoravský lignit, jako levný, účinný a lehké dostupný materiál [46].

1.6.1.1 Sorpce těžkých kovů na lignit

Přítomnost těžkých kovů jako je olovo, kadmium a měď v životním prostředí je znepokojivá kvůli jejich vysoké toxicitě a nebiologické degradaci. Při čištění životního prostředí je prioritou odstraňování těžkých kovů. Hnědé uhlí obsahuje velké množství huminových kyselin, které obsahují četné funkční skupiny obsahující kyslík a vykazují silnou komplexační schopnost pro kovové ionty. Huminové kyseliny vykazují značný potenciál pro použití při adsorpci iontů těžkých kovů při čištění odpadních vod k dosažení čistého využití hnědé uhlí a odstranění těžkých kovů [47].

Sorpce závisí na mnoha faktorech jako je iontová síla, pH, teplota, velikost částic lignitu, poměr lignitu k roztoku apod. Je důležité brát v potaz i vlastnosti samotného lignitu, protože sorpční vlastnosti lignitu se mohou výrazně lišit v závislosti na lokalitě, kde byl vytěžen. Struktura pórů a komplexační místa jsou dva velmi důležité faktory, které ovlivňují adsorpční schopnost adsorbentů pro těžké kovy. Bohaté struktury pórů mohou zvýšit adsorpční povrch a poskytnout četné kanály pro přenos hmoty. Komplexační místa těžkých kovů se typicky týkají funkčních skupin obsahujících kyslík, síru nebo dusík, které mohou poskytnout elektrony s osamoceným párem k vytvoření

koordinační vazby. Komplexační místa s vysokou hustotou prospívají k tvorbě multidentátních ligandů, které mohou stabilně zachycovat těžké kovy ve vodě [1],[47].

Ke zlepšení účinnosti adsorpce by měly připravené adsorbenty vykazovat určitou selektivitu k cílovým iontům kovů. Na základě Lewisovy teorie kyselin a zásad by se tyto vlastnosti a poznatky daly využít k návrhu účinného adsorbentu těžkých kovů s vysokou selektivitou [1],[47].

1.6.2 Pomocný půdní prostředek

Pomocné půdní prostředky jako je například lignit a hydroabsorbenty mohou zlepšovat zadržování vody, ale i pozitivně ovlivnit půdní prostředí. Lignit je tak díky svým sorpčním schopnostem, interakcí s vodou a vysokému obsahu huminových látek vhodným materiálem pro zlepšení půdních vlastností [46].

Lignit může sloužit jako půdní kondicionér a podpora výživy rostlin především pro jeho vysoký obsah huminových látek a to zejména huminových kyselin. Bylo prokázáno, že huminové kyseliny obsažené v lignitu jsou srovnatelné s huminovými kyselinami, které byly izolovány z různých typů půd. Lignit nemůžeme považovat za skutečné hnojivo, ale může sloužit jako dobrý zdroj organického uhlíku a pozitivně ovlivňovat nejen transport rostlinných živin, ale i transport rizikových prvků jejich imobilizací v huminových (nebo organických) komplexech [46].

Výsledky ze studií potvrzují, že hnědé uhlí skutečně přispívá k řízenému transportu rostlinných živin pravděpodobně tím, že dochází ke vzniku organo-minerálních komplexů, které pomalu uvolňují živiny v reakci na jejich vyčerpání z půdního roztoku. Ve velké většině případů hnědé uhlí také bránilo pronikání těžkých kovů do rostlin. Kovy byly imobilizovány těsnou vazbou na organickou hmotu hnědé uhlí. Pozitivní vliv hnědé uhlí na produkci zemědělských plodin je evidentní a je tedy možné část hnojiv nahradit za levnější lignit. Lignit není potřeba dále chemicky upravovat, jediná nutná úprava je jeho pomletí (drcení) [46].

1.6.2.1 Stimulační účinek organické hmoty na asimilaci živin rostlinou

Jak již bylo zmíněno výše, organické látky a huminové kyseliny mají pozitivní vliv na růst rostlin. V jejich přítomnosti je dýchání intenzivnější, produkce hormonů vyšší a kořenový systém je lépe vyvinutý. Pozitivní vliv huminových látek na příjem živin rostlinami je důsledkem tvorby komplexů s kovy, které nejsou pro rostliny při běžných podmínkách dostupné [48].

Existuje mnoho výzkumů, které prokázaly, že lignit přidaný do půdy je schopen akumulovat železo a učinit ho dostupnějším pro rostliny. Je to komplikovaný proces, který závisí na mnoha faktorech, jako je obsah fosforu a vápníku, pH, vlastnosti půdy a hlavně druhy rostlin. Regulace tohoto mechanismu úzce souvisí s množstvím HCO_3^- , který je produkován kořeny a slouží ke snížení hromadění železa. Přidaná organická hmota obrací celý proces, protože dochází k vazbě železa na organické komplexy, které jsou pro rostliny dostupnější než vázané na minerální hmotu [49].

Po přidání hnědé uhlí do půdy bylo pozorováno více pozitivních vlivů, další z nich byl pozorován u příjmu fosforu rostlinou, což je obecně velkým problémem při výživě rostlin. Tento problém je u fosforu závažnější než u jiných prvků. Pokud je půda příliš alkalická, což může být způsobeno přidáním velkého množství vápníku, nebo naopak příliš kyselá, tak se fosfáty stávají nerozpustnými, i když byly do půdy přidány ve formě dostupné pro rostliny. Fosfor je pro rostliny nedostupnější při hodnotě pH 6,5 až 7,0. Vysoký obsah organické hmoty v půdě umožňuje lepší akumulaci fosforu rostlinou [49].

Hořčík je další z velmi důležitých prvků pro rostliny, jeho příjem je závislý především na pH půdy. V kyselé půdě se velmi často nacházejí vodíkové a hliníkové ionty, které jsou ve vyšší koncentraci pro rostlinu toxické. V půdách, kde je regulované pH pomocí hnědých uhlí, jsou hořečnaté ionty rozptýleny okolo kořenů rostlin a jsou tedy lépe dostupné. Hořčík je důležitý z toho důvodu, že je součástí chlorofylu. Chlorofyl hraje hlavní roli ve fotosyntéze a je také součástí mnoha enzymů, které jsou odpovědné za přeměnu organické hmoty v rostlinách [48],[49].

V minulosti byly provedeny experimenty, které ukázaly, že přidáním hnědého uhlí do půdy jsou rostliny schopny přijmout o 15 % více dusíku a síry z organických látek než v kontrolních vzorcích bez přídavku hnědého uhlí. Na přeměnu volného dusíku mají velký vliv huminové látky, které jej dělají dostupnějším pro rostliny [49].

1.6.3 Lignit jako součást polymerů

Polymery se plní pevnými částicemi, což umožňuje kontrolu jejich vlastností a kvality. Lignit by mohl být použit v polymerech ze dvou důvodů. Prvním důvodem je, že by mohl sloužit jako regulátor stability polymeru, tedy řídit životnost polymeru. V druhém případě hnědé uhlí může přispívat k samotné funkci polymerního produktu. Příkladem může být mulčovací fólie, jejíž součástí může být lignit, kde by mohl absorbovat teplo a vodu a zároveň sloužit jako úprava půdy [46].

Výzkum v tomto odvětví byl již zahájen, dochází k míchání hnědého uhlí s komerčně velkokapacitně vyráběnými polymery, jako je polypropylen (PP), polyethylen (PE) a polyvinylchlorid (PVC). Lignit byl smíchán s roztavenými polymery, kde polyvinylchlorid byl roztaven na 160 °C a v případě polyethylenu a polypropylenu to bylo 200 °C. Takto připravené polymery byly následně podrobeny základním testům mechanických vlastností a analýze stability pomocí termogravimetrie. V případě začlenění většího množství lignitu do polymerní matrice došlo ke křehnutí a tvrdnutí materiálu. Mechanické vlastnosti výsledného materiálu by se neměly lišit od nativního polymeru, což znamená, že množství přidávaného lignitu by mělo být pouze v několika procentech [46].

Přídavek lignitu do polymerů může také ovlivnit jejich rozložitelnost. Výzkum byl zaměřen na biodegradabilitu polyuretanových (PUR) pěn pomocí mikroorganismů. Lignit byl smíchán s polyolovou složkou několika měkkých a tvrdých pěn, které jsou běžně komerčně dostupné. Pěny s přídavkem lignitu v rozmezí 1–5 % byly podrobeny testům biodegradability, ve srovnání s nemodifikovanými polyuretanovými pěnamí. Na biodegradační experimenty byla použita směsná kultura termofilních bakterií, kultury plísni *Phanerochaete chrysosporium* a kvasinky *Aureobasidium pullulans*. Polyuretanové pěny modifikované lignitem byly kultivovány v přítomnosti těchto kultur za neustálého protřepávání. Pravidelně byly sledovány růstové charakteristiky, chemická spotřeba kyslíku, povrchová mikroskopie a některé další mechanické vlastnosti [46].

Výsledky ukázaly, že po přidání lignitu do polyuretanové pěny může dojít ke zvýšení mechanické stability a vyšší adsorpci mikroorganismů na modifikovaném povrchu pěny ve srovnání s referenční pěnou. Pro lepší a komplexnější pochopení biodegradačních procesů budou potřeba další experimenty, protože zatím bylo zjištěno, že v přítomnosti polyuretanové pěny s přídavkem lignitu se celkové množství biomasy snižovalo, což naznačuje, že docházelo k tvorbě toxických produktů [46].

1.6.4 Uhlíkové materiály z uhlí

Vzhledem k tomu, že všechna uhlí jsou pevné látky bohaté na uhlík, jsou velmi dobrými výchozími látkami pro tvorbu dalších materiálů vyšší hodnoty. Dochází ke konverzi na nové pevné látky na bázi uhlíku. V současné době se vyrábí různé uhlíkové materiály z uhelných dehtů, ropné smoly, uhelné kapaliny ze zkapalňování, samotného uhlí nebo pyrolýzou uhlí [50].

1.6.4.1 Aktivní uhlí

Množství uhlí používaného k výrobě aktivního uhlí a uhlíku pro molekulární prosévání se odhaduje asi na 200 000 tun za rok a 3 000 tun za rok. Většina celosvětově vyráběného aktivního uhlí se vyrábí ze skořápek kokosových ořechů, uhlí a dřeva, nebo rašeliny. Tyto suroviny se poté zpracovávají při teplotách okolo 200 až 300 °C, aby došlo k odstranění těkavých složek a zbytkové vlhkosti. Následně proběhne aktivace uhlí párou, jako oxidačního média, při vysokých teplotách v rozmezí 900 až 1000 °C [50],[51].

Takto připravené aktivní uhlí je výkonný adsorbent, kde je nejdůležitější jeho povrch, distribuce a velikost pórů. Aktivní uhlí se může používat pro aplikace v kapalně fázi, jako je čištění odpadních vod a je charakterizováno tím, že má většinu pórů o průměru větším než 3 nm. U použití adsorbentů v plynné fázi má většina pórů průměr menší než 3 nm. K selektivnímu odstranění některých škodlivých chemikálií z vody a vzduchu lze využít chemicky upravené aktivní uhlí [50],[51].

1.6.4.2 Hutní koks

V dnešní době je nejčastější nepalivové využití uhlí jeho karbonizace a výroba hutního koksu. Koks se vyrábí pečením uhlí v nepřítomnosti kyslíku, aby došlo k odstranění těkavých uhlovodíků obsažených v uhlí. Výsledný koks je mechanicky pevný, porézní a chemicky reaktivní, což jsou všechny důležité vlastnosti pro stabilní provoz vysoké pece v průmyslu. Výroba hutního koksu je extrémně náročná z hlediska životního prostředí, protože dochází k uvolňování nebezpečných uhlovodíků během procesu koksování. Dalším problémem je, že všechny druhy uhlí nejsou vhodné pro výrobu koksu [52].

Koksovatelné uhlí je nezbytným vstupem pro výrobu železa a oceli. Největším jednorázovým využitím uhlí v ocelářském průmyslu je jako palivo pro vysoké pece, ale hlavně pro výrobu hutního koksu pro redukci železné rudy nebo pro vstřikování horkým vzduchem. Více než 66 % výroby oceli závisí na kvalitě vstupního uhlí [50],[52].

1.6.4.3 Grafit

Současná grafitová technologie využívá jako výplňový materiál ropný koks. Výrobky z lisovaného grafitu mají širokou škálu aplikací, od velkotonážního použití jako elektrody v elektrických obloukových pecích, až po speciální grafity používané v elektromotorech, či bateriích. Antracit by byla zajímavá náhrada za ropný koks jako výplňový materiál při výrobě speciálních grafitů. Antracit obsahuje okolo 95 % uhlíku. Uhlík ve struktuře antracitu je v aromatických strukturách a tyto struktury jsou ve velkých grafikových listech, proto se zdá, že vhodnou chemickou a tepelnou úpravou by měl antracit převeden na grafit. Tvorba grafitu z antracitu by mohla nastat při teplotách 1200–1370 °C v přítomnosti grafitizačních katalyzátorů [50],[51].

1.7 Metody analýzy uhlí

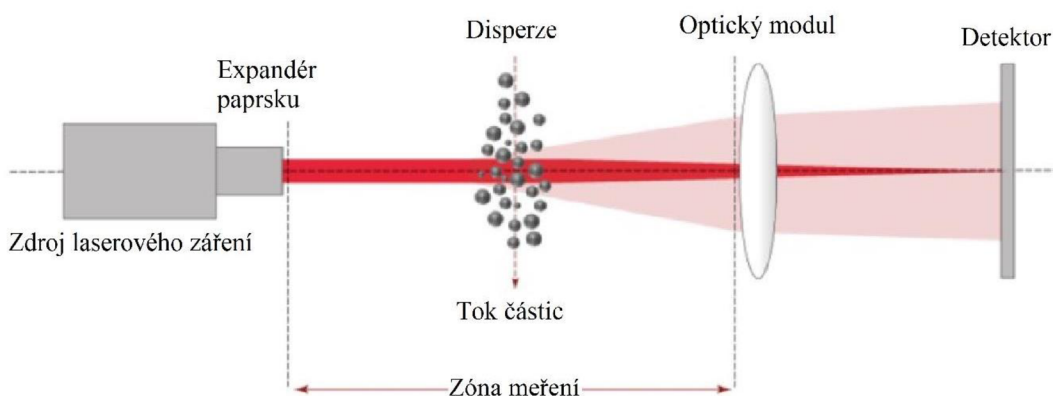
1.7.1 Laserová difrakce částic

Existuje mnoho způsobů pro stanovení distribuce velikosti částic, jako jsou sedimentační metody, mechanické třídění (síťová analýza), filtrace, optické metody (elektronová mikroskopie, světelná mikroskopie), dynamický rozptyl světla a laserová difrakce [53].

Laserová difrakční analýza, jinak též známá jako statický rozptyl světla je velmi rozšířenou a oblíbenou metodou pro stanovení distribuce velikosti částic. Metoda laserové difrakce je založena na vychýlení laserového paprsku rozptýleného analyzovanými částicemi rozptýlených buď v kapalině nebo ve vzduchu. Úhly difrakčních nebo rozptylových úhlů jsou charakteristické pro velikost částic. Poloha maximální intenzity difrakčního světla je úměrná velikosti částic a poloha maximální intenzity je úměrná úhlu. Metoda je založena na předpokladu, že částice mají ideální kulový tvar a převádí výslednou distribuci na objem. Pokud se mezi malými částicemi objeví jedna objemnější částice, tak se distribuční křivka posune směrem k vyšším hodnotám velikosti částic. Distribuční křivka je derivací kumulativní křivky, která umožňuje stanovení procentuálního podílu částic určité velikosti na celkový počet částic. Zatímco kumulativní křivka ukazuje podíl částic v analyzovaném systému, který se zvyšuje s rostoucí velikostí částic [53],[54],[55].

1.7.1.1 Princip laserové difrakce

V případě, že laserové světlo (monochromatické, koherentní, polarizované) narazí na překážku, tak dochází k difrakčním jevům. K difrakci tedy dochází například u štěrbin, mřížek, otvorů a částic. Difrakční úhel určuje vlnová délka světla a velikost částic, ale s rostoucí velikostí částic se difrakční úhly zmenšují. Pokud máme příliš malé částice tak charakteristická difrakční maxima mizí a v tomto případě jej označujeme jako rozptyl. Avšak i u velmi malých částic vzor rozptylu světla závisí na jejich velikosti, čím menší máme částice, tím je rozptýlené světlo slabší a téměř izotropní (stejně ve všech směrech). U větších částic dochází k většímu rozptylu světla a tím více se rozptyluje dopředu [55].



Obrázek 5: Uspořádání laserové difrakce [55]

1.7.1.2 Výhody laserové difrakce

Laserová difrakce má velmi široký měřicí rozsah. Typické pokrytí rozsahu velikostí je 10 nm až 4 mm, avšak v praxi se laserová difrakce nejčastěji používá v rozsahu velikostí okolo 30 nm až 1000 μm . Dále se využívá v mnoha různých průmyslových odvětvích, jak pro rutinní analýzy tak i pro kontrolu kvality a ve výzkumech. Jeho výhodou je možnost měřit jak vlhké (suspenze a emulze) tak i suché (prášky) vzorky [53],[56].

Celkové měření je hlavní výhodou laserové difrakce, protože celé měření trvá pár minut, samozřejmě v závislosti na využití ultrazvukové energie a počtu čistých cyklů. V případě suché vzorky je doba jednoho měření okolo 10 až 40 sekund [55],[57].

1.7.1.3 Hodnocení laserové difrakce

Rozptýlené světlo se zaznamenává v nejširším možném rozsahu úhlů pomocí speciálního laserového a detektorového uspořádání. Vyhodnocování probíhá na předpokladu, že velké částice rozptylují světlo do malých úhlů a malé částice mají maximální rozptyl světla ve velkých úhlech. Při vyhodnocování signálu je důležité si uvědomit, že velikost částic neodpovídá určitému úhlu, ale že každá částice rozptyluje světlo do všech směrů, ale v různých intenzitách. V případě této metody se tedy jedná o tzv. metodu nepřímého měření, protože velikost není měřena přímo na částici, ale vypočítává se dále pomocí sekundárních vlastností (difrakční obrazec) [55].

V průběhu vyhodnocování se všemi vystupujícími signály zachází jako by byly vygenerovány ideálními sférickými částicemi. Částice mají nepravidelný tvar, což vede k širší distribuci velikosti, protože šířka i délka částic přispívají k celkovému rozptylovému signálu a jsou zahrnuty ve výsledku [55],[57].

1.7.1.4 Limity laserové difrakce

Laserová difrakce má horní i spodní limity, na které můžeme narážet během měření. Spodní mez rozsahu měření je definována jako slabá intenzita rozptýleného světla z malých částic. Horní mez rozsahu je dána skutečností, že se zvětšující se velikostí částic se difrakční úhly zmenšují. Výsledkem tedy je, že malé rozdíly mezi velikostmi částic jsou mnohem hůře detekovatelné a rozlišení laserové difrakce klesá [55].

V případě použití světla o krátké vlnové délce, které přináší větší intenzitu rozptylu světla, můžeme rozšířit rozsah měření i na menší velikost částic. Z tohoto důvodu se v laserových difrakčních analyzátoch používají zdroje červeného a modrého světla [53],[55].

1.7.2 Infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací (FTIR)

Infračervená spektroskopie je významnou metodou při zkoumání chemické struktury uhlí. Organičtí geochemici používají tuto techniku k provádění kvalitativních a kvantitativních studií struktur, typů a variací v geologickém vývoji uhlí. Úspěšně tak byly určeny typy horninových zdrojů ropy, stejně jako uhlovodíkový potenciál a zralost. Kvantitativní spolehlivost této metody byla nízká a to z důvodu chemické složitosti uhlí, což má za následek překrývající se pásy spektra. V posledních letech se však kvantitativní přesnost infračervených spektrálních píků značně zvýšila díky rychlému rozvoji technologie na separaci překrývajících se píků. Výsledkem je, že tato technika je nyní široce používána při kvantitativním studiu komplikovaných organických sloučenin [61].

Infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací je v současné době jednou z nejvýkonnějších a nejuniverzálnějších technik pro charakterizaci uhlí, i když pro zlepšení vystupujících informací poskytovaných touto technikou je potřeba použít různé úpravy digitalizovaných spekter [61],[62].

Při analýze se nejčastěji vzorek upravuje do tablety v přítomnosti KBr, který má hydroskopické vlastnosti, což následně komplikuje analýzu výsledného spektra. Bylo zjištěno, že za určitých podmínek KBr katalyzuje dekarboxylaci kyselých funkčních skupin. Možnými úpravami, jak vyřešit překrývající se spektra je Fourierova autodekonvoluce, nebo metoda proložení křivky. Metody prokládání křivek jsou široce používané k oddělení překrývacích se pásem v kompozitních profilech, jako jsou ty, které se nacházejí v IR spektrech uhlí a dalších souvisejících materiálech. Další možnou alternativou je využití jevu, který se nazývá difúzní odraz (DRIFTS) [61],[63].

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Použitý materiál

- Lignit, zrnitost 0,5 až 2 mm, Mikulčiče
- Kompost, Blansko
- Pěstební zahradnický substrát TS 3, 200 l
- Půda z Hodonína, lokalita Pánov
- Monofilová textilie
- Rhizocore, pomocný rostlinný přípravek, CBC (Europe) S.r.l., Itálie
- RhizoVital 42, biostimulant, ABiTEP GmbH, Berlín

2.2 Použité chemikálie

- Nutrient Broth w/1 % peptone, Himedia, Indie
- Kyselina citronová bezvodá p.a., Penta, ČR
- Peroxid vodíku 30 % zkoušeno dle ČL, Penta, ČR
- Kyselina L(-)-jablečná p.a., Penta, ČR
- D-glukosa monohydrát p.a., Lach–Ner s.r.o., ČR
- Chlorid sodný p.a., Sigma – Aldrich, USA
- Dusičnan amonný p.a., Lach–Ner s.r.o., ČR
- Síran železnatý heptahydrát p.a., Lach–Ner s.r.o., ČR
- Chlorid vápenatý dihydrát p.a., Penta, ČR
- Síran hořečnatý heptahydrát p.a., Penta, ČR
- Dihydrogenfosforečnan draselný p.a., Lach–Ner s.r.o., ČR
- Hydrogenfosforečnan draselný p.a., Lach–Ner s.r.o., ČR
- Destilovaná voda, FCH VUT, Brno

2.3 Přístroje a vybavení

- Analytické váhy, Denver Instrument
- Sušárna BMT, Ecocell
- Třepačky Vibramax 100, Heidolph
- Svářečka PFS 300, C&C Líně spol. s.r.o.
- Předvážky, Denver Instrument, S-4002
- Helos&Rhodos KR, Sympatec
- Lednice
- Laboratorní sklo
- Další laboratorní pomůcky (pinzety, buničina, lžičky...)

2.4 Degradace lignitu pomocí kompostových bakterií

2.4.1 Kultivace kompostových bakterií

Podle návodu na obalu komplexního média Nutrient Broth w/1 % Peptone, bylo připraveno 400 ml média. Na předvážkách bylo naváženo 10,0 g Nutrient Broth, který byl rozpuštěn ve 400 ml destilované vody. Do dvou připravených Erlenmeyerových baněk bylo naváženo na předvážkách 2 g kompostu, které byly zality 200 ml komplexního média. Obě baňky byly zazátkovány buničínovým špuntem, aby nedocházelo ke kontaminaci. Takto připravené baňky byly třepány v planetární vyhřívané třepačce na 37 °C po dobu 72 hodin. Rychlost třepání byla po celou dobu konstantní a to 150 rpm.

Po 72 hodinách byly baňky sundány z třepačky, aby došlo k usazení kompostu. Po usazení kompostu došlo k odlití nakultivovaných bakterií tak, aby kompost zůstal usazený na dně. Nakultivovaná zálivka kompostových bakterií z obou Erlenmeyerových baněk byla smíchána dohromady.

2.4.2 Příprava médií a lignitu

Z monofilové textilie bylo vytvořeno 12 dvojvrstevných pytlíků, které byly svařeny pomocí svářečky na třech stranách. Jedna délka pytlíku byla ponechána otevřená, aby dovnitř bylo možné odvážit potřebné množství lignitu. Každý pytlík byl označen číslem. Na analytických vahách byla zapsána hmotnost pytlíku a byly do něj odváženy 2 g lignitu o zrnitosti 0,5 až 2 mm. Následně byla svařena poslední strana pytlíku s lignitem tak, aby nedocházelo k úniku lignitu do okolního prostředí.

Dále bylo podle návodu na obalu Nutrient Broth w/1 % připraveno 1,4 litrů tohoto komplexního média. Na předvážkách bylo naváženo 35,0 g Nutrient Broth, které bylo rozpuštěno v 1400 ml demineralizované vody. Jako druhé bylo připraveno univerzální minerální médium, které by mělo být vhodné na kultivaci bakterií. Univerzální minerální médium bylo zvoleno z toho důvodu, že v současné době neznáme přesné bakteriální složení používaného kompostu. V případě nám známého bakteriálního složení kompostu by došlo k úpravě minerálního média, na základě specifických podmínek bakterií. Minerální médium obsahuje základní prvky a glukózu pro přežití bakterií. Na potřebné množství 1,4 litrů minerálního média byly přepočítány navážky, které zobrazuje (*Tabulka 1*), přepočítané navážky taktéž ukazuje (*Tabulka 1*) [58].

Tabulka 1: Množství a potřebné chemikálie na vytvoření minerálního média

Chemikálie	Množství [g/l]	Množství na 1,4 litrů [g]
K ₂ HPO ₄	1,73	2,42
KH ₂ PO ₄	0,68	0,95
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,1	0,14
NaCl	4,0	5,6
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,03	0,042
NH ₄ NO ₃	1,0	1,4
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,02	0,028
C ₆ H ₁₂ O ₆	5,0	7,0

2.4.3 Průběh experimentu

Připravené pytlíky byly vloženy do očíslovaných Erlenmeyerových baněk, tak aby se číslo na pytlíku shodovalo s číslem na baňce. Do baněk, do kterých byl již umístěn pytlík s lignitem, bylo vždy odměřeno 180 ml média a 20 ml zálivky kompostových bakterií. Schéma, podle kterých byly připraveny jednotlivé vzorky znázorňuje (Tabulka 2).

Tabulka 2: Schéma přípravy vzorků určených na kultivaci

Číslo vzorku	Obsah baňky	Číslo vzorku	Obsah baňky
1	Minerální médium, lignit, bakteriální zálivka	9	Minerální médium, lignit, bakteriální zálivka
2	Minerální médium, lignit, bakteriální zálivka	10	Minerální médium, lignit, bakteriální zálivka
3	Komplexní médium, lignit, bakteriální zálivka	11	Komplexní médium, lignit, bakteriální zálivka
4	Komplexní médium, lignit, bakteriální zálivka	12	Komplexní médium, lignit, bakteriální zálivka
5	Minerální médium, bakteriální zálivka	13	Minerální médium, bakteriální zálivka
6	Komplexní médium, bakteriální zálivka	14	Komplexní médium, bakteriální zálivka
7	Minerální médium, lignit	15	Minerální médium, lignit
8	Komplexní médium, lignit	16	Komplexní médium, lignit

Všechny baňky byly zazátkovány čistými buničínovými špunty, tak aby nedocházelo ke kontaminaci. Vzorky číslo 1 až 8, byly vloženy do planetární třepačky na 37 °C na 7 dní. Vzorky číslo 9 až 16 byly ponechány při pokojové teplotě 20 °C na třepačce po dobu 7 dní.

Po skončení experimentu byly lignitové pytlíky vyjmuty z Erlenmeyerových baněk a byly umístěny do sušárny na 48 hodin, kde se sušily při teplotě 55 °C do konstantní hmotnosti. Po úplném vysušení byla zvážena a zapsána jejich hmotnost, zda došlo k úbytku lignitu.

2.5 Simulace kořenových exudátů bez výměny činidel

2.5.1 Příprava loužících činidel

Byly připraveny roztoky kyseliny jablečné a citronové, dále byl připraven roztok peroxidu vodíku. Roztok kyseliny citronové byl připraven smícháním 1,44 g bezvodé kyseliny citronové s 500 ml destilované vody. Koncentrace výsledného roztoku kyseliny citronové byla $0,015 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Roztok kyseliny jablečné byl připraven smícháním 5,02 g kyseliny jablečné s 500 ml destilované vody. Koncentrace výsledného roztoku kyseliny jablečné byla $0,075 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$.

Jako poslední byl vytvořen roztok peroxidu vodíku, který vznikl smícháním 16,84 ml 30 % H_2O_2 se 483,15 ml destilované vody. Koncentrace výsledného roztoku peroxidu vodíku byla $0,33 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Koncentrace těchto roztoků byly zvoleny na základě úspěšných výsledků publikovaných prací se stejnou problematikou [59],[60].

2.5.2 Příprava lignitu

Do plastových vialek byl na analytických vahách odvážen 1 g. Celkem bylo připraveno 8 vialek. Každá plastová vialka byla označena číslem a písmenem. Do takto připravených vialek bylo následně odměřeno loužící činidlo.

2.5.3 Průběh experimentu

Do označených plastových vialek byl vložen pytlík z netkané monofilové textilie s lignitem se shodným číslem a písmenem. Do vialek bylo vždy pomocí odměrného válce odměřeno 10 ml loužícího činidla, vždy na jedno loužící činidlo připadly dvě vialky, aby experiment probíhal duplicitně. Vialky byly uzavřeny víčkem a byly třepány na třepačce po dobu 7 dní, při laboratorní teplotě $20 \text{ }^\circ\text{C}$.

Po skončení experimentu byly lignitové pytlíky vyjmuty z plastových vialek a přemístěny na Petriho misky. Petriho misky s lignitovými pytlíky byly přesunuty do sušárny, která byla vyhřátá na $55 \text{ }^\circ\text{C}$. Pytlíky se sušily po dobu 48 hodin do konstantní hmotnosti, ihned poté byly zváženy na analytických vahách a byla zapsána jejich hmotnost.

2.6 Simulace kořenových exudátů s výměnou činidel

2.6.1 Příprava loužících činidel

Byly připraveny roztoky kyseliny jablečné a citronové, dále byl připraven roztok peroxidu vodíku. Roztok kyseliny citronové byl připraven smícháním 1,44 g bezvodé kyseliny citronové s 500 ml destilované vody. Koncentrace výsledného roztoku kyseliny citronové byla $0,015 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Roztok kyseliny jablečné byl připraven smícháním 5,02 g kyseliny jablečné s 500 ml destilované vody. Koncentrace výsledného roztoku kyseliny jablečné byla $0,075 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Jako poslední byl vytvořen roztok peroxidu vodíku, který vznikl smícháním 16,84 ml 30 % H_2O_2 se 483,15 ml destilované vody. Koncentrace výsledného roztoku peroxidu vodíku byla $0,33 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Koncentrace těchto roztoků byly zvoleny na základě úspěšných výsledků publikovaných prací se stejnou problematikou [59],[60].

2.6.2 Příprava lignitu

Bylo vytvořeno 8 dvojvrstevných pytlíků z monofilové textilie, které byly svařeny pomocí svářečky na třech stranách. Jedna strana byla ponechána otevřená, aby bylo možné do pytlíku vložit požadované množství lignitu. Každý pytlík byl označen písmenem a číslem. Na analytických vahách byl zvážen každý pytlík a byla zapsána jeho hmotnost, následně do každého pytlíku byl navážen 1 g lignitu a byla svařena poslední strana pytlíku tak, aby nedocházelo k úniku lignitu do okolního prostředí.

2.6.3 Průběh experimentu

Do označených plastových vialek byly vloženy sáčky z monofilové textilie s lignitem. Do každé vialky bylo pomocí odměrného válce odměřeno 10 ml loužícího činidla, plastová vialka byla následně pevně uzavřena víčkem a upevněna do třepačky. Mačící činidlo bylo po 24 hodinách vždy vyměněno za nové, aby nedocházelo k natlakování vialky, plesnivění, ale především, aby docházelo stále k simulaci vypouštění kořenových exudátů rostlinou. Loužící činidlo byla vyměněna celkem třikrát, vždy po 24 hodinách od poslední výměny. Vialky byly třepány na planetární třepačce při laboratorní teplotě 20 °C na 150 otáček za minutu.

Celý experiment trval celkem 5 dní, po ukončení experimentu byly lignitové pytlíky umístěny do sušárny, která byla vyhřátá na 55 °C. Pytlíky se v sušárně sušily 48 hodin do konstantní hmotnosti. Takto vysušené pytlíky byly zváženy na analytických vahách, kde byla zapsána jejich hmotnost.

2.7 Degradace lignitu pomocí komerčně dostupných zahradnických přípravků

2.7.1 Příprava roztoků komerčně dostupných zahradnických přípravků

Komerčního granulátového přípravku Rhizocore bylo odváženo 0,1 g do každé Erlenmeyerové baňky. Každá baňka byla označena číslem. Následně byl granulát smíchán s 10 ml kohoutkové vody, aby došlo k nabobtnání a rozpuštění granulí. Po 30 minutách granulát nabobtnal a rozpustil se, následně bylo do každé baňky odměřeno 190 ml kohoutkové vody.

Tekutého komerčního přípravku Rhizovital 42, bylo do každé Erlenmeyerové baňky napipetováno 1 ml a bylo přidáno 199 ml kohoutkové vody.

2.7.2 Příprava lignitu

Bylo vytvořeno 14 dvojvrstevných pytlíků z monofilové textilie, které byly svařeny pomocí svářečky na třech stranách. Jedna strana byla ponechána otevřená, aby bylo možné do pytlíku odvážit požadované množství lignitu. Každý pytlík byl označen písmenem a číslem. Na analytických vahách byl zvážen každý pytlík a byla zapsána jeho hmotnost, následně do každého pytlíku byly naváženy 2 g lignitu a byla zasvářena poslední strana pytlíku, aby nedocházelo k úniku lignitu.

2.7.3 Průběh experimentu

Do takto připravených Erlenmeyerových baněk byly vloženy pytlíky s lignitem, tak aby se shodovalo číslo na baňce s číslem na pytlíku. Všechny baňky byly uzavřeny

buničinovým špuntem, aby nedocházelo ke kontaminaci. Následně byly baňky umístěny na planetární třepačku, kde byly ponechány po dobu 7 dní při laboratorní teplotě 20 °C.

Po ukončení experimentu byly z baněk pomocí pinzety vyjmuty lignitové pytlíky, které byly umístěny na Petriho misky, které byly následně přesunuty do sušárny. Sušárna byla vyhřátá na 55 °C, kde se pytlíky sušily po dobu 48 hodin do konstantní hmotnosti. Poté byly pytlíky zváženy na analytických vahách a byla zapsána jejich hmotnost.

2.8 Degradace lignitu v půdním prostředí

Ve spolupráci se Zahradnickou fakultou Mendelovy univerzity v Lednici byly provedeny nádobové pokusy na degradaci lignitu v půdním prostředí. Půdní prostředí bylo vytvořeno z lokální, písčité a výživově velmi chudé půdy, na které probíhaly předchozí polní pokusy s lignitem jako pomocným půdním prostředkem.

2.8.1 Příprava lignitu

Bylo vytvořeno 25 dvojrvtvých pytlíků z monofilové textilie, které byly svařeny pomocí svářečky na třech stranách. Jedna strana byla ponechána otevřená, aby bylo možné do pytlíku dát požadované množství lignitu. Do pytlíku k lignitu byla přidána i plastová destička s vyraženým číslem, aby byla možná následná identifikace pytlíku.

Na analytických vahách byl zvážen každý pytlík společně s plastovým číslem a byla zapsána jejich hmotnost, následně bylo do každého pytlíku naváženo 1,5 g lignitu a byla svařena poslední strana pytlíku, aby nedocházelo k úniku lignitu do okolního prostředí.

2.8.2 Kultivace kompostových bakterií

Podle návodu na obalu komplexního média Nutrieth Broth w/1% Peptone byly připraveny 2 litry média. Do každé Erlenmeyerové baňky bylo na předvážkách odváženo 2 g kompostu, které byly zality 200 ml komplexního média. Erlenmeyerových baněk bylo celkem 10. Každá baňka byla zázatkována buničinovým špuntem, aby nedocházelo ke kontaminaci.

Takto připravené Erlenmeyerové baňky byly umístěny do vyhřívané planetární třepačky, kde probíhala kultivace po dobu 3 dní. Třepačka byla vyhřívána na 37 °C. Po ukončení kultivace byly roztoky nakultivovaných bakterií smíchány dohromady i s usazeným kompostem. Takto nakultivovaný roztok kompostových bakterií byl připraven k použití jako zálivka.

2.8.3 Průběh experimentu

Nejprve bylo připraveno 25 květináčů, do kterých byla nasypána písčité půda, která tvořila dvě třetiny objemu květináče. Na tuto půdu byl uložen pytlík s lignitem, který byl zasypán 5 cm stejné půdy, nebo zahradnickým substrátem. Pytlík byl zasypán půdou tak, aby nebyl vidět, přičemž do této horní vrstvy půdy byly zasety zrna pšenice ozimé. Zaseté zrna pšenice ozimé byly zasypány cca 1 cm stejné půdy, nebo zahradnickým substrátem.

Do 10 vybraných vzorků bylo odměřeno a nalito 200 ml nakultivované zálivky kompostových bakterií, zbylých 15 vzorků bylo zalito vodou, aby došlo ke klíčení zrn pšenice a vytvoření kořenového systému. Všechny vzorky byly připraveny podle předem vytvořeného schématu, který zobrazuje (*Tabulka 3*).

Po čtyřech týdnech od zasetí zrn pšenice vyrostla tak, že byl již vytvořen kořenový systém a výška rostliny dosahovala 7 až 10 cm. Ve stejném čase, po čtyřech týdnech bylo vybráno 6 vzorků, které byly zality 200 ml roztokem nakultivovaných kompostových bakterií.

Takto připravené vzorky byly uloženy do odkrytého venkovního pařeniště, které simulovalo podmínky pole. Celý experiment trval od 14. října 2022 do 20. dubna 2023, ve kterých pšenice ozimá byla jak ve vegetačním klidu, tak i ve vegetační sezóně.

Tabulka 3: Schéma přípravy vzorků

Číslování květináčů	Obsah květináče	Poznámka
101–106	Písčítá půda, lignit, osivo	Slepý vzorek
107–112	Písčítá půda, lignit, zálivka kompostových bakterií, osivo	Zálivka hned při setí
113–118	Písčítá půda, lignit, zálivka kompostových bakterií, osivo	Zálivka až po vzejití pšenice
119–121	Písčítá půda, lignit, substrát, osivo	Slepý vzorek
122–125	Písčítá půda, lignit, zálivka kompostových bakterií, substrát, osivo	Zálivka hned při setí

3. VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Degradace lignitu pomocí kompostových bakterií

Degradace lignitu pomocí kompostových bakterií byla provedena přesně podle postupu, který je uveden v kapitole výše. Ihned po ukončení experimentu bylo potřebné, aby některé lignitové pytlíky byly očištěny od slizového obalu mikrobiálního konsorcia, které na nich v průběhu experimentu narostlo. Slizové útvary se na lignitových pytlících tvořily pouze u vzorků, které byly umístěny na planetární třepačce, při laboratorní teplotě 20 °C. Slizové útvary se vytvořily na lignitových pytlících jak v komplexním, tak i v minerálním médiu, avšak v minerálním médiu byly znatelně větší a pouze dvě (Obrázek 6), zatímco u komplexního média jich bylo více, ale o menší velikosti (Obrázek 7).

V případě vzorků, které byly umístěny na vyhřívané planetární třepačce nedošlo ke tvorbě slizových útvarů, ale uvnitř lignitového pytlíku došlo k opouzdření lignitu slizovým obalem. Došlo k tvorbě několika různě velkých opouzdřených lignitových kuliček. Ke tvorbě těchto opouzdřených lignitových kuliček došlo pouze u minerálního média.

Výsledky celé degradace pomocí kompostových bakterií zobrazuje následující (Tabulka 4).

Tabulka 4: Výsledky z degradace lignitu pomocí kompostových bakterií

Číslo vzorku	Hmotnost pytlíku [g]	Navážka lignitu [g]	Po vysušení [g]	Úbytek [g]	Úbytek [%]
1	0,7510	2,0024	1,4773	1,2761	63,72
2	0,6810	2,0114	1,4535	1,2389	61,59
3	0,5318	2,0131	2,2839	0,2610	12,96
4	0,7713	2,0136	2,4975	0,2874	14,27
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	0,7966	2,0022	2,5189	0,2799	13,84
8	0,6420	2,0155	2,3753	0,2822	14,00
9	0,7338	2,0142	2,1965	0,5515	27,38
10	0,8216	2,0032	2,5481	0,2767	13,81
11	0,7230	2,0165	2,5044	0,2351	11,65
12	0,6910	2,0070	2,2024	0,4956	24,69
13	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-
15	0,5174	2,0062	2,3173	0,2063	10,28
16	0,6265	2,0185	2,3350	0,3100	15,35



Obrázek 6: Zobrazení lignitového pytlíku s mikrobiálním konsorciem minerálního média při laboratorní teplotě



Obrázek 7: Zobrazení lignitového pytlíku s mikrobiálním konsorciem u komplexního média při laboratorní teplotě

Největší úbytek lignitu byl pozorován u vzorků, které byly umístěny do prostředí minerálního média a byly třepány a zahřívány na 37 °C. Úbytek u vzorku číslo 1 byl 1,2761 g, což odpovídá 63,72 % a u vzorku číslo 2 úbytek činil 1,2389 g, což odpovídá 61,59 %. V tomto případě se dá usuzovat, že v prostředí minerálního média došlo k degradaci lignitu kompostovými bakteriemi, které jej využívaly pravděpodobně jako zdroj uhlíku. Minerální médium poskytuje bakteriím pouze malé množství glukózy a základní prvky pro život, na rozdíl od komplexního média, které obsahuje hovězí extrakt a polypeptidy. Z tohoto důvodu se dá považovat minerální médium jako vhodnější médium, protože po vyčerpání glukózy jsou bakterie donuceny začít využívat lignit, jako alternativní zdroj uhlíku.

3.2 Simulace kořenových exudátů bez výměny činidel

Při simulaci kořenových exudátů byl použit peroxid vodíku, kyselina jablečná a citronová. Jako slepý vzorek byla použita voda. Ihned po ukončení experimentu bylo zjištěno, že u vzorku číslo 2 kyseliny jablečné došlo k tvorbě plísně a nebylo tedy možné vzorek použít. V budoucnu by bylo možné tento problém vyřešit přidáním stabilizačního činidla, které by zabraňovalo plesnivění.

Největší úbytek lignitu byl pozorován u vzorků s peroxidem vodíku, kde byl úbytek 0,0469 g a 0,0522 g, což odpovídá úbytku 4,67 % a 5,17 %. U slepých vzorků došlo také k úbytku lignitu, kde pravděpodobně docházelo k promývání lignitu vodou. Úbytek lignitu nastal i u vzorků s kyselinou citronovou. V případě vzorků v prostředí kyseliny jablečné můžeme však úbytek lignitu úplně zanedbat, jelikož úbytek byl tak malý, že se spíše jednalo o odchytku měření a částečný propad nejmenších zrn lignitu skrze pytlík.

Jako nejúčinnější degradační činidlo se v tomto případě ukázal peroxid vodíku, který měl nejlepší výsledky, avšak ale i vzorků peroxidu vodíku nedošlo k významným úbytkům, které by mohly být označeny jako relevantní.

Pro větší úspěšnost experimentu bych navrhovala zvýšení koncentrace především kyseliny jablečné a citronové a přidání stabilizačního činidla, které by zabránilo nechtěnému plesnivění. U tohoto experimentu bych navrhovala použití lignitových pytlíků než lignit volně rozptýlený v tekutině. Při použití lignitového pytlíku se do sušárny vkládá pouze pytlík naplněný lignitem, zatímco v případě volně rozptýleného lignitu byl celý obsah vialky (i s loužícími činidly) umístěn do sušárny. V sušárně dojde k odpaření loužících činidel, které zůstanou na Petriho misce, což znamená nechtěnou hmotnost, která je později připočítána k hmotnosti lignitu a dochází ke zkreslení výsledků.

V případě peroxidu vodíku by bylo vhodné zvýšit teplotu, při vyšší teplotě dochází k větším ztrátám hmotnosti. Teplotní optimum by se pohybovalo v rozmezí od 30 °C do 50 °C, avšak bylo by potřebné zkrátit celkový čas experimentu. [64]

Všechny výsledky zobrazuje následující (*Tabulka 5*).

Tabulka 5: Výsledky experimentu kořenových exudátů bez výměny loužících činidel

Vzorek	Navážka lignitu [g]	Petriho miska [g]	Po vysušení [g]	Úbytek [g]	Úbytek [%]
Kyselina citronová 1	1,0035	6,3111	7,2745	0,0401	3,99
Kyselina citronová 2	1,0003	7,0143	7,9814	0,0332	3,31
Kyselina jablečná 1	1,0025	28,6653	29,6646	0,0032	0,31
Kyselina jablečná 2	1,0030	27,7671	28,8000	-	-
Peroxid vodíku 1	1,0029	42,4445	43,4005	0,0469	4,67
Peroxid vodíku 2	1,0095	23,6826	24,6399	0,0522	5,17
Slepý vzorek 1	1,0050	6,3573	7,3219	0,0404	4,01
Slepý vzorek 2	1,0057	27,6244	28,5879	0,0422	4,19

3.3 Simulace kořenových exudátů s výměnou činidel

Při simulaci kořenových exudátů byl použit peroxid vodíku, kyselina jablečná a citronová a jako slepý vzorek byla použita voda. Loužící činidla byla po 24 hodinách vždy vyměněna za novou várku činidel.

Největší úbytek lignitu byl pozorován u peroxidu vodíku, kde došlo k úbytku 0,2901 g a 0,3447 g, což odpovídá 28,89 % a 33,26 %. Úbytek nastal i obou kyselin, které vykazovaly téměř shodný úbytek, až na vzorek kyseliny jablečné 1, kde došlo k většímu úbytku lignitu.

V případě slepého vzorku s vodou také došlo k úbytku lignitu, tento úbytek byl však úplně minimální. Úbytky lignitu se u ostatních činidel pohybovaly v desítkách procent, což můžeme považovat za relevantní výsledky, oproti úbytkům při experimentu kořenových exudátů bez výměny loužících činidel, kde úbytky dosahovaly pouze jednotky procent.

Při výměně loužících činidel po 24 hodinách nedocházelo k plesnivění loužícího roztoku kyseliny jablečné jako v předchozím případě a proto v tomto případě není potřebné přidávat stabilizační činidlo.

Všechny výsledky tohoto experimentu zobrazuje (Tabulka 6).

Tabulka 6: Výsledky experimentu kořenových exudátů s výměnou loužících činidel

Vzorek	Navážka lignitu [g]	Hmotnost pytlíku [g]	Po vysušení [g]	Úbytek [g]	Úbytek [%]
Kyselina citronová 1	1,0111	0,4552	1,3532	0,1131	11,18
Kyselina citronová 2	1,0513	0,4495	1,3776	0,1232	11,71
Kyselina jablečná 1	1,0315	0,4358	1,3104	0,1569	15,21
Kyselina jablečná 2	1,0243	0,4932	1,4066	0,1109	10,82
Peroxid vodíku 1	1,0039	0,4891	1,2029	0,2901	28,89
Peroxid vodíku 2	1,0361	0,5537	1,2451	0,3447	33,26
Slepý vzorek 1	1,0765	0,4800	1,4961	0,0604	5,61
Slepý vzorek 2	1,0716	0,4617	1,4974	0,0359	3,35

3.4 Degradace lignitu pomocí komerčně dostupných zahradnických přípravků

Na degradaci lignitu pomocí komerčních zahradnických přípravků byly použity dva přípravky a to granulový přípravek Rhizocore a tekutý přípravek Rhizovital 42. Oba dva přípravky se běžně využívají jako biostimulanty, které přirozeně zvyšují aktivitu půdních mikroorganismů, podporují růst rostlin a zvyšují jejich odolnost vůči patogenům.

Tekutý přípravek Rhizovital 42 obsahuje spory bakterie *Bacillus amyloliquefaciens* kmene FZB 42. Spory této půdní bakterie zvyšují svým působením konkurenční prostředí pro patogeny. Při zapravení do půdy začnou spory klíčit a kolonizují nové kořinky. Bakterie uvolňují hormony, které stimulují růst rostlin a zvyšují příjem živin rostlinou, s čímž přímo souvisí i zvýšení výnosu rostlinou.

Granulový přípravek Rhizocore je pomocný rostlinný přípravek, jehož účinné složky obsahují mikrobiální kultury *Trichoderma harzianum*, *Bacillus megaterium* a mykorhizní houby. Kombinace těchto účinných složek příznivě ovlivňuje růst a kondici. Vlivem přítomnosti mykorhizních hub dochází k rozvoji kořenů a větší asimilaci živin rostlinou.

V případě tekutého přípravku Rhizovital 42 byl největší úbytek zaznamenán u vzorku 5 a 4, kde úbytek lignitu činil 0,5951 g a 0,4951 g, což odpovídá 29,67 % a 24,61 %. Vzorek číslo 6 je slepý vzorek, který obsahuje pouze lignit a vodu. U slepého vzorku došlo také k úbytku lignitu, který je způsoben promýváním lignitu vodou. Úbytek činí pouze 2,28 %, což považujeme za zanedbatelný úbytek. V případě ostatních vzorků úbytky lignity činily okolo desítek procent, což můžeme považovat za signifikantní úbytek. Všechny výsledky z úbytku lignitu pomocí tekutého komerčního přípravku Rhizovital 42 zobrazuje (Tabulka 7).

U granulového přípravku Rhizocore byl největší úbytek lignitu u vzorku 1, kde úbytek činil 0,8226 g, což odpovídá 40,53 %, druhý nejvyšší úbytek lignitu byl u vzorku 4, kde úbytek činil 0,6623 g, což odpovídá 32,95 %. Vzorek číslo 6 je slepý vzorek, který obsahoval pouze lignit a vodu. U slepého vzorku došlo také k úbytku lignitu, který byl pravděpodobně způsoben promýváním lignitu a činil 1,15 %, které můžeme považovat za zanedbatelné. Všechny vzorky vykazovaly úbytky lignitu v desítkách

procent, což můžeme považovat za relevantní výsledky. Všechny výsledky úbytku lignitu za použití granulového přípravku Rhizocore zobrazuje (Tabulka 8).

Tabulka 7: Výsledky úbytku lignitu za použití tekutého přípravku Rhizovital 42

Vzorek	Navážka lignitu [g]	Hmotnost pytlíku [g]	Po vysušení [g]	Úbytek [g]	Úbytek [%]
1	2,0369	0,7406	2,3392	0,4383	21,51
2	2,0215	0,7263	2,4212	0,3266	16,15
3	2,0506	0,6675	2,3152	0,4029	19,64
4	2,0116	0,8076	2,3241	0,4951	24,61
5	2,0054	0,6634	2,0737	0,5951	29,67
6	2,0132	0,7172	2,6844	0,0460	2,28

Tabulka 8: Výsledky úbytku lignitu za použití granulového přípravku Rhizocore

Vzorek	Navážka lignitu [g]	Navážka Rhizocore [g]	Hmotnost pytlíku [g]	Po vysušení [g]	Úbytek [g]	Úbytek [%]
1	2,0293	0,1019	0,5658	1,7725	0,8226	40,53
2	2,0388	0,1185	0,9146	2,4344	0,5190	25,45
3	2,0195	0,1034	0,6207	2,2483	0,3919	19,40
4	2,0098	0,1042	0,8184	2,1659	0,6623	32,95
5	2,0500	0,1047	0,6304	2,4366	0,2438	11,89
6	2,0198	-	0,6734	2,6698	0,0234	1,15

3.5 Degradace lignitu v půdním prostředí

Degradace lignitu v půdním prostředí probíhala po dobu 6 měsíců (říjen až duben), kde vzorky byly osety pšenicí ozimou, která vytvořila kořenový systém. Vzorky byly umístěny ve venkovním pařeništi, kde byly zavlažovány zcela ojediněle, pouze v případě, že delší dobu nedošlo ke srážkám, které by je přirozeně zavlažily.

U vzorků, kde byla bakteriální zálivka aplikována hned při setí byl zjištěn menší úbytek lignitu než u vzorků, u kterých byla bakteriální zálivka aplikována až po vzejití pšenice a u vzorků, u kterých horní vrstva byla tvořena zahradnickým substrátem. Úbytek lignitu u těchto vzorků (číslo 107 až 112) se pohybuje pouze v jednotkách procent. Nejvyšší úbytek lignitu byl u vzorku 109, kde byl úbytek 0,1436 g, což odpovídá 9,43 %. U slepých vzorků (číslo 101 až 106), které obsahovaly pouze lignit, půdu a osivo, byl pozorován také úbytek, který se pohyboval od 4,62 % do 9,05 %. Úbytky lignitu u vzorků s bakteriální zálivkou jsou podobné se slepými vzorky, což je způsobeno, že při aplikaci zálivky ihned po setí nebyl vytvořen kořenový systém, ve kterém by se bakterie zachytily. Výsledky úbytku lignitu u slepých vzorků zobrazuje (Tabulka 9) a úbytek lignitu u vzorků, kde byla zálivka aplikována hned po setí zobrazuje (Tabulka 10).

Tabulka 9: Úbytek lignitu u slepých vzorků

Vzorek	Navážka lignitu [g]	Hmotnost pytlíku [g]	Po vysušení [g]	Úbytek [g]	Úbytek [%]
101	1,5119	0,7414	2,1833	0,0700	4,62
102	1,5380	0,7662	2,2006	0,1036	6,73
103	1,5072	0,8237	2,2065	0,1244	8,25
104	1,5045	0,8240	2,1923	0,1362	9,05
105	1,5195	0,7812	2,1789	0,1218	8,01
106	1,5204	0,8675	2,2877	0,1002	6,59

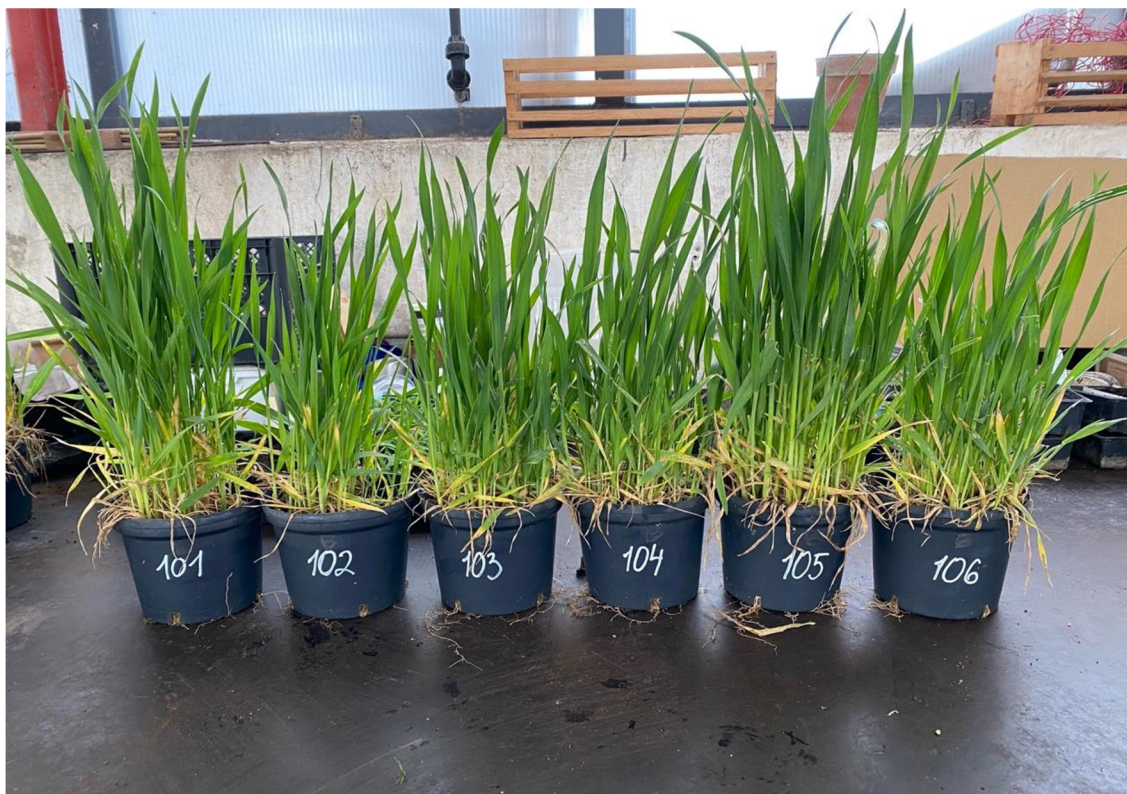
Tabulka 10: Úbytek lignitu u vzorků, kde byla aplikována zálivka hned při setí

Vzorek	Navážka lignitu [g]	Hmotnost pytlíku [g]	Po vysušení [g]	Úbytek [g]	Úbytek [%]
107	1,5248	0,6796	2,1109	0,0935	6,13
108	1,5200	0,7575	2,1478	0,1297	8,53
109	1,5212	0,8900	2,2676	0,1436	9,43
110	1,5153	0,8992	2,2939	0,1206	7,95
111	1,5515	0,7733	2,2172	0,1076	6,93
112	1,5011	0,8124	2,1995	0,1140	7,59

Také byl pozorován značný rozdíl mezi výškou pšenice u slepých vzorků a u vzorků, kde byla aplikována zálivka hned při setí. U slepých vzorků dosahovala pšenice mnohem vyššího vzrůstu, než u vzorků se zálivkou. Pšenice u slepých vzorků byla vyšší a zelenější a měla hustší porost, zatímco vzrůst pšenice u vzorků se zálivkou byl jednoznačně menší, tak dále pšenice měla nažloutlé listy a porost byl mnohem řidší. Vzrůst pšenice ozimé u slepých vzorků zobrazuje (Obrázek 8) a vzorky s aplikací bakteriální zálivky hned po setí zobrazuje (Obrázek 9).

Tento rozdíl může být způsoben příliš brzkou aplikací bakteriální zálivky, která neměla na počáteční růst a vývoj rostliny příznivý vliv. pH bakteriální zálivky mohlo negativně ovlivnit zasetá zrna pšenice, avšak spíše došlo ke změně pH v půdě. Úroveň pH ovlivňuje dostupnost živin a má nepřímý vliv na růst rostlin, ne všechny živiny jsou ovlivněny stejně, ale většina z nich je k dispozici kořenům v rozmezí pH 5,2–6,2, tedy mírně kyselém [65].

(Obrázek 9) zobrazuje u pšenice nažloutlé listy, které mohou vznikat v důsledku nedostatku živin, což se u rostlin označuje jako chloróza. Chloróza je žloutnutí listů, které vzniká v důsledku ztráty chlorofylu [66].



Obrázek 8: Vzdělání pšenice ozimé u slepých vzorků (101 až 106)



Obrázek 9: Vzdělání pšenice ozimé u vzorků s aplikací bakteriální závlivky hned po setí (107 až 112)

U vzorků (113 až 118), kde byla aplikována bakteriální závlivka až po vzejití pšenice byly úbytky lignitu mnohem větší než u vzorků (107 až 112), kde byla závlivka aplikována hned při setí. Úbytky lignitu se pohybovaly mezi 6,61–19,29 %, až na vzorek 118 se všechny vzorky pohybovaly s úbytkem přes 10 %. Výsledky úbytku lignitu zobrazuje (Tabulka 11).

Tento rozdíl v úbytcích lignitu je nejspíše způsobem tím, že v době aplikace bakteriální závlivky byl již vytvořen kořenový systém rostliny, kde se bakterie zachytily a vytvářely vhodné půdní prostředí pro kořeny a zvyšovaly příjem živin rostlinou. V porovnání se vzorky a vzrůstem pšenice (107 až 112), kde proběhla aplikace bakteriální závlivky hned po setí, je vzrůst pšenice, až na dva vzorky (115 a 116) vyšší, pšenice je zelenější a hustší. Bakteriální závlivku je tedy vhodné aplikovat až po vytvoření kořenového systému rostlinou, což můžeme sledovat i na úbytcích lignitu. Vzrůst pšenice ozimé u vzorků po aplikaci závlivky až po jejím vzejití zobrazuje (Obrázek 10).

Tabulka 11: Úbytek lignitu u vzorků, kde byla aplikována závlivka až po vzejití pšenice ozimé

Vzorek	Navážka lignitu [g]	Hmotnost pytlíku [g]	Po vysušení [g]	Úbytek [g]	Úbytek [%]
113	1,5244	0,8527	2,1391	0,2380	15,61
114	1,5055	0,7655	2,0084	0,2626	17,44
115	1,5322	0,8208	2,0573	0,2957	19,29
116	1,5355	0,8384	2,0995	0,2744	17,87
117	1,5034	0,7438	1,9921	0,2551	16,96
118	1,502	0,7695	2,1721	0,0994	6,61



Obrázek 10: Vzrůst pšenice ozimé u vzorků, kde byla aplikována závlivka až po vzejití

U vzorků, kde vrchní vrstvu tvořil zahradnický substrát byly pozorovány vyšší úbytky lignitu jak u slepých vzorků, tak u vzorků, kde byla aplikována bakteriální záливka hned při seti. V případě slepých vzorků se úbytek lignitu pohyboval od 8,51–9,61 %. Úbytek lignitu u slepých vzorků zobrazuje (Tabulka 12).

Nejvyšší úbytek u vzorků (122 až 125), kde vrchní vrstvu tvořil substrát a byla použita bakteriální záливka hned při seti, byl pozorován nejvyšší úbytek lignitu z celého experimentu a to 26,40 % u vzorku číslo 125. Druhý nejvyšší úbytek byl u vzorku 122, kde došlo k úbytku 0,3948 g lignitu, což odpovídá 25,59 %. Úbytky lignitu se pohybovaly u třech ze čtyřech vzorků nad 20 %, což můžeme brát jako relevantní výsledky. Všechny úbytky lignitu u vzorků s vrchní substrátovou vrstvou a aplikací záливky ihned při seti zobrazuje (Tabulka 13).

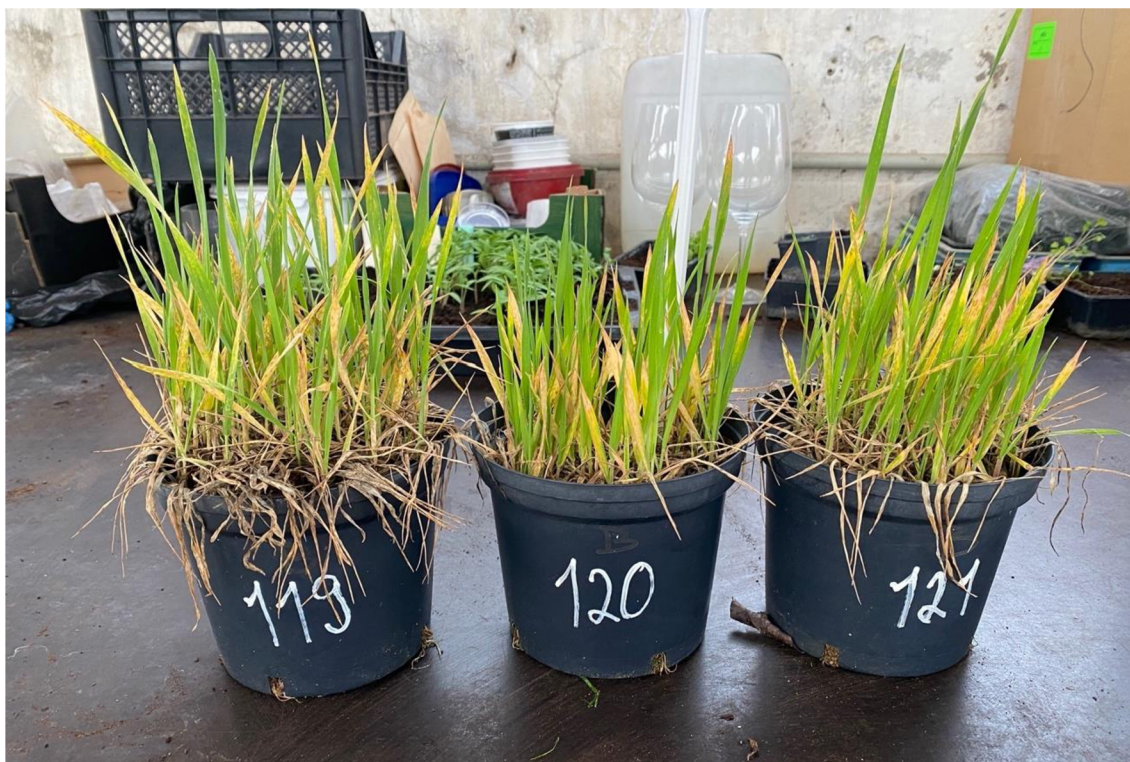
U všech vzorků s vrchní substrátovou vrstvou (vzorky 119 až 125) byl pozorován velmi nízký vzrůst pšenice ozimé a nažloutlá barva listů. Ve srovnání s ostatními vzorky byl porost mnohem řidší u vzorků se substrátem než u vzorků bez substrátu. Tento rozdíl ve vzhledu pšenice ozimé může být způsoben právě přidáním zahradnického substrátu, který měl nevyhovující pH pro růst pšenice. pH pěstebního zahradnického substrátu TS 3 se pohybuje v rozmezí 5,5–6,5. Pšenice ozimá je pravděpodobně citlivější ke kyselému půdnímu pH, které jí bylo uměle vytvořeno a z tohoto důvodu byl redukován potřebný příjem živin a rostlina je tedy menší, má řidší porost a nažloutlé listy. Vzrůst pšenice ozimé u slepých vzorků se substrátem zobrazuje (Obrázek 11) a u vzorků se substrátem a bakteriální záливkou (Obrázek 12). V budoucnu by bylo potřebné zvolit vhodnější pěstební substrát, nebo v tomto případě oseti jinou rostlinou, které by nevadilo kyselější půdní pH [67].

Tabulka 12: Úbytek lignitu u slepých vzorků s vrchní substrátovou vrstvou

Vzorek	Navážka lignitu [g]	Hmotnost pytlíku [g]	Po vysušení [g]	Úbytek [g]	Úbytek [%]
119	1,5323	0,7969	2,1888	0,1404	9,61
120	1,5108	0,8152	2,1973	0,1287	8,51
121	1,5063	0,7794	2,1498	0,1359	9,02

Tabulka 13: Úbytek lignitu u vzorků s vrchní substrátovou vrstvou a záливkou hned při seti

Vzorek	Navážka lignitu [g]	Hmotnost pytlíku [g]	Po vysušení [g]	Úbytek [g]	Úbytek [%]
122	1,5425	0,7112	1,8589	0,3948	25,59
123	1,5101	0,7439	1,9683	0,2857	18,91
124	1,5138	0,7365	1,9402	0,3101	20,48
125	1,5148	0,7883	1,9031	0,4000	26,40



Obrázek 11: Vzdělání pšenice ozimé u slepých vzorků s vrchní substrátovou vrstvou



Obrázek 12: Vzdělání pšenice ozimé u vzorků s vrchní substrátovou vrstvou a aplikací bakteriální závlivky hned při seti

Pro větší úspěšnost experimentu, by bylo dobré do budoucna vyřešit problém s prorůstáním kořenů dovnitř lignitových pytlíků. Uvnitř některých lignitových pytlíků prorostl a vznikl kořenový systém (Obrázek 13), který z pytlíku nelze vyjmout, protože by při vyjmutí kořenů došlo k vysypání lignitu a tím pádem, ke zkreslení výsledků. V případě vzorku 118 byly kořeny tak prorostlé skrze pytlík, že nebylo možné některé kořeny odstranit a zůstaly uvnitř pytlíku, což znamená nechtěnou hmotnost, která je následně připočítána k hmotnosti lignitu a dochází ke zkreslení výsledků. Při odstranění všech kořenů z pytlíků by úbytek lignitu byl pravděpodobně vyšší, protože nyní kořeny, které byly prorostlé dovnitř byly připočítány ke hmotnosti lignitu. Vzhled lignitového pytlíku u vzorku 118 zobrazuje (Obrázek 14).



Obrázek 13: Kořenový systém uvnitř lignitového pytlíku

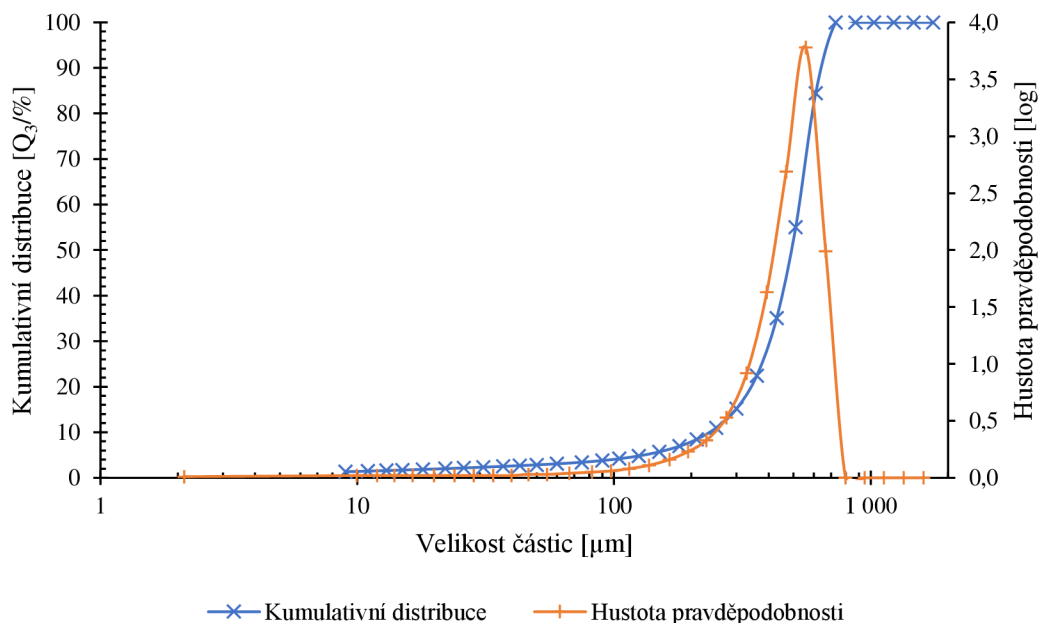


Obrázek 14: Vzhled lignitového pytlíku u vzorku 118

3.6 Laserová difrakce částic

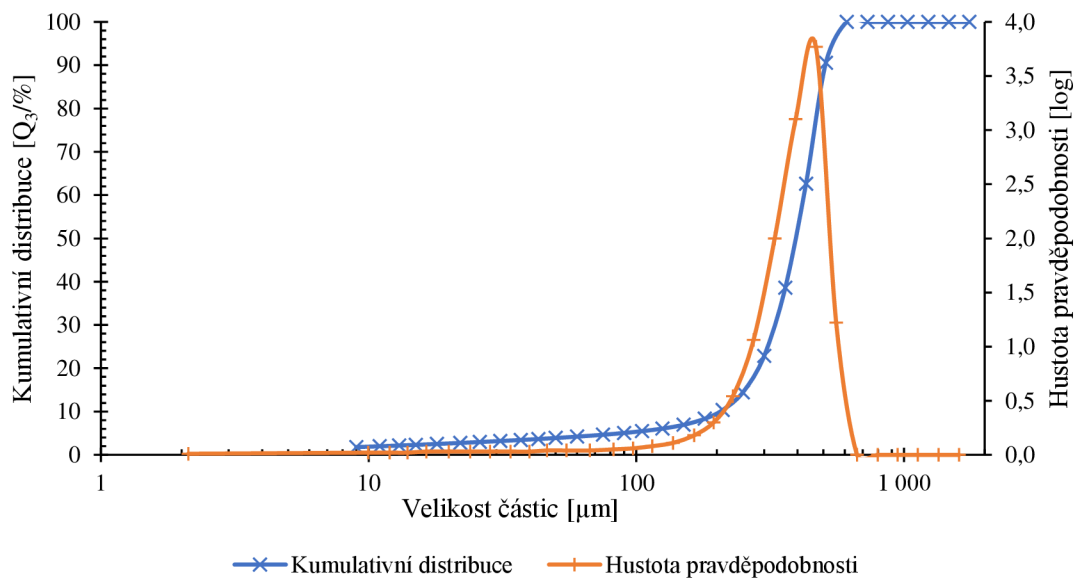
Laserová difrakce částic byla provedena u čtyřech vzorků o dvou různých velikostech částic. U prvních dvou vzorků se velikost částic pohybovala mezi 0,5 až 1,0 mm, přičemž u zbylých dvou vzorků byla velikost částic pod 0,5 mm. Každý vzorek byl změřen dvakrát, data byla zprůměrována a byly vytvořeny grafy distribuce částic v logaritmickém měřítku pro každý vzorek.

U vzorku A s velikostí částic pod 0,5 mm byl medián částic 365,6 μm , nejčastěji vyskytující se velikost částic ve vzorku neboli modus byl 468,29 μm a aritmetický průměr všech změřených částic byl 346,74 μm . Ze všech změřených částic 10 % částic mělo menší velikost než 180,17 μm , 25 % ze všech částic mělo velikost menší než 283,64 μm , 50 % ze všech částic mělo velikost menší než 372,93 μm , 90 % ze všech částic mělo velikost menší než 497,66 μm a 99 % ze všech částic mělo velikost menší než 593,52 μm . Graf distribuce částic u vzorku A s velikostí částic pod 0,5 mm zobrazuje (Obrázek 15).



Obrázek 15: Graf distribuce velikosti částic v logaritmickém měřítku u vzorku částic pod 0,5 mm, vzorek A

U vzorku B s velikostí částic pod 0,5 mm byl medián částic 394,32 μm , nejčastěji vyskytující se velikost částic ve vzorku neboli modus byl 468,29 μm a aritmetický průměr všech změřených částic byl 374,43 μm . Ze všech změřených částic 10 % částic mělo menší velikost než 200,57 μm , 25 % částic mělo menší velikost než 306,98 μm , 50 % částic mělo menší velikost než 394,32 μm , 90 % částic mělo menší velikost než 514,08 μm a 99 % částic mělo menší velikost než 600,46 μm . Graf distribuce velikosti částic u vzorku B s velikostí částic pod 0,5 mm zobrazuje (Obrázek 16).

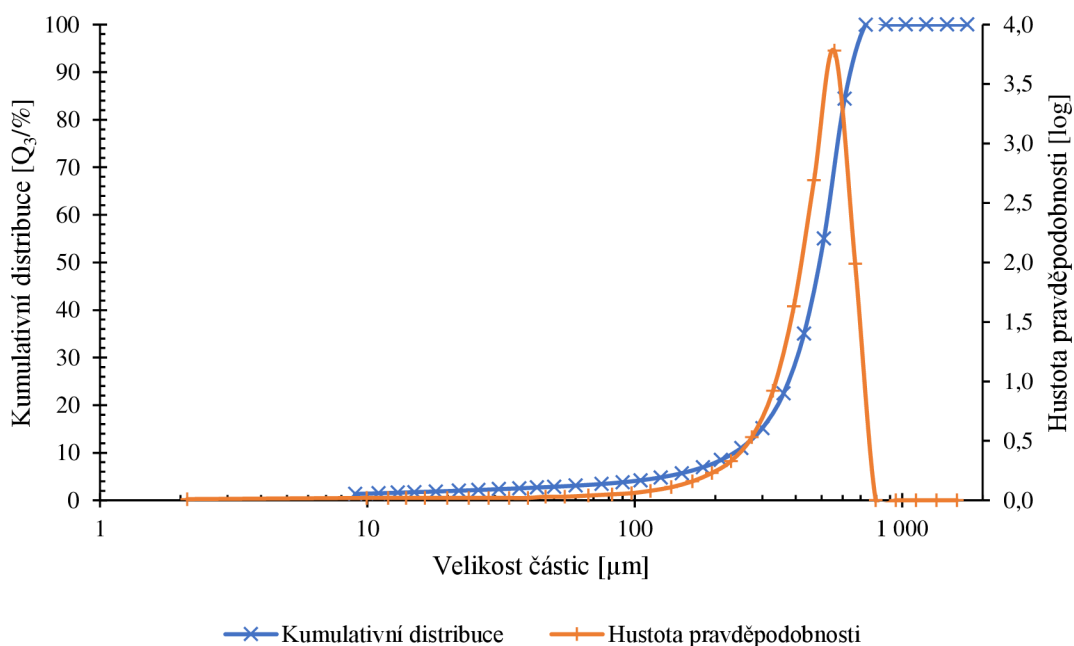


Obrázek 16: Graf distribuce velikosti částic v logaritmickém měřítku u vzorku částic pod 0,5 mm, vzorek B

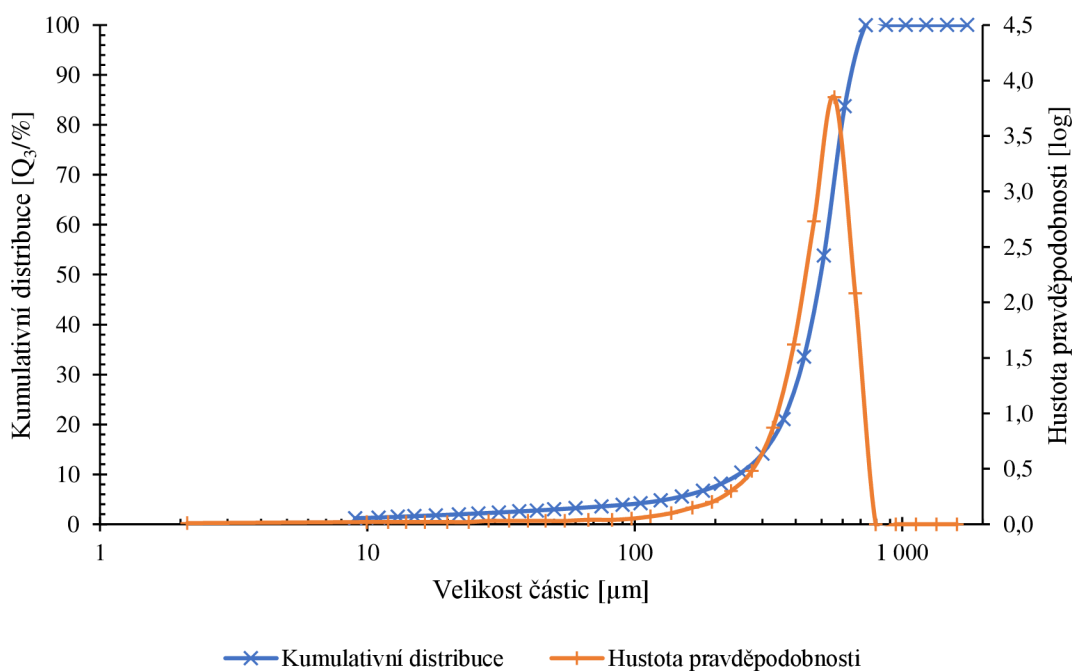
U vzorku A s velikostí částic 0,5 až 1,0 mm byl medián částic 489,83 μm , nejčastěji vyskytující se velikost částic ve vzorku neboli modus byl 557,76 μm a aritmetický průměr všech změřených částic byl 462,43 μm . Ze všech změřených částic 10 % částic mělo velikost menší než 234,47 μm , 25 % částic mělo velikost menší než 374,08 μm , 50 % částic mělo velikost menší než 489,83 μm , 90 % částic mělo velikost menší než 652,95 μm a 99 % částic mělo velikost menší než 722,52 μm . Graf distribuce částic u vzorku A s velikostí částic 0,5 až 1,0 mm zobrazuje (Obrázek 17).

U vzorku B s velikostí částic 0,5 až 1,0 mm byl medián částic 495,02 μm , nejčastěji vyskytující se velikost částic ve vzorku neboli modus byl 557,76 μm a aritmetický průměr všech změřených částic byl 467,45 μm . Ze všech změřených částic 10 % částic mělo velikost menší než 244,09 μm , 25 % částic mělo velikost menší než 382,17 μm , 50 % částic mělo velikost menší než 495,02 μm , 90 % částic mělo velikost menší než 656,38 μm a 99 % částic mělo velikost menší než 722,84 μm . Graf distribuce částic u vzorku A s velikostí částic 0,5 až 1,0 mm zobrazuje (Obrázek 18).

U lignitu, který byl používán byla velikost částic větší než 1,0 mm, avšak nebylo možné na přístroji změřit částice větší než 1,0 mm, jelikož docházelo k ucpaní trysky a bylo znemožněno další měření. Vzorky lignitu byly změřeny na Ústavu chemie materiálů Ing. Michalem Markem.



Obrázek 17: Graf distribuce velikosti částic v logaritmickém měřítku u vzorku částic o velikosti 0,5 až 1,0 mm, vzorek A



Obrázek 18: Graf distribuce velikosti částic v logaritmickém měřítku u vzorku částic o velikosti 0,5 až 1,0 mm, vzorek B

4. ZÁVĚR

Cílem této práce bylo studium lignitu v modelových prostředích a stanovení základních postupů a kroků u bakteriální degradace lignitu. V případě bakteriální degradace byl lignit degradován pomocí kompostových bakterií, které byly v prostředí komplexního a minerálního média. Degradace probíhala jak při laboratorní teplotě, tak i při teplotě 37 °C, kde se jako vhodnější ukázala zvýšená teplota, kterou bakterie pravděpodobně potřebují k množení a následně k lepším a rychlejším rozkladným procesům. Při teplotě 20 °C došlo také k úbytkům lignitu, avšak tyto úbytky nedosahovaly takových výsledků jako při zvýšené teplotě.

V případě výběru vhodného média pro bakterie, kde bude docházet k degradaci lignitu se více osvědčilo minerální médium a to z důvodu, že obsahuje pouze základní prvky potřebné pro život a malé množství glukózy, které se po čase vyčerpá a bakterie jsou donuceny vyhledat jiný zdroj uhlíku. V případě komplexního média bakterie dostanou všechny nutrienty přímo v médiu, proto u komplexního média, nedocházelo k takovým úbytkům jako u média minerálního.

Degradace v nádobových pokusech probíhala po dobu 6 měsíců, kde byly simulovány přirozené podmínky pole. V prostředí písčité a nutričně chudé půdy úbytky lignitu nedosahovaly takových výsledků, jako při nahrazení vrchní vrstvy půdy komerčním substrátem. Další faktor, který ovlivňoval míru degradace lignitu byla bakteriální zálivka, která u některých vzorků byla aplikována hned při setí a u jiných až po vzejití pšenice ozimé. V případě aplikace bakteriální zálivky ihned při setí, nebyl vytvořen kořenový systém rostliny, což pravděpodobně znamenalo, že bakterie se neměly kde uchytit a zálivka pouze protékla zeminou, bez většího efektu. Avšak při aplikaci bakteriální zálivky až po vzejití rostliny a vytvoření kořenového systému, se bakterie mohly uchytit v kořenovém systému rostliny, kde mohly přispívat ke vstřebávání živin rostlinou a vytváření vhodného půdního prostředí. Z tohoto důvodu bych do budoucna doporučila aplikaci bakteriální zálivky až po vytvoření kořenového systému rostliny.

V porovnání s výsledky z minulých experimentů, které byly provedeny přímo na poli, odkud byla použita půda na simulaci degradace v půdním prostředí, jsou úbytky lignitu mnohem markantnější. V minulých letech se úbytky na poli, kde docházelo k degradaci také po dobu 6 měsíců, pohybovaly nejvýše do 3 %, bez použití bakteriální zálivky. Nyní za použití bakteriální zálivky bylo dosaženo vyšších úbytků lignitu, avšak do budoucna by bylo vhodné optimalizovat prorůstání kořenů skrze lignitové pytlíky, výběr vhodnějšího zahradnického pěstebního substrátu s nižším pH, který by byl vhodnější pro růst pšenice ozimé.

Lignit je degradovatelný mikroorganismy půdního prostředí nebo kořenovými exudáty rostlin, avšak v reálně půdě bude horší dostupnost a přístupnost degradačních činitelů k lignitu než u modelových pokusů. V případě modelových pokusů byl se dalo říci, že lignit byl formě suspenze v dostatečně velkém objemu kapalného prostředí s degradujícím činidlem, proto je jeho degradace v půdním prostředí pomalá, nicméně reálná a navíc může docházet k dodávání organické hmoty silně minerální půdě po dlouhou dobu.

LITERATURA

- [1] ROUBÍČEK, Václav a Jaroslav BUCHTELE. Uhlí. Ostrava: MONTANEX, 2002. Odborné publikace. ISBN 80-7225-063-9.
- [2] OREM, W.H. a R.B. FINKELMAN. Coal Formation and Geochemistry. *Treatise on Geochemistry*. Elsevier, 2003, 2003, 191-222. ISBN 9780080437514. Dostupné z: doi:10.1016/B0-08-043751-6/07097-3
- [3] AHAMED, M.A.A., M.S.A. PERERA, S.K. MATTHAI, P.G. RANJITH a Li DONG-YIN. Coal composition and structural variation with rank and its influence on the coal-moisture interactions under coal seam temperature conditions – A review article. *Journal of Petroleum Science and Engineering*. 2019, **180**, 901-917. ISSN 09204105. Dostupné z: doi:10.1016/j.petrol.2019.06.007
- [4] HAENEL, Matthias W., 1992. Recent progress in coal structure research. *Fuel*. **71**(11), 1211-1223. ISSN 00162361. Dostupné z: doi:10.1016/0016-2361(92)90046-Q
- [5] KILLOPS, Stephen a Vanessa KILLOPS. An introduction to organic geochemistry. 2. vyd. Oxford: Wiley-Blackwell, 2005. ISBN 978-0-6320-6504-2.
- [6] KELEMEN, S. R., M. L. GORBATY a P. J. KWIATEK, 1994. *Quantification of Nitrogen Forms in Argonne Premium Coals*. **8**(4), 896-906. ISSN 0887-0624. Dostupné z: doi:10.1021/ef00046a013
- [7] BOUDOU, J. P. a J. ESPITALIÉ. Molecular nitrogen from coal pyrolysis: Kinetic modelling. *Chemical Geology*. 1995, roč. 126, 3-4, 319–333.
- [8] MIKULÁŠKOVÁ, Barbora, Lubomír LAPČÍK, JR. a Ivan MAŠEK. LIGNIT - STRUKTURA, VLASTNOSTI A POUŽITÍ. *Chem. Listy*. 1997, **1996**(91), 160-168.
- [9] RASHID, Tazien, Farooq SHER, Mazura JUSOH, Tayab Ali JOYA, Shengfu ZHANG, Tahir RASHEED a Eder C. LIMA. Parametric optimization and structural feature analysis of humic acid extraction from lignite. *Environmental Research*. 2023, **220**. ISSN 00139351. Dostupné z: doi:10.1016/j.envres.2022.115160
- [10] LIU, Siwei, Yuting ZHU, Yuhe LIAO, Haiyong WANG, Qiying LIU, Longlong MA a Chenguang WANG. Advances in understanding the humins: Formation, prevention and application. *Applications in Energy and Combustion Science*. 2022, **10**. ISSN 2666352X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaecs.2022.100062
- [11] MARZEC, Anna. Towards an understanding of the coal structure: a review. *Fuel Processing Technology*. 2002, **77-78**, 25-32. ISSN 03783820. Dostupné z: doi:10.1016/S0378-3820(02)00045-0
- [12] SHI, Lei, Qingya LIU, Xiaojin GUO, Weize WU a Zhenyu LIU. Pyrolysis behavior and bonding information of coal — A TGA study. *Fuel Processing Technology*. 2013, **108**, 125-132. ISSN 03783820. Dostupné z: doi:10.1016/j.fuproc.2012.06.023

- [13] SUPALUKNARI, S., F.P. LARKINS, P. REDLICH a W.R. JACKSON. Determination of aromaticities and other structural features of Australian coals using solid state ¹³C NMR and FTIR spectroscopies. *Fuel Processing Technology*. 1989, **23**(1), 47-61. ISSN 03783820. Dostupné z: doi:10.1016/0378-3820(89)90043-X
- [14] OBERLIN, A. Application of dark-field electron microscopy to carbon study. *Carbon*. 1979, **17**(1), 7-20. ISSN 00086223. Dostupné z: doi:10.1016/0008-6223(79)90065-4
- [15] OREM, W.H. a R.B. FINKELMAN. Coal Formation and Geochemistry. *Treatise on Geochemistry*. Elsevier, 2014, 2014, 207-232. ISBN 9780080983004. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-095975-7.00708-7
- [16] HE, Xueqiu, Xianfeng LIU, Baisheng NIE a Dazhao SONG. FTIR and Raman spectroscopy characterization of functional groups in various rank coals. *Fuel*. 2017, **206**, 555-563. ISSN 00162361. Dostupné z: doi:10.1016/j.fuel.2017.05.101
- [17] MANOJ, B. *A comprehensive analysis of various structural parameters of Indian coals with the aid of advanced analytical tools*. 2016, **3**(2), 123-132. ISSN 2095-8293. Dostupné z: doi:10.1007/s40789-016-0134-1
- [18] WANG, Ruwei a Guijian LIU. Variations of concentration and composition of polycyclic aromatic hydrocarbons in coals in response to dike intrusion in the Huainan coalfield in eastern China. *Organic Geochemistry*. 2015, **83-84**, 202-214. ISSN 01466380. Dostupné z: doi:10.1016/j.orggeochem.2015.03.014
- [19] SCHAFER, H.N.S. Carboxyl groups and ion exchange in low-rank coals. *Fuel*. 1970, **49**(2), 197-213. ISSN 00162361. Dostupné z: doi:10.1016/0016-2361(70)90040-2
- [20] SEKHOLA, Lerato M., Eric E. IGBINIGIE a A. Keith COWAN. Biological degradation and solubilisation of coal. *Biodegradation*. 2013, **24**(3), 305-318. ISSN 0923-9820. Dostupné z: doi:10.1007/s10532-012-9594-1
- [21] SEN, Raja, Sunil K. SRIVASTAVA a Madam M. SINGH. Role of instrumental techniques in studies on wet oxidation of coal: A review. 2005, (12), 719-726. Dostupné z: [https://nopr.niscpr.res.in/bitstream/123456789/8697/1/IJCT%2012\(6\)%20719-726.pdf](https://nopr.niscpr.res.in/bitstream/123456789/8697/1/IJCT%2012(6)%20719-726.pdf)
- [22] MIURA, Kouichi, Kazuhiro MAE, Hajime OKUTSU a Nori-aki MIZUTANI. *New Oxidative Degradation Method for Producing Fatty Acids in High Yields and High Selectivity from Low-Rank Coals*. 1996, 2005, **10**(6), 1196-1201. ISSN 0887-0624. Dostupné z: doi:10.1021/ef960051a
- [23] ALLARD, Béatrice a Sylvie DERENNE, 2007. Oxidation of humic acids from an agricultural soil and a lignite deposit: Analysis of lipophilic and hydrophilic products. *Organic Geochemistry*. **38**(12), 2036-2057. ISSN 01466380. Dostupné z: doi:10.1016/j.orggeochem.2007.08.005

- [24] OTTO, Angelika a Myrna J. SIMPSON. Evaluation of CuO oxidation parameters for determining the source and stage of lignin degradation in soil. *Biogeochemistry*. 2006, **80**(2), 121-142. ISSN 0168-2563. Dostupné z: doi:10.1007/s10533-006-9014-x
- [25] WYSOCKI, Laura A., Timothy R. FILLEY a Thomas S. BIANCHI. Comparison of two methods for the analysis of lignin in marine sediments: CuO oxidation versus tetramethylammonium hydroxide (TMAH) thermochemolysis. *Organic Geochemistry*. 2008, **39**(10), 1454-1461. ISSN 01466380. Dostupné z: doi:10.1016/j.orggeochem.2008.06.004
- [26] LEHTONEN, Keijo, Kari HÄNNINEN a Martti KETOLA, 2001. Structurally bound lipids in peat humic acids. *Organic Geochemistry*. **32**(1), 33-43. ISSN 01466380. Dostupné z: doi:10.1016/S0146-6380(00)00158-3
- [27] HEYDARI, Mehran, Moshfiqur RAHMAN a Rajender GUPTA. Kinetic Study and Thermal Decomposition Behavior of Lignite Coal. *International Journal of Chemical Engineering*. 2015, **2015**, 1-9. ISSN 1687-806X. Dostupné z: doi:10.1155/2015/481739
- [28] CHABBI, Abad, Cornelia RUMPEL, Pieter M. GROOTES, José A. GONZÁLEZ-PÉREZ, Roland D. DELAUNE, Francisco GONZALEZ-VILA, Brigitte NIXDORF a Reinhard F. HÜTTL. Lignite degradation and mineralization in lignite-containing mine sediment as revealed by ¹⁴C activity measurements and molecular analysis. *Organic Geochemistry*. 2006, **37**(8), 957-976. ISSN 01466380. Dostupné z: doi:10.1016/j.orggeochem.2006.02.002
- [29] SOLOMON, P. R., M. A. SERIO, R. M. CARANGELO, R. BASSILAKIS, D. GRAVEL, M. BAILLARGEON, F. BAUDAIS a G. VAIL, 1990. *Analysis of the Argonne premium coal samples by thermogravimetric Fourier transform infrared spectroscopy*. **4**(3), 319-333. ISSN 0887-0624. Dostupné z: doi:10.1021/ef00021a017
- [30] MACPHEE, J.A., J.-P. CHARLAND a L. GIROUX, 2006. Application of TG-FTIR to the determination of organic oxygen and its speciation in the Argonne premium coal samples. *Fuel Processing Technology*. **87**(4), 335-341. ISSN 03783820. Dostupné z: doi:10.1016/j.fuproc.2005.10.004
- [31] MAVRIDOU, Evangelia, Prodromos ANTONIADIS, Ralf LITTKKE, Andreas LÜCKE a Bernhard M. KROOSS. Liberation of volatiles from Greek lignites during open system non-isothermal pyrolysis. *Organic Geochemistry*. 2008, **39**(8), 977-984. ISSN 01466380. Dostupné z: doi:10.1016/j.orggeochem.2008.01.006
- [32] YANG, Haiping, Rong YAN, Hanping CHEN, Dong Ho LEE a Chuguang ZHENG, 2007. Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel*. **86**(12-13), 1781-1788. ISSN 00162361. Dostupné z: doi:10.1016/j.fuel.2006.12.013

- [33] LIU, Qian, Zhaoping ZHONG, Shurong WANG a Zhongyang LUO. Interactions of biomass components during pyrolysis: A TG-FTIR study. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2011, **90**(2), 213-218. ISSN 01652370. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaap.2010.12.009
- [34] SEKHOLA, Lerato M., Eric E. IGBINIGIE a A. Keith COWAN. Biological degradation and solubilisation of coal. *Biodegradation*. 2013, **24**(3), 305-318. ISSN 0923-9820. Dostupné z: doi:10.1007/s10532-012-9594-1
- [35] KÖGEL-KNABNER, Ingrid, 2000. Analytical approaches for characterizing soil organic matter. *Organic Geochemistry*. **31**(7-8), 609-625. ISSN 01466380. Dostupné z: doi:10.1016/S0146-6380(00)00042-5
- [36] Kirk T. Semple, Ronald B. Cain, Stefan Schmidt, Biodegradation of aromatic compounds by microalgae, *FEMS Microbiology Letters*, Volume **170**, Issue 2, January 1999, Pages 291–300, <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13386.x>
- [37] Annele Hatakka, Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role from in lignin degradation, *FEMS Microbiology Reviews*, Volume **13**, Issue 2-3, March 1994, Pages 125–135, <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1994.tb00039.x>
- [38] YIN, Sudong, Xiuxiang TAO, Kaiyi SHI, Wenxuan HU, Bernhard M. KROOSS, Francisco GONZALEZ-VILA, Brigitte NIXDORF a Reinhard F. HÜTTL. The role of surfactants in coal bio-solubilisation: FTIR Analyses of Experimental Simulations and Naturally Matured Coals in the Ordos Basin, China. *Fuel Processing Technology*. 2011, 2005, **92**(8), 1554-1559. ISSN 03783820. Dostupné z: doi: 10.1016/j.fuproc.2011.03.019
- [39] ZAVARZINA, A.G, A.A LEONTIEVSKY, L.A GOLOVLEVA a S.Ya TROFIMOV, 2004. Biotransformation of soil humic acids by blue laccase of *Panus tigrinus* 8/18: an in vitro study. *Soil Biology and Biochemistry*. **36**(2), 359-369. ISSN 00380717. Dostupné z: doi:10.1016/j.soilbio.2003.10.010
- [40] CRAWFORD, Don L., Anthony L. POMETTO a Ronald L. CRAWFORD. Lignin Degradation by *Streptomyces viridosporus*: Isolation and Characterization of a New Polymeric Lignin Degradation Intermediate. *Applied and Environmental Microbiology*. 1983, **45**(3), 898-904. ISSN 0099-2240. Dostupné z: doi:10.1128/aem.45.3.898-904.1983
- [41] VICUÑA, Rafael, Anthony L. POMETTO a Ronald L. CRAWFORD. Bacterial degradation of lignin: Isolation and Characterization of a New Polymeric Lignin Degradation Intermediate. *Enzyme and Microbial Technology*. 1988, **10**(11), 646-655. ISSN 01410229. Dostupné z: doi:10.1016/0141-0229(88)90055-5
- [42] MARZEC, Anna, Anthony L. POMETTO, Ronald L. CRAWFORD, S.Ya TROFIMOV, Bernhard M. KROOSS, Francisco GONZALEZ-VILA, Brigitte NIXDORF a Reinhard F. HÜTTL. Towards an understanding of the coal structure: a review. *Fuel Processing Technology*. 2002, 2005, **77-78**(11), 25-32. ISSN 03783820. Dostupné z: doi:10.1016/S0378-3820(02)00045-0

- [43] HAICHAR, Feth el Zahar, Christine MAROL, Odile BERGE, J Ignacio RANGEL-CASTRO, James I PROSSER, Jérôme BALESSENT, Thierry HEULIN a Wafa ACHOUAK. Plant host habitat and root exudates shape soil bacterial community structure: a review. *The ISME Journal*. 2008, **2**(12), 1221-1230. ISSN 1751-7362. Dostupné z: doi:10.1038/ismej.2008.80
- [44] MILLARD, P., B. K. SINGH, Odile BERGE, J Ignacio RANGEL-CASTRO, James I PROSSER, Jérôme BALESSENT, Thierry HEULIN a Wafa ACHOUAK. Does grassland vegetation drive soil microbial diversity?: a review. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 2010, **88**(2), 147-158. ISSN 1385-1314. Dostupné z: doi:10.1007/s10705-009-9314-3
- [45] ACHI, Ome K., B. K. SINGH, Odile BERGE, J Ignacio RANGEL-CASTRO, James I PROSSER, Jérôme BALESSENT, Thierry HEULIN a Wafa ACHOUAK. Growth and coal-solubilizing activity of *Penicillium simplicissimum* on coal-related aromatic compounds: a review. *Bioresource Technology*. 1994, **48**(1), 53-57. ISSN 09608524. Dostupné z: doi:10.1016/0960-8524(94)90136-8
- [46] PEKAŘ, M.; SÝKOROVÁ, I.; KOUTNÍK, I.; KLUČÁKOVÁ, M.; HAVELCOVÁ, M.; MIZERA, J.; OMELKA, L.; VESELÝ, M.; VESELÝ, T. Progressive and Efficient Non- energy Applications of Lignite. *Acta Research Reports*, 2009, roč. 6, č. 18, s. 11-15. ISSN: 1214- 9691.
- [47] WAN, Keji, Yawen XIAO, Jinjin FAN, Zhenyong MIAO, Guoqiang WANG, Shuwen XUE, Thierry HEULIN a Wafa ACHOUAK. Preparation of high-capacity macroporous adsorbent using lignite-derived humic acid and its multifunctional binding chemistry for heavy metals in wastewater: a review. *Journal of Cleaner Production*. 2022, **363**(1), 53-57. ISSN 09596526. Dostupné z: doi:10.1016/j.jclepro.2022.132498
- [48] TREVISAN, Sara, Ornella FRANCIOSO, Silvia QUAGGIOTTI, Serenella NARDI, Guoqiang WANG, Shuwen XUE, Thierry HEULIN a Wafa ACHOUAK. Humic substances biological activity at the plant-soil interface: a review. *Journal of Cleaner Production*. 2014, **5**(6), 635-643. ISSN 1559-2324. Dostupné z: doi:10.4161/psb.5.6.11211
- [49] KRÓL-DOMAŃSKA,, Katarzyna a Beata SMOLIŃSKA. Advantages of lignite addition in purification process of soil polluted by heavy metals. *Biotechnol Food Sci* . Institute of General Food Chemistry, Lodz University of Technology, 90-924 Lodz, Poland, 2012, 2012, **76**(1), 51-58.
- [50] SCHOBERT, H.H, C SONG, Silvia QUAGGIOTTI, Serenella NARDI, Guoqiang WANG, Shuwen XUE, Thierry HEULIN a Wafa ACHOUAK. Chemicals and materials from coal in the 21st century: a review. *Fuel*. 2002, **81**(1), 15-32. ISSN 00162361. Dostupné z: doi:10.1016/S0016-2361(00)00203-9

- [51] SONG, Chunshan, Harold H. SCHOBERT, Silvia QUAGGIOTTI, Serenella NARDI, Guoqiang WANG, Shuwen XUE, Thierry HEULIN a Wafa ACHOUAK. Opportunities for developing specialty chemicals and advanced materials from coals: a review. *Fuel Processing Technology*. 1993, **34**(2), 157-196. ISSN 03783820. Dostupné z: doi:10.1016/0378-3820(93)90098-O
- [52] OZBAYOGLU, Gulhan, Harold H. SCHOBERT, Silvia QUAGGIOTTI, Serenella NARDI, Guoqiang WANG, Shuwen XUE, Thierry HEULIN a Wafa ACHOUAK. 3.19 Energy Production From Coal: a review. *Comprehensive Energy Systems. Elsevier*, 2018, 2018, **34**(2), 788-821. ISBN 9780128149256. ISSN 03783820. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-809597-3.00341-2
- [53] MARSALEK, Roman, Marketa SASSIKOVA, Silvia QUAGGIOTTI, Serenella NARDI, Guoqiang WANG, Shuwen XUE, Thierry HEULIN a Wafa ACHOUAK. Characterization of the size distribution of subbituminous coal by laser diffraction: a review. *Comprehensive Energy Systems. Elsevier*, 2015, 2018, **44**(3), 233-240. ISBN 9780128149256. ISSN 1073-9149. Dostupné z: doi:10.1080/10739149.2015.1113429
- [54] DARDER, María Liliana, Antonio PAZ-GONZÁLEZ, Aitor GARCÍA-TOMILLO, Marcos LADO, Marcelo German WILSON, Shuwen XUE, Thierry HEULIN a Wafa ACHOUAK. Comparing multifractal characteristics of soil particle size distributions calculated by Mie and Fraunhofer models from laser diffraction measurements: a review. *Applied Mathematical Modelling. Elsevier*, 2021, 2018, **94**(3), 36-48. ISBN 9780128149256. ISSN 0307904X. Dostupné z: doi:10.1016/j.apm.2020.12.044
- [55] KIPPAX, Paul. Appraisal of the Laser Diffraction Particle-Sizing Technique. *Pharmaceutical Technology*. 2005, 88-96.
- [56] GRUBBS, Jack, Kyle TSAKNOPOULOS, Christopher MASSAR, et al. Comparison of laser diffraction and image analysis techniques for particle size-shape characterization in additive manufacturing applications: a review. *Powder Technology. Elsevier*, 2021, 2018, **391**(3), 20-33. ISBN 9780128149256. ISSN 00325910. Dostupné z: doi:10.1016/j.powtec.2021.06.003
- [57] BITTELLI, Marco, Sergio PELLEGRINI, Roberto OLMÍ, et al. Experimental evidence of laser diffraction accuracy for particle size analysis: a review. *Geoderma. Elsevier*, 2022, 2018, **409**(3), 20-33. ISBN 9780128149256. ISSN 00167061. Dostupné z: doi:10.1016/j.geoderma.2021.115627
- [58] SEKAR, Sudharshan, Surianarayanan MAHADEVAN, Sathish Sundar Dhilip KUMAR, et al. Thermokinetic responses of the metabolic activity of *Staphylococcus lentus* cultivated in a glucose limited mineral salt medium: a review. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. Elsevier*, 2011, 2018, **104**(1), 149-155. ISBN 9780128149256. ISSN 1388-6150. Dostupné z: doi:10.1007/s10973-010-1121-1

- [59] OLIVIER, Charl Francois. An investigation into the degradation of biochar and its interactions with plants and soil microbial community. JAR, 2011. MASTER OF SCIENCE IN AGRICULTURE. In the department of Soil Science, Faculty of AgriSciences, Stellenbosch University.
- [60] SOUKUPOVÁ, Lenka. Stanovení forem mědi ve viničných půdách. Praha, 2007. Bakalářská práce. Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Oddělení geochemie a mineralogie (zrušeno). Vedoucí práce Mihaljevič, Martin.
- [61] YAO, Suping, Ke ZHANG, Kun JIAO a Wenxuan HU. *Evolution of Coal Structures: FTIR Analyses of Experimental Simulations and Naturally Matured Coals in the Ordos Basin, China*. 2011, **29**(1), 1-19. ISSN 0144-5987. Dostupné z: doi:10.1260/0144-5987.29.1.1
- [62] STRAKA, P. a J. ENDRÝSOVÁ. Using DRIFT spectrometry with PLS method for determination of oxygen functionalities in heterogeneous materials. *Chemical papers*. 1999, roč. 53, č. 5, s. 283–287.
- [63] SOLOMON, Peter R. a Robert M. CARANGELO. FTIR analysis of coal. 1. techniques and determination of hydroxyl concentrations. *Fuel*. 1982, **61**(7), 663-669. ISSN 00162361. Dostupné z: doi:10.1016/0016-2361(82)90014-X
- [64] DOSKOČIL, Leoš, Laurent GRASSET, Dana VÁLKOVÁ a Miloslav PEKAŘ. Hydrogen peroxide oxidation of humic acids and lignite. *Fuel*. 2014, **134**, 406-413. ISSN 00162361. Dostupné z: doi:10.1016/j.fuel.2014.06.011
- [65] GENTILI, Rodolfo, Roberto AMBROSINI, Chiara MONTAGNANI, Sarah CARONNI a Sandra CITTERIO. Effect of Soil pH on the Growth, Reproductive Investment and Pollen Allergenicity of *Ambrosia artemisiifolia* L. *Frontiers in Plant Science*. 2018, **9**. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2018.01335
- [66] ZHAO, R. N., R. WANG, N. WANG, Z. F. FAN, T. ZHOU, Y. C. SHI a M. CHAI. First Report of Tomato chlorosis virus in China. *Plant Disease*. 2013, **97**(8), 1123-1123. ISSN 0191-2917. Dostupné z: doi:10.1094/PDIS-12-12-1163-PDN
- [67] PŠENICE OZIMÁ. *Limagrain*. Dostupné z: <https://lc.lgseeds.cz/agrotechnika/psenice-ozima/>

SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK

Zkratky:

DNA	Deoxyribonukleová kyselina
DTG	Termogravimetrický termogram
ECE–UN	Evropská hospodářská komise OSN
FTIR	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
IR	Infračervené záření
PE	Polyethylen
PP	Polypropylen
PUR	Polyuretan
PVC	Polyvinylchlorid
NMR	Nukleární magnetická rezonance
TEM	Transmisní elektronová mikroskopie
TGA	Termogravimetrická analýza
XRD	Rentgenová difrakce