



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

DISTRIBUCE ORGANICKÉ HMOTY VZORKU BIOUHLU

DISTRIBUTION OF THE ORGANIC MATTER IN A SAMPLE OF BIOCHAR

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Maximilián Novotný

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Michal Kalina, Ph.D.

BRNO 2020

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1496/2019 Akademický rok: 2019/20
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Student: **Maximilián Novotný**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Spotřební chemie
Vedoucí práce: **Ing. Michal Kalina, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Distribuce organické hmoty vzorku biouhlu

Zadání bakalářské práce:

- 1) Vypracovat rešerši v oblasti charakterizace organické hmoty biouhlu.
- 2) Seznámit se s metodikou sekvenční chemické frakcionace organické hmoty na tzv. humeomika.
- 3) Realizovat laboratorně sekvenční chemickou frakcionaci na modelovém vzorku biouhlu.
- 4) Optimalizovat metodiky charakterizace získaných frakcí organické hmoty biouhlu.
- 4) Sumarizovat získaná experimentální data a porovnat výsledky s publikovanými daty.

Termín odevzdání bakalářské práce: 31.7.2020:

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

Maximilián Novotný
student(ka)

Ing. Michal Kalina, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Táto bakalárska práca je zameraná na charakterizáciu obsahu a distribúciu organickej hmoty v biouhli. Pre tieto účely bola organická hmota z biouhlia izolovaná dvoma metodikami, konkrétne pomocou chemickej frakcionácie na tzv. „humeomiká“ a alkalickéj extrakcie. Pripravené vzorky týmito metodikami sa následne charakterizovali elementárnou analýzou a termogravimetriou. Výsledky analýz ukázali, že chemická frakcionácia na tzv. „humeomiká“ prináša vyššie výtťažky, ako alkalická extrakcia a navyše podáva detailnejší obraz na organickú hmotu biouhlia vďaka rozdeleniu podľa väzby na zdrojovú maticu. Ďalej bolo zistené, že skúmané biouhlie má vysoký potenciál ako pôdny kondicionér, obsahuje až skoro 70 % organického uhlíka, pričom vyizolované množstvo, ktoré je dostupné predstavuje iba malú časť, zvyšok je silne viazaný. Na druhej strane bola zistená pevná štruktúra biouhlia, čo prináša v súvislosti s použitím v poľnohospodárskej sfére výhody z dlhodobého hľadiska.

ABSTRACT

This bachelor's thesis is focused on characterization of the content and distribution of organic matter in a sample of biochar. For these purposes, the organic matter from a biochar sample was isolated using two procedures, specifically sequential chemical fractionation, and alkali extraction. Prepared samples were characterized by elemental analysis and thermogravimetry. Analysis results showed that sequential chemical fractionation brings higher yields than alkali extraction, moreover, it provides more detailed image of organic matter in biochar thanks to obtained separated fractions according to their linkage to the original biochar matrix. Secondly, studied biochar has a great potential as soil supplement, it contains almost 70 % of organic carbon, whilst isolated amount, which is available represent only small amount, the rest is strongly bound. On the other hand, the study showed that this specific biochar has rigid structure, which brings benefits in the context of using biochar in agriculture in long-term consideration.

KLÚČOVÉ SLOVÁ

Biouhlie, pyrolýza, biomasa, organická hmota, chemická frakcionácia

KEY WORDS

Biochar, pyrolysis, biomass, organic matter, chemical fractionation

CITÁCIA

NOVOTNÝ, Maximilián. *Distribuce organické hmoty vzorku biouhlu*. Brno, 2020. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/122837>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Michal Kalina.

PREHLÁSENIE

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

.....
podpis študenta

POĎAKOVANIE

Na tomto mieste by som v prvom rade rád poďakoval vedúcemu mojej bakalárskej práce Ing. Michalovi Kalinovi Ph.D. za vedenie počas celého procesu tvorby tejto práce. V druhom rade by som rád poďakoval najbližším kolegom, ktorí mi pomáhali počas celého bakalárskeho štúdia. Najväčšia vďaka ale patrí mojej rodine, ktorá mi vždy poskytovala ideálne podmienky pre štúdium.

OBSAH

1	ÚVOD.....	6
2	TEORETICKÁ ČASŤ.....	7
2.1	BIOUHLIE	7
2.1.1	Definícia biouhlia.....	7
2.1.2	História biouhlia.....	7
2.1.3	Vlastnosti biouhlia	7
2.1.4	Výroba	9
2.1.5	Vplyv podmienok a spôsobov prípravy na vlastnosti	11
2.1.6	Vplyv východiskového materiálu na vlastnosti	11
2.1.7	Využitie v poľnohospodárstve	12
2.2	CHEMICKÉ FRAKČIONAČNÉ POSTUPY	12
2.2.1	Alkalická extrakcia.....	13
2.2.2	Chemická frakcionácia na tzv. „humeomiká“	13
3	STAV RIEŠENEJ PROBLEMATIKY	16
4	CIEĽ PRÁCE.....	18
5	EXPERIMENTÁLNA ČASŤ	19
5.1	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A MATERIÁLY	19
5.2	POUŽITÉ PRÍSTROJE	19
5.3	CHARAKTERIZÁCIA ORGANICKEJ HMOTY BIOUHLIA	19
5.3.1	Alkalická extrakcia.....	19
5.3.2	Chemická frakcionácia na tzv. „humeomiká“	20
5.4	METÓDY CHARAKTERIZÁCIE JEDNOTLIVÝCH VZORIEK	23
5.4.1	Elementárna analýza	23
5.4.2	Termogravimetrická analýza	23
6	VÝSLEDKY A DISKUSIA	24
6.1	POROVNANIE VÝŤAŽKOV EXTRAČNÝCH METÓD.....	24
6.2	ELEMENTÁRNA ANALÝZA A TERMOGRAVIMETRIA	26
6.3	STANOVENIE ORGANICKÉHO C A N	27
	ZÁVER.....	30
	ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV	31
	ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK A SYMBOLOV	34

1 ÚVOD

Vzhľadom na rozvíjajúci sa svet a exponenciálny rast populácie ľudstvo naráža na problémy rôznych charakterov. Jedným z nich, ktorý si jednoznačne zaslúži pozornosť je, že poľnohospodárstvo je čím ďalej tým viac neudržateľné a nepokrýva kladené požiadavky. Zem má obmedzené zdroje a preto je potrebné k týmto zdrojom pristupovať efektívnejšie ako doteraz. Pomer poľnohospodárskej pôdy, resp. pomer produkcie plodín ku populácií je neustále znižovaný. V snahe zefektívniť poľnohospodársky sektor sa v minulosti začali využívať spôsoby, ktoré sa nepozerali na dlhodobé hľadisko a často to viedlo k vytvoreniu nových, najmä ekologických problémov. To malo, samozrejme okrem iných vplyvov, za následok miestami až trvalé poškodenie pôd, ktorých potenciál je ďalej v poľnohospodárstve len veľmi ťažko využiteľný.

V dnešnej dobe sa nám pravdepodobne núka jedno z možných riešení týchto problémov a tou je aplikácia vhodných pôdných suplementov ako je napríklad lignit, biouhlie a rôzne typy tzv. hydrosorbentov. Podľa zákona 156/1998 Sb (Zákon o hnojivách, pomocných pôdných látkach, pomocných rastlinných prípravkoch a substrátoch a o agrochemickom zkoušení zemědělských půd) a v platnom znení neskorších zmien a doplnkov je pôdna podporná látka definovaná ako „*látka bez účinného množství živin, která půdu biologicky, chemicky nebo fyzikálně ovlivňuje, zlepšuje její stav nebo zvyšuje účinnost hnojiv, s výjimkou přípravků na ochranu rostlin*“, z čoho vyplýva, že pôdne podporné látky predstavujú širokú skupinu rôznorodých prípravkov, ktorá zahŕňa široké spektrum, menovite ide napríklad o polymérne hydroabsorbenty syntetického pôvodu, substráty na báze prírodných látok organickej aj minerálnej povahy a taktiež prípravky obsahujúce živé organizmy a teda symbiotické baktérie či huby. Z historickej súvislosti, kde sa často aplikoval popol získaný z vypaľovania lesov do pôdy vyplýva, že týmto spôsobom bola premenená neúrodná pôda na viac úrodnú. S touto inšpiráciou z minulosti sa pracuje aj do dnes a táto práca je zameraná práve na túto oblasť.

Biouhlie je jeden z produktov, ktorý je možné vyrobiť pyrolýzou a inými spôsobmi, ktoré sú pomerne nenáročné. Je vyrobený z biomasy, ktorá predstavuje akúkoľvek látku, ktorá má organický charakter a pochádza z rastlín a živočíchov. Biomasu je možné považovať za excelentný zdrojový materiál, keďže je obnoviteľná a zahŕňa aj to, čo je často považované za odpad. Je charakteristický svojimi fyzikálnymi a chemickými vlastnosťami, ako schopnosť adsorpcie alebo zloženie, ktoré sa však menia v závislosti na východiskovom materiáli a podmienkami pri výrobe. Jeho hlavný prínos je v poľnohospodárskom sektore, kde sa využíva ako pôdny suplement, ktorý výrazne zlepšuje kvalitu pôdy. Prispieva k udržateľnosti poľnohospodárstva a kladne prispieva k presunutiu vzdušného uhlíka do pôdy, čo má pozitívny vplyv na rastlinstvo, vodstvo a ovzdušie.

2 TEORETICKÁ ČASŤ

2.1 Biouhlie

2.1.1 Definícia biouhlia

Biouhlie je produkt termálnej degradácie, tzv. pyrolýzy biomasy, materiálu na organickej báze bez prístupu vzduchu [1]. Pod pojmom biomasa sa rozumie akýkoľvek typ organickej látky, ktorej bezprostredný pôvod tkvie v rastlinnom alebo živočíšnom procese a zahŕňa rastlinné produkty ako je napr. drevo, lístie alebo živočíšne produkty. Na základe zdrojovej biomasy a podmienok výroby má výsledný produkt odlišné vlastnosti. Implementáciou do pôdy zlepšuje jej fyzikálne a chemické vlastnosti, zvyšuje obsah organickej hmoty a stabilizuje organický uhlík v pôde, čím napomáha znižovať mineralizáciu organickej hmoty a v dôsledku toho tiež znižuje emisiu skleníkových plynov z pôdy a vytvára hostinnejšie prostredie pre pôdne baktérie [2].

2.1.2 História biouhlia

„Terra Preta, znamenajúca po portugalsky „Čierna zem“ je pôdna technika vynájdená starými amazonskými civilizáciami minimálne 7000 rokov neskôr ako permanentné riešenie problému slabej úrodnosti tropickej pôdy“ [3]. Civilizácia Amazončanov mala ako mnohé iné kmene snahu vyriešiť poľnohospodársky problém nízkej úrodnosti pôdy. Veľké ložiská tejto „čiernej zeme“ je možné nájsť aj dnes v hĺbkach viac ako 2 metre. Prvé ložiská boli nájdené v roku 1870, avšak širší záujem o štúdium biouhlia začal niekedy začiatkom 21. storočia. Miestni obyvatelia zistili, že pre zvýšenie úrody musia do pôdy vrátiť živiny a to učinili pravdepodobne tak, že odpady rastlinného pôvodu spálili a vzniknuté biouhlie vrátili do pôdy.

Dnes je biouhlie komerčný produkt, ktorý sa celosvetovo vyrába veľkotonážne. Technológie výroby biouhlia sa momentálne veľmi rozrastajú a zdokonaľujú, taktiež sa rozrastá trh. V Európe bola v roku 2012 založená Európska organizácia pre biouhlie¹, ktorá vydáva certifikáty výrobcov. Ich cieľom je zabezpečiť kontrolu kvality výrobku v rámci neustále zdokonaľovania na základe najnovších výskumov.

2.1.3 Vlastnosti biouhlia

Ako už bolo spomenuté v kapitole 2.1.1, vlastnosti biouhlia sú závislé na mnohých parametroch, napr. na materiáli, z ktorého sú vyrobené alebo na podmienkach pri výrobe. Na tomto mieste bude kladený dôraz najmä na vplyv materiálu zdrojovej biomasy a podmienok prípravy biouhlia. Vlastnosti, na ktoré sa pri výskume hľadí sa často delia na fyzikálne a chemické.

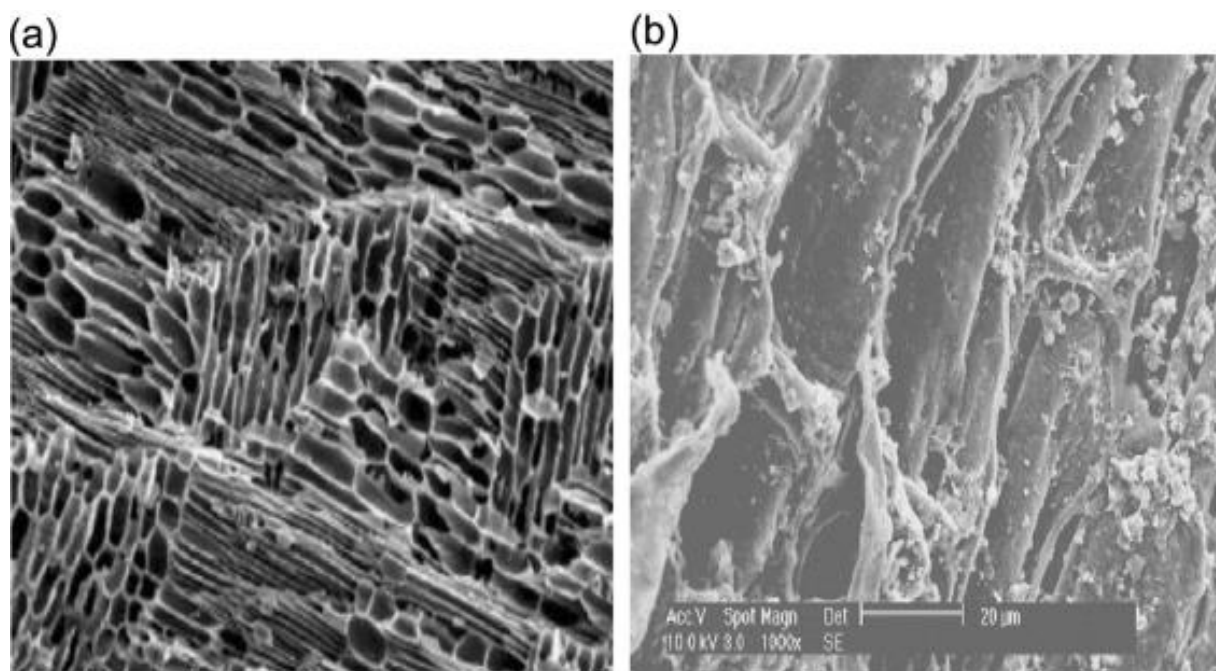
Fyzikálne vlastnosti biouhlia

Jedna z najdôležitejších fyzikálnych vlastností vychádza z jeho štruktúry, ktorá je mikroporézna. Biouhlie má typicky obdĺžnikovitú mikroporéznu štruktúru, z ktorej vyplýva rada ďalších vlastností či schopností. Veľkosť pórov je zásadne nižšia u biouhlia ako u zdrojovej biomasy (Obrázok č. 1). Podľa veľkosti sa póry delia na [4]:

- Mikropóry (priemer pórov menší ako 2 nm)
- Mezopóry (priemer pórov medzi 2 nm a 50 nm)

¹ Voľný preklad z oficiálneho názvu v angličtine (The European Biochar Foundation). Viac informácií je možno nájsť na ich oficiálnej webstránke <http://www.european-biochar.org/>

- Makropóry (priemer pórov väčší ako 50 nm)



Obrázok č. 1: Porovnanie veľkosti pórov u biouhlia (a) a zdrojovej biomasy (b) [2]

Pórovitosť biouhlia je závislá na teplote prípravy, bolo zistené, že s rastúcou teplotou sa získava vyššia pórovitosť [18]. Čo sa týka hustoty biouhlia, tá závisí na teplote podobne ako pórovitosť a je priamo prepojená s pórovitosťou. Pri pyrolýze sa z biomasy časť premieňa v plynné produkty, no časť ostáva v tuhom stave-biouhlie s pórovitým charakterom. Čím vyššia je pórovitosť biouhlia, tým je menšia hmotnosť (vzaté na jednotku objemu). Pórovitá štruktúra je spojená z vysokým špecifickým povrchom a má za následok adsorpčnú schopnosť. Adsorbovať sa môžu rôzne molekuly, no pri hlavnom využití biouhlia a to ako pôdneho suplementu sa myslí najmä na adsorbovanie vody, ktorá ma esenciálny charakter pre rastliny. Ďalej ide o pôdne nutrienty, ktoré dokáže pre rastliny zachytiť alebo o škodliviny, ktoré rastlinám neprospievajú [2].

Chemické vlastnosti biouhlia

Pri pohľade na chemické vlastnosti biouhlia je vhodné najprv diskutovať zloženie. Prvky, ktoré sa v biouhli nachádzajú najviac sú C, H, O, a N. Biouhlie obsahuje aj iné stopové prvky a to najmä prvky zo skupiny alkalických kovov a kovov alkalických zemín – Na, Mg, K, Ca [2]. Obsah týchto vymenovaných prvkov sa samozrejme líši vzhľadom na východiskový materiál, z ktorého je biouhlie vyrobené. Bolo zistené, že obsah uhlíka v biouhli vyrobeného z dreva alebo bambusu je relatívne vysoký oproti biouhliu vyrobenému z iného materiálu, konkrétne o približne 56 % vyšší [5]. Avšak, pre biouhlie vyrobené z ľubovoľnej biomasy platí, že obsah dusíka je spravidla menší ako 3 hm. %, obsah kyslíka je vyše 50 hm. % [5]. Pomery H/C vypovedajú o aromatickom charaktere hmoty, pričom pomery O/C vypovedajú o polárnych funkčných skupinách, hydrofilnosti a stabilite v pôdach. Biouhlie s pomerom O/C menším ako 0,2 má polčas rozpadu minimálne 1000 rokov [6]. Ďalšia z dôležitých vlastností je pH, ktoré je väčšinou väčšie ako 7, a teda je alkalické. Táto skutočnosť je pri implementovaní do kyslých pôd veľmi užitočná, vzhľadom na úpravu pôdy. V neposlednom rade je vhodné spomenúť kationovú výmennú kapacitu (CEC²), ktorá je v súvislosti s implementovaním biouhlia do pôdy jedna z kľúčových vlastností biouhlia na jej zvýšenie úrodnosti a zlepšenie vlastností.

² Skratka pochádza z anglického výrazu „cation exchange capacity“.

Katiónová výmenná kapacita je veličina, ktorá charakterizuje koľko je daný systém schopný pútať katiónov na svojom povrchu pri pH=7 [7]. Jedná sa o vyššie spomenuté katióny stopových prvkov, ktoré biouhlie obsahuje, čiže najmä Na^+ , Mg^{2+} , K^+ a Ca^{2+} ale aj iných a to napríklad toxických kovov. Biouhlie je teda možné použiť aj ako adsorbent pri znečistených vodách a pôdach toxickými kovmi ako je napr. Cd, At, Mn, Pb a iné [8]. Táto chemická vlastnosť je úzko spojená so špecifickou plochou biouhlia a s hodnotou pH, ktorá rastie spolu s teplotou. Jednotlivé závislosti je možné na príkladoch niektorých zdrojových biomás vidieť v tabuľke č. 1:

Tabuľka č. 1: Vybrané vlastnosti biouhlia pripraveného z rôznych biomás pri rôznych teplotách [9]

Zdrojová biomasa	Teplota pyrolýzy [°C]	Obsah popola [hm. %]	CEC pri pH=7 [$\text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$]	Špecifická plocha [$\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$]	pH [-]
Seno	400	11	4	10	8,2
	500	11	5,1	111	8,3
	600	12	1,3	177	9,2
	700	15	0,5	107	9,2
Kukuricové zvyšky	400	14	38,3	4	10,2
	500	17	68,6	6	10,4
	600	18	20,1	7	10,4
	700	18	19	3	10,4
Škrupiny z burských orieškov	400	9	7,2	5	9,3
	500	10	8,5	28	9,4
	600	11	1,2	185	9,6
	700	12	0,3	49	9,9

2.1.4 Výroba

Biouhlie je možné vyrobiť viacerými spôsobmi, medzi ktoré patrí hydrotermálna karbonizácia, splyňovanie a pyrolýza. Výroba nie je náročná na materiál. Jeho fyzikálne a chemické vlastnosti (ktoré sú opísané v kapitole 2.1.3) sa líšia v závislosti na biomase a podmienkach procesu [10]. Pri jeho výrobe vzniká aj tzv. bioolej a plyny.

Pyrolýza

Pyrolýza je zadefinovaná ako termálna degradácia materiálu za vysokých teplôt v inertnej a uzavretej atmosfére [11], resp. v prípade spaľovania biomasy prebieha výrobný proces zvyčajne bez prístupu kyslíka. Je to jeden z technologických postupov na premeny biomasy na energiu a chemické produkty pozostávajúce z kvapalného biooleja, tuhého biouhlia a pyrolytických plynov. Počas procesu sa z štruktúrne rozsiahlych uhlíkovodíkov vytvárajú pomerne jednoduchšie a menšie molekuly, ktoré sú rôzneho skupenstva. Pyrolýzu je možné

rozumieť ako postup obsahujúci viacero krokov. Pred samotným hlavným krokom sa najprv deje proces, ktorý je možno nazývať tzv. predpyrolýza. Predpyrolýzou rozumieme zmeny vnútorného charakteru, ako napr. zbavenie sa vlhkosti, prvotné narušenie väzieb, vznik voľných radikálov a vznik karbonylových, karboxylových a iných skupín [11]. Neskôr sa biomasa zahrieva na tzv. teplotu pyrolýzy, kde sa udržiava požadovanú dobu. V závislosti na rýchlosti nárastu a výšky teploty a dobe reakcie je možné rozdeliť hlavné kroky pyrolýzy na 2 hlavné kategórie [13], na základe čoho sa radikálne menia výťažky jednotlivých vyššie vymenovaných produktov: pomalá pyrolýza a rýchla pyrolýza. Biouhlie sa získava ako hlavný produkt pomalej pyrolýzy, rýchlou pyrolýzou sa pomer produktov posúva na stranu kvapalných a plyných produktov.

Proces pomalej pyrolýzy je momentálne konvenčne užívaný spôsob výroby biouhlia. Prívlastok „pomalá“ vychádza z relatívne dlhšieho času reakcie a rýchlosti nárastu teploty, v porovnaní s rýchlou pyrolýzou. Pomalá pyrolýza prebieha znova s porovnaním s rýchlou pyrolýzou pri nižších teplotách približne 300–700 °C, pričom rýchla pyrolýza je založená na veľmi rýchlom prenose tepla. Pomalou pyrolýzou je možné dosiahnuť vyššieho výťažku tuhých produktov práve kvôli dlhšiemu času a relatívne nízkej teplote, pretože tieto podmienky zabezpečia repolymerizačné reakcie, ktorých produkty sú pevného skupenstva [13]. Veľkosť častíc vhodných na pomalú pyrolýzu sa pohybuje v rozmedzí 5–50 mm.

Rýchla pyrolýza funguje na princípe rýchleho presunu tepla 10^3 až 10^5 °C/s, typicky prostredníctvom horúcich plynov. To zahŕňa teplotu približne 450–650 °C, veľkosť častíc menšiu ako 2 mm, krátky čas presunu tepla a rýchle ochladenie pyrolytických plynov kvôli potlačeniu sekundárnych reakcií. Rýchlym odstránením vzniknutého uhlia je pri výrobe kvapalných produktov pyrolýzou žiaduce z dôvodu, že uhlie pôsobí ako katalyzátor pre rozklad primárnych, resp. žiadúcich kvapalných produktov, pričom rozklad týchto produktov má za následok vznik sekundárnych pevných a plyných produktov a vody, čo smeruje k nižším výťažkom biooleja, ktorý je hlavný produkt rýchlej pyrolýzy [13].

Iné spôsoby výroby produktov z biomasy

Aj napriek tomu, že sa vo väčšom na spracovanie biomasy používa pyrolýza, existujú aj iné spôsoby. Medzi nich patrí splyňovanie a hydrotermálne procesy³.

Splyňovanie, po anglicky *gasification*, ako už vyplýva z názvu je zamerané na tvorbu plynov. Je to proces, kedy sú produkty vytvorené pri pyrolýze, predovšetkým uhlie, premenené na plyné produkty rôznymi splyňovacími reakciami. Produktami splyňovania sú predovšetkým jednoduché molekuly ako CO₂, H₂ a CH₄ [14].

Pri hydrotermálnych procesoch sa na rozdiel od suchých procesov splyňovania a pyrolýzy využíva voda. Biomasa určená na karbonizáciu sa zmieša s vodou v uzavretej sústave. Pre zaistenie kvapalného stavu vody pri teplotách vyšších ako 100 °C je zvýšený tlak. V prípade týchto hydrotermálnych spôsoboch výroby sa vzniknuté uhlie nenazýva biouhlie, ale pre odlišnosť a jasne vyplývajúci spôsob výroby je často v anglickej literatúre nazývané *hydrochar*. V závislosti na teplote procesu a výsledného primárneho produktu sa hydrotermálne spôsoby spracovávania biomasy delia na hydrotermálnu karbonizáciu (HTC), skvapaľňovanie (HTL) a splyňovanie (HTG). Hydrotermálne procesy sú výhodné v tom, že riešia skutočnosť, že väčšina zdrojových biomás obsahuje vlhkosť a teda ak by mali byť biomasy podrobené

³ Skratky hydrotermálnych procesov pochádzajú z anglického výrazu „hydrothermal carbonization/liquefaction/gasification“.

spracovaniu suchou cestou, je potrebné vlhkosť najprv odstrániť, čo nie je výhodné z energetického hľadiska.

2.1.5 Vplyv podmienok a spôsobov prípravy na vlastnosti

Ako už bolo spomenuté v úvode, podmienky a spôsoby prípravy jednoznačne vplyvajú na vlastnosti. Cieľom štúdií vplyvu podmienok a spôsobov prípravy, samozrejme aj vplyvu východiskového materiálu na vlastnosti, je vyrábať čo najkvalitnejší produkt s čo najväčším výťažkom biouhlia. Kombinácie teplôt, dĺžky času procesu, typu výroby (kapitola 2.1.4) a biomasy prinesie vždy iný produkt s inými vlastnosťami. Štúdií je nespočetne mnoho, niektoré sa zameriavajú na konkrétne vlastnosti, iné sledujú širšie spektrum, no kvôli rozsahu tejto práce bola vybraná iba jedna štúdia pre názornosť (obdobne v ďalšej kapitole 2.1.6).

Uchimiya a kolektív [15] sa zamerali na vplyv teploty na sorpčnú vlastnosť biouhlia pri sorpcii ťažkých kovov v pôde, výťažok, vlhkosť, obsah popola, elementárnu analýzu prvkov, špecifický povrch a pH. Produkt sa vyrábal pyrolýzou zo zvyškov bavlníka, konkrétne z ochrannej časti bavlníkových semien⁴ pri rôznych teplotách v rozmedzí 200–800 °C. Najväčší výťažok malo biouhlie vyrobené pri najnižšej teplote 200 °C (až približne 83,4 %), najmenší pri najvyššej teplote 800 °C, kde je jasne vidieť klesajúcu závislosť výťažku na zvyšujúcej sa teplote. Čo sa týka obsahu prvkov, je vhodné vypíchnúť najmä obsah uhlíka a ten bol najväčší v biouhli vyrobenom pri teplote 800 °C. Najnižšiu vlhkosť malo biouhlie vyrobené pri najnižšej teplote, najvyššiu vlhkosť pri najvyššej teplote, podobnú rastúcu závislosť je možné nájsť aj pri obsahu popola, kde biouhlie vyrobené pri 200 °C má obsah popola najnižší a biouhlie vyrobené pri 800 °C najvyšší. Taktiež bola pozorovaná schopnosť adsorbovať ťažké kovy v pôde, konkrétne Ni^{II}, Cu^{II}, Pb^{II}, a Cd^{II}. Táto vlastnosť sa pozorovala na produktoch vyrobených pri teplotách v rozmedzí 350–800 °C, najefektívnejší produkt bol vyrobený pri 350 °C, avšak v literatúre sa uvádza aj to, že momentálne neexistuje štúdia, ktorá by premietala vplyv teploty pyrolýzy na funkciu sorbentu ťažkých kovov.

2.1.6 Vplyv východiskového materiálu na vlastnosti

Jednou z nespočetne mnohých výhod biouhlia je aj fakt, že je nenáročný na suroviny. Dá sa povedať, že na výrobu postačí takmer akýkoľvek druh bioodpadu. Avšak, samozrejme najlepší materiál na výrobu je ten, z ktorého je možné vyťažiť maximum, a teda čo najväčší výťažok biouhlia s čo najlepšimi, resp. s požadovanými vlastnosťami. Vplyv zdrojovej biomasy je dosť vysoký, čo je možné vidieť aj v tabuľke č. 1.

Yao a kolektív [16] sa v roku 2011 venovali skúmaniu vplyvu východiskového materiálu na vlastnosť biouhlia pohlcovať fosfáty z vody. V ich štúdií boli vyrobené 2 typy biouhlia rovnakým spôsobom a to pomalou pyrolýzou pri teplote 600 °C. Zdrojovým materiálom boli ďalej už nespracovateľné zvyšky z výroby cukru z cukrovej repy, jeden z nich bol predtým spracovaný anaeróbnou digesciou mikroorganizmami⁵, druhý bol v nespracovanom a surovom stave. Výťažok pri surovom nespracovanom materiáli bol 36,3 %, pri tom spracovanom o niečo vyšší a to 45,5 %. Biouhlie z oboch materiálov malo podobné pH a funkčné skupiny na povrchu, avšak biouhlie z predom spracovanej biomasy malo vyšší špecifický povrch a jeho povrch bol menej negatívne nabitý. Pri adsorpčných experimentoch sa prišlo na to, že biomasa spracovaná anaeróbnou digesciou mala vyšší adsorpčný potenciál a to až 73 %.

⁴ Anglický názov východiskového materiálu je „cottonseed hulls“.

⁵ Anaeróbná digestia je proces, pri ktorom mikroorganizmy bez prístupu kyslíka biodegradujú materiál za vzniku plynov ako napr. CO₂ a CH₄.

2.1.7 Využitie v poľnohospodárstve

Z historickej súvislosti sa zistilo, že vkladanie biouhlia do pôdy má blahodarné účinky na kvalitu pôdy, čo jednoznačne vyplýva z predošlých kapitol. V posledných rokoch dostáva biouhlie pozornosť po celom svete, keďže ponúka riešenia pri zvyšovaní efektivity poľnohospodárskej pôdy alebo pri obnovovaní pôdy, ktorá nie je vhodná na pestovanie. S exponenciálnym rastom populácie sa teda pomer vypestovaných plodín na obyvateľov zeme znižuje, čo je jeden z vplyvov na globálnu potravinovú krízu. S určitosťou sa dá povedať, že jedným z riešení by mohlo byť práve biouhlie. Tohto riešenia sa zatiaľ chytili prevažne vyspelejšie krajiny sveta, ktoré majú rozvinutejší chemický priemysel, prevažne krajiny polohou v Európe a severnej Amerike, avšak postupne sa toho ujímajú aj menej vyspelé krajiny, ako napr. Belize, Kamerun, India alebo Mongolsko [17].

Biouhlie dokáže zvýšiť level uhlíka v pôde. Rastliny pohlcujúce CO_2 zo vzduchu vracajú uhlík do pôdy. Avšak, po ich odumretí ich mikroorganizmy v pôde rozkladajú, časť uhlíka teda ostáva v pôde, ale časť uhlíka sa týmto rozkladom v podobe CO_2 vracia späť do atmosféry, čo je možné zamedziť tým, že biouhlie stabilizuje organickú hmotu v pôde, nenechá ju zmineralizovať a tým pádom stabilizuje uhlík v pôde. Vo výsledku je teda možné povedať, že biouhlie odstraňuje CO_2 z atmosféry, na čo sa je možné pozerieť aj z environmentálneho hľadiska, keďže sa týmto znižuje skleníkový efekt. Tento kolobeh sa anglicky označuje termínom „carbon sequestration“ alebo „carbon dioxide removal“ [18].

Biouhlie je okrem zachytávania CO_2 schopné v pôde zachytávať vodu a rôzne živiny, ktoré sú potom dostupné rastlinám. Tu sa ponúka alternatíva oproti hnojivám a kompostom, ktoré môžu sprevádzať znečistenie pôd a vôd patogénmi, ťažkými kovmi a farmaceutikami obsiahnutými v živočíšnych hnojivách. Hnojivá na báze dusíka, ktoré sú kvôli ich cene a dostupnosti využívané vo veľkej miere taktiež nepriaznivo prispievajú ku globálnemu otepľovaniu kvôli uvoľňovaniu dusíkatých zlúčenín do vôd a ovzdušia [19] pri dlhodobom používaní. Z toho vyplýva, že používanie dusíkatých hnojív by sa malo obmedziť. Aby sa udržala efektívnosť, jedným z riešení je implementovať do hnojív biouhlie. Bolo dokázané, že kvôli biouhliu sa živiny z hnojiva uvoľňujú postupne a vďaka tomu je možné zvýšiť úrodu. Živiny z hnojiva nie sú bez prítomnosti biouhlia tak k dispozícii rastlinám ako s ním, čo vedie k tomu, že sa používanie hnojív, ktoré potenciálne škodia životnému prostrediu zníži, na čo sa dá pozerieť aj z ekonomického hľadiska.

2.2 Chemické frakčionačné postupy

Pod pojmom organická hmota je možné si predstaviť prírodné zlúčeniny, ktoré sú všadeprítomné a boli vzniknuté chemickou a biologickou degradáciou rastlinných a živočíšnych zvyškov a často je organická hmota viazaná na anorganickú časť. Tradičný, no dnes už zastaraný termodynamicky nereálny makropolymérny popis fyzikálno-chemických vlastností organickej hmoty bol vymenený za ich chápanie ako supramolekulárnych látok [20]. Všeobecný konsenzus o hovorí o látkach organickej hmoty ako o náhodnom usporiadaní veľkého počtu heterogénnych relatívne jednoduchých molekúl držiacich pokope vodíkovými a hydrofóbnymi väzbami. Avšak, iné biomolekuly sú vytvorené v bunkách z presne daných prekursorov a majú jasne popísanú funkciu, na rozdiel od humínových látok, ktorých tvorba je hnaná entropicky, rozkladom neživej organickej hmoty [21]. V snahe popísať tieto humínové látky a organickú hmotu bolo vynájdených mnoho postupov, ktoré majú v základe podobný princíp a tým je oddelenie jednotlivých molekúl zo supramolekúl. Vždy ide o aplikovanie rozpúšťadiel, ktoré môžu byť buď kyslé, slabo alebo silno alkalické, organické alebo komplexné zlúčeniny a zároveň o oddelenie organickej zložky prírodnej hmoty (napr. pôdy, kaustobiolitu) od anorganickej časti týchto materiálov. V nasledujúcich podkapitolách sa

budeme zaoberať dvoma špecifickými prístupmi a to tzv. alkalickou extrakciou [22] a chemickou frakcionáciou na tzv. „humeomiká“ [20].

2.2.1 Alkalická extrakcia

Medzi prvé pokusy izolovať organickú hmotu a humínové látky z pôdy patrí pravdepodobne pokus vykonaný Achardom, ktorému sa podarilo alkalicky extrahovať z rašeliny po okyslení čiernu zrazeninu, ktorú je dnes možné poznať pod názvom humínové kyseliny. To avšak bolo ešte v 18. storočí. Postupom času sa na prvých základoch začali stavať nové teórie. Na začiatku 19. storočia bol predstavený De Saussureom pojem humus. Neskôr boli na základe farby a rozpustnosti rozdelené humínové látky medzi viaceré kategórie, avšak od týchto pomenovaní sa neskôr upustilo. Druhá polovica 19. storočia priniesla nové pomenovania a taktiež postupy izolácie jednotlivých látok. Na tieto štúdie neskôr naviazala Kononova a Waksman [22]. Začiatkom 20. storočia sa zjednotilo používanie pojmov pre humínové látky, napríklad termínom humínová kyselina sa označoval tmavohnedý až čierny materiál rozpustný v zásaditom prostredí a nerozpustný v kyslom, s približným obsahom uhlíka 58 %.

Stevenson v roku 1994 v literatúre [22] popísal postupy pre alkalickú extrakciu. Rozpustnosť humínových látok v NaOH a Na₂CO₃ je spôsobená narušením väzieb medzi organickými látkami a anorganickou pôdnou zložkou a premenou kyslej zložky na ich rozpustnú formu v podobe soli. Jednomocné soli sú rozpustné, avšak viacmocné nie. Vylúhovaním pôdy v HCl odstráni Ca a iné viacmocné kationy, čo zvyšuje účinnosť extrakcie organickej hmoty alkalickými činidlami. Podobné metódy fungujú za použitia miernejších činidiel ako napr. Na₄P₂O₇ alebo iných neutrálnych solí.

Medzinárodná spoločnosť pre humínové látky⁶ vydala metódu na izoláciu humínových kyselín za pomoci alkalickej extrakcie. Na materiál sa najprv aplikuje HCl, ktorá má za následok dealkalinovanie. Na premytú zmes je následne aplikované extrakčné alkalické činidlo – roztok NaOH, čo následným znovu okyslením HCl spôsobí vyzrážanie humínových kyselín. Vyzrážané humínové kyseliny sa znova rozpustia zmenou pH za použitia roztoku KOH a za prídavku KCl. Pre opätovné vyzrážanie sa použije roztok HCl, k zmesi vyzrážaných humínových kyselín sa pridáva aj roztok HF, roztok sa odstredí, humínové kyseliny sa oddelia a dialyzujú naproti destilovanej vode v dialyzačných tubách. Z kyslého roztoku je ďalej možné oddeliť fulvínové kyseliny a humíny.

IHSS deklaruje, že táto metóda nemá byť odporúčaná alebo schválená, ale že práve túto metódu alkalickej extrakcie je možné použiť na väčšinu pôdných typov vo väčšine laboratórií. Výsledkom sú vysoké výťažky humínových látok, je možné ju považovať za štandardizovanú metódu [23], avšak, touto metódou nie je možné efektívne frakcionovať organickú hmotu biouhľia, ktorá je predmetom tejto práce a to z dôvodu, že biouhlie sa od ostatných materiálov líši vysokou stabilitou [24].

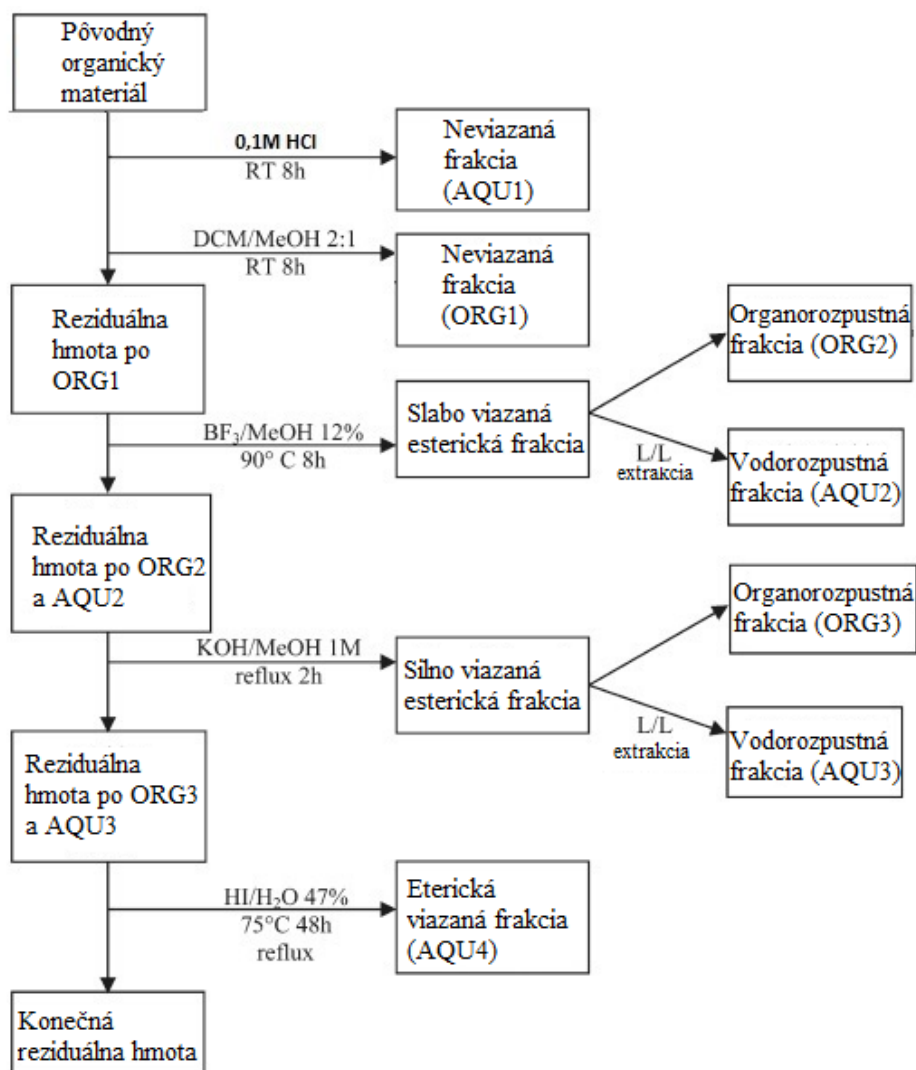
2.2.2 Chemická frakcionácia na tzv. „humeomiká“

Na identifikáciu štruktúr jednotlivých zložiek organickej hmoty bolo vyvinutých mnoho frakcionačných metód a postupov. Nebbioso a Piccolo v roku 2011 [20] a následne ďalšími publikáciami predstavili postup nazývaný chemická frakcionácia na tzv. humeomiká. Zavedením všeobecného pojmu humeomiká⁷ bola snaha o analógiu k podobne všeobecným pojmom ako je napríklad pojem proteomiká. Táto metóda je založená na vhodnom a logickom oddeľovaní molekúl z humínových supraštruktúr z organickej hmoty rušením

⁶ Voľný preklad z anglického názvu „International Humic Substances Society“, skratene IHSS.

⁷ Pojem humeomiká je preklad z anglického „humeomics“.

intermolekulárnych väzieb rôznymi rozpúšťadlami, pričom kovalentné C–C väzby ostávajú nenarušené. Následne sa štruktúry oddelených molekúl charakterizujú analytickými technikami. Táto metóda je účinná pri materiáloch, ktoré obsahujú minerály ako napríklad Fe alebo Al, ktoré dokážu agregovať humínové molekuly a tvoria pevnú rigidnú štruktúru a na ktoré by nebolo možné aplikovať napr. alkalickú extrakciu. Výsledkom tejto metódy sú frakcie: organické (ORG1–ORG4), vodné (AQU1–AQU4) a RES OM (residuálna organická hmota) a NOM (prirodzená, neviazaná organická hmota). Mapa frakcií a ich postupnosť v oddeľovaní je možné znázorniť takto:



Obrázok č. 2 : Mapa frakcií chemickej frakcionácie na tzv. „humeomiká“ [20].

Prvá frakcia pochádza z originálneho organického materiálu. V každej frakcii sa nachádzajú 2 podfrakcie, jedna z nich je vodná (AQU1) a jedna organická (ORG1). Na oddelenie AQU1 frakcie sa využíva roztok zriedenej HCl. Následne sa filtráciou oddelí tuhá časť od kvapalnej AQU1, ktorá je následne spracovaná pomocou vakuovej odparky a následne dosušená lyofilizáciou až na čo najmenší objem. Tuhá časť je ďalej obdobne podrobená extrakcii, avšak tentokrát v roztoku dichlormetánu (DCM) v metanole (MeOH). Vznikne znova tuhá a kvapalná časť, objem kvapalnej časti sa zmenší pomocou rotačnej vakuovej odparky a kompletne odparí pomocou dusíka. S tuhou časťou sa ďalej pracuje vo frakcii II. Použitím vodného roztoku HCl boli oddelené molekuly rozpustné vo vode, použitím roztoku DCM v MeOH boli oddelené

molekuly rozpustné v týchto organických rozpúšťadlách. Molekuly frakcie I. nie sú v zdrojovom materiáli naviazané, resp. sú viazané veľmi málo v porovnaní s molekulami v ďalších frakciách.

Frakcia II je založená na transesterifikácii. Transesterifikácia je reakcia pri ktorej za prítomnosti kyslého katalyzátoru a alkoholu vzniká z esteru iný ester, resp. je narušená pôvodná esterová väzba a vzniká iná, tiež esterová väzba. Používa sa roztok BF_3 v MeOH. Skrz to, že oboje, reaktanty aj produkty sú buďto alkohol alebo ester, je reakcia reverzibilná a jej rovnovážna konštanta je blízka hodnote 1. Do tuhého zvyšku z frakcie I. sa vleje roztok, zmes musí byť uzavretá v špeciálnych vysokotlakových teflónových. Následne sa tuhá časť suší v sušičke, ďalej sa používa vo frakcii III. Filtrát sa zmieša s destilovanou vodou, kde sa vytvorí 2 kvapalné fáze – organická ORG2 v spodnej časti a vodná AQU2 v hornej časti. Pomocou deliaceho lievika sa fáze oddelia na organickú časť (ORG2) a vodnú (AQU2), organická sa očistí od vody pomocou Na_2SO_4 a vodná sa pomocou dialyzačných túb očistí od MeOH a rozpustených solí.

Tretia frakcia sa získa narušením silných esterových väzieb za použitia roztoku KOH v MeOH. Tuhá časť z predošlej frakcie sa zmieša s roztokom a za stáleho miešania sa zmes pri atmosfére dusíka destiluje, resp. refluxuje pomocou spätného chladiča približne 2 hodiny. Zmes sa potom prefiltruje, tuhá časť sa obdobne suší a získaný filtrát sa okyslí pomocou HCl na pH približne 2. Zmes je obdobne zmiešaná s destilovanou vodou a pomocou deliaceho lievika oddelená. Získané frakcie ORG3 a AQU3 sú spracované rovnako ako ORG2 a AQU2.

Posledná a to štvrtá frakcia sa získa narušením silných éterových väzieb, na čo sa využíva vodný roztok kyseliny jodovodíkovej HI. Podobne ako vo frakcionácii III sa využíva reflux, avšak tentokrát je reakcia oveľa dlhšia (2 dni). Po dokončení reakcie sa zmes zriedi s destilovanou vodou a je prefiltrovaná. Filtrát sa neutralizuje pomocou NaHCO_3 na pH približne 7, pričom vzniká I_2 , ktorý sa redukuje použitím $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Vzniknutá frakcia AQU4 sa spracuje obdobne ako vo frakcii II a III pomocou dialyzačných túb. Tuhá časť z filtrácie sa usuší a zmieša s dietyléterom $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$, zmes sa ofiltruje, pričom vzniknutý filtrát je ORG4 frakcia. Zvyšný tuhý materiál sa zmieša s roztokom NaOH s $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ a nechá sa určitú dobu miešať, potom sa zmes odfiltruje, filtrát sa očistí pomocou dialyzačných túb. Filtrát predstavuje poslednú, tzv. RES OM frakciu (residuálna organická hmota).

3 STAV RIEŠENEJ PROBLEMATIKY

Ako už bolo spomenuté v kapitole 2.2, chemické frakcionačné postupy možno aplikovať na rôzne typy organických hmôt. Výsledkom aplikácie týchto postupov sú frakcie organickej hmoty, resp. molekuly odštiepené z väčších supramolekúl oddelené od anorganickej časti, na ktorú je častokrát organická hmota viazaná pomerne pevne. Týmito postupmi získané frakcie je možné následne pomocou analytických metód charakterizovať z rôznych hľadísk za účelom ďalšej aplikácie študovaných organických hmôt, ako je napríklad biouhlie, ktoré je predmetom tejto práce.

V literatúre [25] autori skúmali vplyv využitia rôznych frakcionačných metód založených na rozdielnych hustotách na distribúciu organickej hmoty, predovšetkým organického uhlíka a dusíka na 4 pôdnych vzorkách. Autori využili tzv. ťažké kvapaliny, ktoré sa najbežnejšie pripravujú práve z polywolframanu sodného alebo jodidu sodného NaI, ktoré boli v publikácií pozorované. Aplikovaním tejto metódy vznikajú 3 frakcie: voľnú a ľahkú frakciu pôdnej organickej hmoty fyzikálne oddelenú od mikroorganizmov a enzýmov; uzavretú ľahkú frakciu nachádzajúcu sa v agregátoch, ktoré tvoria fyzickú bariéru limitujúcu difúziu kyslíka a prístup mikroorganizmom a enzýmom; ťažkú frakciu pozostávajúcu z pôdnej organickej hmoty spojennej s minerálmi znižujúcimi mikrobiálnu a enzymatickú kapacitu rozkladať organické zlúčeniny. Vzorky pôdy sú pred frakciáciou vysušené a pomocou sita s okom 2 mm oddelené od väčších kusov. Oddelenie týchto frakcií pokračuje počiatočným oddelením voľnej a ľahkej frakcie, uzavretá ľahká frakcia je v druhom kroku oddelená od ťažkej frakcie, oddeľovanie je prevedené pomocou centrifúgy a filtrácie za zníženého tlaku. Ťažká frakcia je následne očistená deionizovanou vodou od polywolframanu sodného, resp. NaI. Bolo predpokladané, že premývanie ťažkej frakcie deionizovanou vodou môže spôsobiť rozpustenie a stratu pôdnej organickej hmoty kvôli hydrolýze a zvýšenému pH a pre preskúmanie tohto vplyvu neboli niektoré vzorky premývané. Pomocou prístroja Thermo Flash 2000 NC Soil Analyzer boli zistené obsahy C a N. Predpoklad o premývaní bol sčasti potvrdený, vo všetkých prípadoch bol zistený pokles obsahu organického C a N, avšak pri použití NaI malo na zníženie obsahu N premývanie zanedbateľný efekt. Obsah organického C bol vo všeobecnosti v ťažkých frakciách získaných pomocou polywolframanu sodného nižší ako pomocou NaI, čo sa týka ľahkých frakcií vyšší. Obsah N bol vo všeobecnosti vyšší pri použití polywolframanu sodného.

V literatúre [26] sa autori zamerali na pôdu v mieste Touro v Španielsku, kde sa pred rokmi ukončila ťažba Cu. Pôda v tomto mieste neposkytovala vhodné podmienky pre rast rastlín, keďže nahromadenie ťažkých kovov (okrem Cu, ktorá sa ťažila obsahuje pôda aj Ni, Pb a Zn) spôsobilo nielen samozrejmé zníženie úrodnosti a mikrobiálnej aktivity, dokonca má vážne následky pre zdravie zvierat a ľudí. Pôda vykazuje extrémne hodnoty pH, nízku kationovú výmennú kapacitu, nízky obsah organickej hmoty a pôdnych nutrientov, čo je zintenzívnené eróziou vetrom a vodou. Cieľom bolo túto pôdu revitalizovať prídavkom zmesi biouhlia a kompostu. Ako modelovú rastlinu, na ktorej bol vykonaný kultivačný experiment a na ktorej boli efekty sledované, autori vybrali kapustu sitinovou, latinsky *Brassica juncea*, ktorá by v tejto pôde bez prídania zmesi nemala žiadne podmienky na rast. Autori sa rozhodli pokryť všetky možnosti a to pridávaním zmesi biouhlia a kompostu rôznych pomerov vrátane kultivácie rastliny bez prídavkov ako kontrolnú vzorku. Zmes zlepšila podmienky, zvýšila hodnotu pH z 2,7 na 8,7, hodnotu pôdneho uhlíka z hodnôt pod hranicu detekcie na $149 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, hodnoty N, ktoré boli rovnako ako hodnoty uhlíka nedetekovateľné na hodnotu $11,1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$. Na stanovenie bol použitý prístroj LECO CN-2000. Extrakcia z pôdy bola učená pomocou chemickej frakcionácie podľa Salbu a kol. [27], kde výsledkom sú 3 frakcie (F1 až F3) mobilné a 3 imobilné (F4 až F6). Mobilná frakcia F1 bola získaná pomocou destilovanej vody a obsahuje vo vode rozpustné látky. Ďalšie mobilné fázy F2 a F3 boli získané z tuhého zvyšku

extrakciou roztokom NH_4OAc pri pH 5 a pri pH 7. Imobilná fáza F4, ktorá obsahuje najmä oxidy Fe a Mn bola získaná extrakciou roztokom $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ v AcOH pri pH hodnote približne 3 vo vodnom kúpeli pri teplote $80\text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 6 hodín. Frakcia F5 bohatá na organickú hmotu bola získaná obdobným spôsobom ako frakcia F4, avšak za použitia roztoku H_2O_2 . Residuálna frakcia F6 bola získaná taktiež obdobným spôsobom, avšak za použitia zriedeného roztoku HNO_3 . Analýzou pomocou atómovej emisnej spektroskopie s indukčne viazaným plazmatom ICP-AES boli zistené koncentrácie ťažkých kovov v každej z frakcií. Na základe meraní bol zistený pozitívny účinok prídavkov zmesi, koncentrácia ťažkých kovov a ich mobilita výrazne klesla.

V publikácií [28] sa autori zamerali na viaceré vzorky biouhlia vyrobených viacerými spôsobmi z rôznych zdrojových biomás (vedľajší produkt pri spracovaní cukrovej trstiny, kôra eukalyptu, odpadné vody). Vážením bol stanovený výťažok biouhlia z pôvodnej hmotnosti biomasy. Obsah prvkov C, H, N a O bol stanovený prístrojom 2400 Series II CHNS/O a obsiahnuté funkčné skupiny boli zistené pomocou FTIR. Na stanovenie celkového obsahu nutrientov a kontaminantov v zdrojových materiáloch a vo vyrobených biouhliach boli vzorky relatívne pomaly spaľované v muflovej peci až do dosiahnutia teploty $550\text{ }^\circ\text{C}$. Následne boli vytvorené popoly zvážené a rozpustené v roztoku HNO_3 a takto pripravené zmesi boli po prefiltrovaní podrobené analýze optickou emisnou spektroskopiou s viazanou plazmou ICP-OES s cieľom stanoviť stopové množstvá prvkov ako Ca, Mg, K, P, Al, Fe a mnoho ďalších. Ďalšia stanovovaná vlastnosť je kationová výmenná kapacita. Účel výroby biouhli bolo použiť ich ako pôdny kondicionér a v rámci toho boli vyvedené závery, že biouhlie vyrobené z odpadných ukazuje veľkú rôznorodosť nutrientov dostupných pôde, čo jednoznačne zlepšuje úrodnosť pôdy. Stopové množstvá prvkov bolo možné vyextrahovať pri kyslých podmienkach zo všetkých vzoriek okrem biouhlia vyrobeného z odpadných vôd. V tejto súvislosti štúdia hovorí aj o tom, že množstvá týchto prvkov môžu predstavovať zdroj znečistenia pôdy. Biouhlie vyrobené z kôry eukalyptu vykazuje vysokú chemickú stabilitu, čo vedie k nízkemu uvoľňovaniu nutrientov, čo môže byť výhodné pri aplikácii do pôd, kde je potrebné zachovať ióny, napr. do kyslých pôd.

V publikácií [29] sa autori snažili vyhodnotiť potenciálnu biologickú dostupnosť alebo toxicitu uhlíka uvoľňovaného pri kyslých podmienkach z biouhlia vyrobeného zo zvyškov pšenice alebo kukurice. Cieľom bolo prísť na to, ktoré biouhlie lepšie modeluje podmienky koreňovej časti pôdy ako extrakty získané pri alkalických podmienkach. Boli sledované stimulačné a inhibičné efekty na klíčenie kukuričných semien a následne boli stanovené chemické funkcie a molekulové vlastnosti prítomných uhlíkových zlúčenín v kyslých extraktoch biouhlia. Použité extrakčné činidlo bolo v tomto prípade roztok HCl ($0,1\text{ M}$). Vzorka biouhlia o hmotnosti 5 g bola podrobená extrakcii v tomto roztoku na rotačnej trepačke cez noc, následne bola zmes odstredená a prefiltrovaná. Extrakty boli podrobené elementárnej analýze na zistenie obsahu C a ukázali, že z biouhlia zo zvyškov pšenice sa týmto spôsobom dokázalo vyextrahovať $0,13\text{ }\%$ C a z biouhlia zo zvyškov kukurice $1,38\text{ }\%$. Ďalej bolo zistené, že vzorky obsahovali aj prvky Mg, Zn, Ca, K a Fe, ktoré sú takisto dôležité pre rast rastlín. Experimenty priniesli zistenia, že biouhlie zo zvyškov kukurice malo pozitívny vplyv na rast prvotnej stonky priamo zo semienka. Paralelné experimenty s roztokmi soli s koncentraciami rovnakými ako v získaných extraktoch ukázali, že môžu mať negatívny efekt, avšak neovplyvňovali rast. Okrem iného, autori pre širšiu analýzu na molekulárnej úrovni použili aj analytické techniky ako napr. FTIR, NMR alebo ESI-IT-TOF-MS. Tieto techniky priniesli závery, že detailná charakterizácia biouhlia na takejto úrovni dokáže priniesť informácie o biouhli vo vzťahu k stimulácii rastu rastlín.

4 CIEĽ PRÁCE

Cieľom tejto práce je čitateľa oboznámiť, čo biouhlie je a prečo je zaujímavé z hľadiska poľnohospodárskych aplikácií, ako a z čoho sa vyrába, preskúmať jeho vlastnosti a rôzne vplyvy na nich, experimentálne charakterizovať distribúciu organickej hmoty komerčných vzoriek biouhlia postupom, ktorý je známy ako chemická frakcionácia na tzv. „humeomiká“ a porovnať tento postup s iným konvenčným postupom slúžiacim na charakterizáciu pôdnych alebo lignitických hmôt, konkrétne s alkalickou extrakciou. Chemickej frakcionácii na tzv. „humeomiká“ a alkalickéj extrakcii bude podrobený produkt – biouhlie od českej firmy BIOUHEL.CZ s.r.o. sídliacej v Zlíne⁸.

Jednotlivé frakcie budú následne analyzované pomocou vybraných metodík. Cieľom analýz bude stanoviť obsah základných organických prvkov (C, O, H, N a S) a organickej hmoty pomocou elementárnej analýzy (EA) a termogravimetrie (TGA).

⁸ <https://biouhel.cz/>

5 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

5.1 Použité chemikálie a materiály

- Biouhlie, BIOUHEL.CZ
- Filtračný papier, Whatman
- Kyselina chlorovodíková, $\geq 35\%$ p.a., Penta s.r.o.
- Kyselina jodovodíková, $\geq 57\%$ p.a., Sigma-Aldrich
- Dichlórmétán, $\geq 99,92\%$ p.a., Lach-Ner s.r.o.
- Metanol HPLC, $\geq 99,9\%$ p.a., Biosolve Chimie
- Fluorid boritý, 50 hm.% roztok v metanole, Sigma-Aldrich
- Chloroform, $\geq 99,8\%$ p.a., Honeywell
- Hydroxid sodný, $\geq 99,8\%$ p.a., Penta s.r.o.
- Hydroxid draselný, $\geq 89,6\%$ p.a., Lach-Ner s.r.o.
- Tiosíran sodný, bezvodý čistý, Lach-Ner s.r.o.
- Síran sodný, $\geq 99\%$ p.a., Penta s.r.o.
- Hydrogenuhličitan sodný, $\geq 99,5\%$ p.a., Penta
- Difosforečnan tetrasodný, $\geq 99\%$ p.a., ACS reagent, Sigma-Aldrich
- Destilovaná voda
- Ultračistá destilovaná voda

5.2 Použité prístroje

- Rotačná trepačka
- Vákuová rotačná odparka
- Varná doska
- Termogravimetrický analyzátor (TGA) - TGA Q5000 (TA Instruments)
- Elementárny analyzátor (EA) - EA 3000 CHNS/O (EuroVector)

5.3 Charakterizácia organickej hmoty biouhlia

Pre pochopenie funkcií biouhlia v závislosti na aplikácii do pôdy je potrebné presne vedieť, z čoho sa biouhlie skladá, aké sú potencionálne funkcie jednotlivých častí biouhlia, ktoré ovplyvňujú pôdu. Práca je zameraná najmä na organickú časť, pretože je to tá časť, ktorá ovplyvňuje úrodnosť, obsah organickej hmoty, ale aj fyzikálne a chemické vlastnosti pôdy. Pre správne posúdenie vplyvu organickej časti biouhlia na pôdu je potrebné túto časť oddeliť od anorganickej časti, na čo boli vyvinuté postupy. V tejto práci boli využité 2 metodiky a to alkalická extrakcia (viď kapitolu 5.3.1) a pomerne nový a modernejší prístup chemickej frakcionácie na tzv. „humeomiká“ (viď kapitolu 5.3.2). K tomuto účelu bola využitá vzorka biouhlia od českej firmy BIOUHEL.CZ s. r. o. Z tohto materiálu boli pred použitím najprv odstránené veľké častice a iné nečistoty (neúplne pyrolyzovaná biomasa alebo napr. kamene) pomocou sita.

5.3.1 Alkalická extrakcia

Pred samotným postupom je potreba najskôr zo vzorky odstrániť vlhkosť, čo bolo prevedené sušením v sušiarňi pri teplote $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ približne 24 hodín. Z vysušeného materiálu bolo odobratých 10 g do plastovej nádoby, do ktorej bolo pridané extrakčné činidlo $0,5\text{ M NaOH}$ a $0,1\text{ M Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{ H}_2\text{O}$ o objeme 2 dm^3 . Plastová nádoba bola umiestnená na rotačnú trepačku, kde bola ponechaná cez noc. Vyextrahovaná organická hmota bola odfiltrovaná od tuhého zvyšku filtráciou za zníženého tlaku. Extrakt bol zneutralizovaný pomocou koncentrovanej HCl a prevedený do dialyzačných membrán o veľkosti pórov 1000 Da. Obsah bol dialyzovaný naproti destilovanej vode až do dosiahnutia hodnoty konduktivity vody pod

5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (voda bola vymieňaná). Takto vyčistený extrakt bol prevedený do plastových nádob, vymrazený v mrazničke a následne lyofilizovaný.

5.3.2 Chemická frakcionácia na tzv. „humeomiká“

Frakcia I

Bolo navážených cca 200 g materiálu, z ktorého bola najprv odstránená vlhkosť sušením v sušiarne pri teplote 45 °C. Bolo odobratých 3-krát 50 g vysušeného materiálu do 3 Elenmayerových baniek a do každej bolo primiešané 150 ml roztoku HCl (0,1 M). Tieto zmesi boli následne prikryté parafilmom a umiestnené na rotačnú trepačku, kde boli cez noc.

Zmes bola po trepaní prefiltrovaná za zníženého tlaku (použitý bol filtračný papier Whatman no. 41), tuhá časť na filtri bola znova premytá roztokom HCl (0,1 M). Filtráty boli kvantitatívne premiestnené do plastových kadičiek, čím vznikla frakcia *AQU1*. Táto frakcia bola následne zmrazená a vysušená lyofilizáciou. Tuhé časti na filtri boli sušené cez noc v sušiarne pri teplote 45 °C. Po vysušení boli premiestnené do Elenmayerových baniek, do ktorých bolo pridaných 150 ml metanolového roztoku dichlormetánu (100 ml DCM a 50 ml MeOH). Zmesi sa obdobne miešali na rotačnej trepačke cez noc, následne boli prefiltrované za zníženého tlaku. Tuhé časti na filtračnom papieri boli premyté 50 ml DCM a 50 ml MeOH, filtráty, čiže frakcia *ORG1*, boli presunuté do sklenených reagenčných fľašiek, objem filtrátov bol znížený pomocou vákuovej rotačnej odparky pri teplote približne 40 °C až 50 °C a plynného dusíku. Tuhý zbytkový materiál bol obdobne usušený v sušiarne pri teplote 45 °C cez noc.

Frakcia II

Vysušený materiál z frakcionácie I bol premiestnený do špeciálnych teflónových nádob, ktoré vydržia vysoký tlak (viď Obrázok č. 3)



Obrázok č. 3 : Teflónové vysokotlakové nádoby

K vysušenému materiálu bolo pridaných 50 ml 12 % roztoku BF_3 v MeOH. Nádoby boli dôkladne zavreté a upevnené dvoma kovovými plechmi, ktoré boli utesnené skrutkami. Tieto zmesi boli vložené na 8 hodín do sušiarne, ktorá bola nastavená na teplotu $85\text{ }^\circ\text{C}$. Po 8 hodinách boli nádoby vybraté, po ich vychladnutí bolo znova pridaných 50 ml do každej z nich a reakcia sa znova zopakovala na 8 hodín. Po 8 hodinách boli nádoby vybraté a po vychladnutí sa zmes prefiltrovala za zníženého tlaku. Tuhé časti boli premyté 50 ml MeOH, získané filtráty boli zriedené destilovanou vodou v pomere 1:1 a ich objem bol znížený pomocou vákuovej rotačnej odparky. Následne boli filtráty presunuté do deliacich lievikov a bolo pridaných prvých 25 ml CHCl_3 . Pridaním CHCl_3 boli vzniknuté 2 fázy, organická (ORG2) v spodnej časti a vodná (AQU2) vo vrchnej časti. Pomocou upúšťania kohúta bola organická fáza oddelená, avšak toto vytrepávanie bolo opakované až dovtedy, dokým nemal chloroform svetlú farbu, bolo to približne 3 krát.

Organická fáza pravdepodobne obsahovala vodu a tak bola vysušená pridaním Na_2SO_4 , ktorý sa v organickej fáze nerozpúšťa a dokáže na seba naviazať vodu, následne bol od zmesi oddelený filtráciou. Jej objem bol znížený pomocou rotačnej vákuovej odparky a plynného dusíka. Vodná fáza musí byť tiež vyčistená, čo bolo zabezpečené použitím dialyzačných membrán s veľkosťou pórov 1000 Da naproti vode až do dosiahnutia hodnoty konduktivity vody približne pod $5\text{ }\mu\text{S/cm}$ (voda bola vymieňaná). Takto vyčistená vodná fáza bola presunutá do plastových nádob, vymrazená v mrazničke a následne lyofilizovaná. Tuhý zbytkový materiál po izolácii frakcie II bol vysušený v sušiarňi pri teplote $45\text{ }^\circ\text{C}$ cez noc.

Frakcia III

Vysušený materiál z frakcionácie II bol premiestnený do varných baniek, do ktorých bolo pridané 50 ml roztoku KOH v MeOH (1 M). Do baniek boli umiestnené magnetické miešadlá. Táto zmes sa následne destiluje, takže bola zostavená aparátúra pozostávajúca z priameho chladiča opatreného chladením pomocou studenej kohútikovej vody. Na chladiči je umiestnený balónik s dusíkom, ktorý je pripevnený na ventil (otvorením ventilu sa zabezpečí inertná dusíková atmosféra v systéme). Pod bankou je hrniec s olejom, ktorý je zahrievaný varnou doskou, ktorá okrem teploty zabezpečuje spolu s magnetickým miešadlom aj miešanie zmesi. Aparatúru je vidieť na Obrázok č. 4. Teplota sa nastavila na teplotu $75\text{ }^\circ\text{C}$ a reakcia trvala 2 hodiny.



Obrázok č. 4: Destilačná aparátúra použitá pri získavaní frakcií III a IV.

Po dvoch hodinách boli zmesi prefiltrované za zníženého tlaku a tuhé časti na filtračnom papieri boli premyté 25 ml MeOH. Vzniknuté filtráty boli okyslené koncentrovanou HCl až do hodnoty pH približne 2. Následne boli zmesi zriedené destilovanou vodou v pomere 1:1, ich objem bol zmenšený na rotačnej vákuovej odparke. Následne boli zmesi presunuté do deliacich lievikov, kde boli pridaním 25 ml DCM vytvorené 2 fázy, obdobne ako vo frakcii II. Vytrepávanie bolo opakované až dokým nebola spodná organická fáza svetlej farby, približne 3 krát. Oddelené fázy AQU3 a ORG3 boli spracované obdobne ako vo frakcii II. Takto vyčistená vodná fáza bola presunutá do plastových nádob, vymrazená v mrazničke a následne vysušená lyofilizáciou. Organická frakcia bola vysušená dusíkom. Tuhý zbytkový materiál po izolácii frakcie III bol vysušený v sušiarňi pri teplote 75 °C.

Frakcia IV

Vysušený materiál z frakcionácie III bol presunutý do varných baniek, do ktorých bolo pridané 100 ml 47 % roztoku HI. Bola zostavená aparátúra, ktorá bola použitá vo frakcionácii III. Teplota bola nastavená na 75 °C a reakcia trvala 2 dni, pričom bola priebežne kontrolované miešanie v banke a teplota. Po ukončení destilácie boli zmesi zriedené 50 ml destilovanej vody a prefiltrované za zníženého tlaku cez Whatman Glass Microfiber Filter (GF/C) papier, tuhá časť bola premytá vodou. Vzniknutý filtrát, čiže frakcia AQU4, bol zneutralizovaný pomocou

NaHCO₃ na pH približne 7. Následne bol pridávaný Na₂S₂O₃ až po zmenu farby z hnedej na béžovú (farebnou zmena detekuje redukciu prebytočného voľného I₂ na jodid). Takto upravené zmesi boli dialyzované v dialyzačných membránach o veľkosti pórov 1000 Da naproti vode až po dosiahnutú hodnotu konduktivity pod 5 μS/cm (voda bola vymieňaná). Takto vyčistená vodná fáza bola presunutá do plastových nádob a vymrazená v mrazničke a následne vysušená lyofilizáciou.

5.4 Metódy charakterizácie jednotlivých vzoriek

5.4.1 Elementárna analýza

Elementárne zloženie bolo stanovené pomocou CHNS/O analyzátoru EA3000. Navážené vzorky v hliníkových kapsliach (~ 5 mg) boli spálené v peci pri 980 °C. Obsah základných organických prvkov C, H, N, S bol stanovený pomocou teplotne vodivostného detektoru (TCD) metódou kalibračnej krivky na sulfanilamid ako štandardu. Obsah O bol následne dopočítaný po korekcii na obsah popola a vlhkosť (určené pomocou TGA analýzy – vid'. kapitola 5.4.2).

5.4.2 Termogravimetrická analýza

Celkový obsah organickej hmoty, nespáliteľný podiel a vlhkosť vzoriek bola stanovená pomocou prístroja TGA Q5000. Nastavenie prístroja bolo nasledujúce: rýchlosť ohrevu 10 °C/min., rozsah teplôt 25–1000 °C, kyslíková atmosféra.

6 VÝSLEDKY A DISKUSIA

Jedným z cieľov štúdie organickej hmoty biouhlia je preskúmať jeho potencionálne využitie ako pôdny kondicionér. Organická hmota biouhlia vplýva na kľúčové vlastnosti pôdy ako úrodnosť, schopnosť udržať vodu, transportovať živiny, CEC a pod. Aby bolo možné popísať vplyv biouhlia, je potreba presne charakterizovať organickú hmotu, ktorú avšak treba najprv oddeliť od anorganickej časti. Izolácia organickej hmoty bola vykonaná klasickým postupom pre izoláciu organickej hmoty z rôznych biomás (alkalická extrakcia) a pre porovnanie bolo biouhlie podrobené aj cielenému sekvenčnému postupu, kde sa získavajú rôzne silne viazané frakcie podobných typov molekúl.

6.1 Porovnanie výťažkov extrakčných metód

Výťažky boli získané dvomi spôsobmi, resp. dvomi metódami (chemická frakcionácia na tzv. „humeomiká“ a alkalická extrakcia). Aplikovaním chemickej frakcionácie na tzv. „humeomiká“ boli získané 4 frakcie organickej hmoty, pričom 3 z týchto frakcií sú rozdelené na 2 „podfrakcie“ na základe rozpustnosti (vo vode rozpustné AQU a rozpustné v organických rozpúšťadlách ORG), posledná 4. frakcia obsahuje len AQU frakciu. Druhou extrakčnou metódou zvanou alkalická extrakcia bola taktiež získaná organická hmota. Každá metóda bola zopakovaná 3 krát, zdrojová matrica biouhlia mala v prípade chemickej frakcionácie na tzv. „humeomiká“ hmotnosť 50 g a v prípade alkalickej extrakcie hmotnosť 10 g. V tabuľke č. 2 sú uvedené priemerné hmotnosti získaných výťažkov:

Tabuľka č. 2: Priemerné hmotnosti výťažkov oboch použitých metód

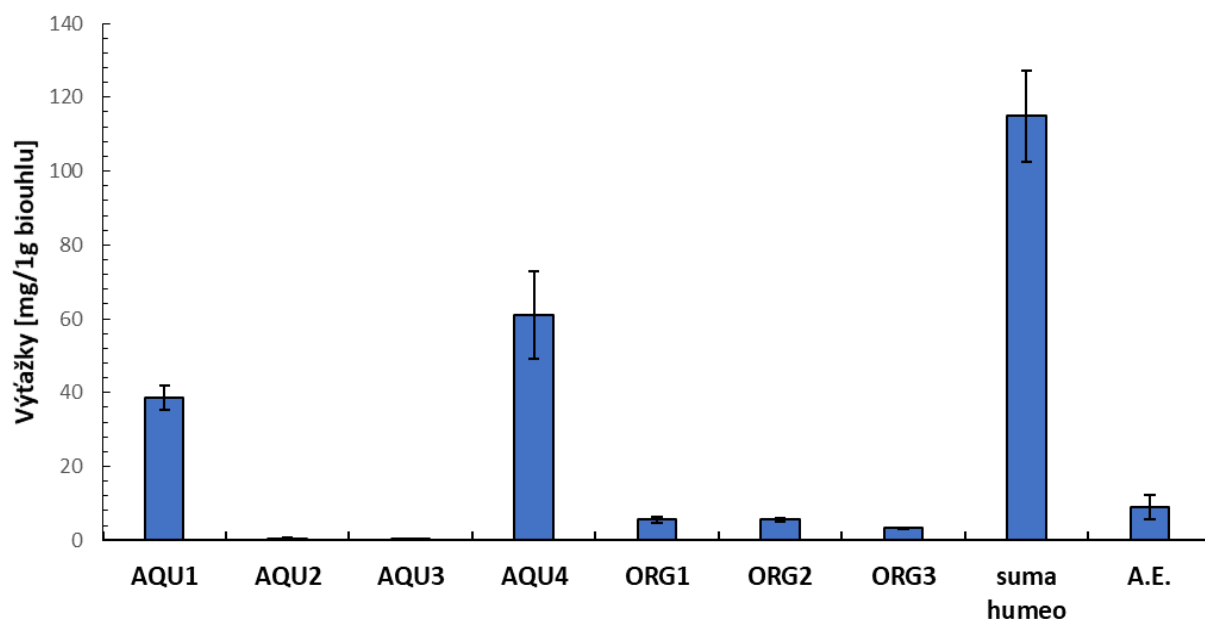
Vzorka	Priemerná hmotnosť [mg]
AQU1	1927,0 ± 166,7
AQU2	27,0 ± 7,6
AQU3	8,3 ± 7,7
AQU4	3056,4 ± 594,1
ORG1	279,0 ± 43,3
ORG2	276,4 ± 24,6
ORG3	168,5 ± 7,5
Σ HUMEO	5742,6 ± 619,9
AE	89,4 ± 31,9

Na základe získaných hmotností výťažkov je možné povedať, že najväčším výťažkom je práve frakcia AQU4. Avšak, ak sa bližšie pozrieme na charakter jednotlivých výťažkov a na to, ako sme ich získali, tieto závery neprinášajú predstavu o obsahu organickej hmoty, keďže pri príprave frakcií dochádzalo k nasoleniu vzoriek a teda výťažky obsahujú rôzne soli a pod. Na druhej strane je vo výťažkoch vidieť akýsi trend, prvá frakcia AQU1, v ktorej by sa mali nachádzať voľné, neviazané molekuly alebo molekuly viazané len veľmi slabo má výrazne väčšiu hmotnosť ako AQU2 a AQU3. Od prvej frakcie smerom k štvrtej sa proces získania týchto frakcií sústreďuje na silnejšie viazané molekuly (viď kapitolu 2.2.2 a Obrázok č. 2). Čo

sa týka organorozpustných frakcií, je možné pozorovať podobný trend, kedy ORG1 frakcia, v ktorej by sa mali nachádzať voľné alebo veľmi slabovo viazané molekuly je najväčšia, a naopak ORG3 frakcia, kde by sa mali nachádzať silnejšie viazané molekuly má najmenšiu hmotnosť, avšak medzi hmotnosťami týchto frakcií nie je výrazný rozdiel ako pri vo vode rozpustných AQU frakciách. Takisto ako u frakciách AQU, tak aj pri ORG frakciách platí, že tieto frakcie môžu obsahovať rôzne nečistoty, ktoré sa v priebehu dialýzy a iných čistiacich procesoch neodstránili. Výťažok alkalického extraktu bol v porovnaní s celkovým výťažkom chemickej frakcionácie na tzv. „humeomiká“ (Suma HUMEOM) niekoľkonásobne menší, avšak takéto porovnanie nie je úplne smerodajné, dokým to nie je vzaté do súvislosti s elementárnou analýzou a termogravimetriou, na základe ktorých je možné uskutočniť prepočet na obsah organickej hmoty vo všetkých vzorkách. Ďalej, keďže malo biouhlie v priebehu procesu rôznu hmotnosť, tak nám iný a prehľadnejší pohľad ponúka tabuľka č. 3 a graf č. 1, kde je vidieť výťažok organickej hmoty v pomere k 1 g biouhlia.

Tabuľka č. 3: Výťažky organickej hmoty jednotlivých vzoriek v pomere ku 1 g biouhlia

Vzorka	Výťažok na 1 g biouhlia (mg/1 g biouhlia)
AQU1	38,54 ± 3,33
AQU2	0,54 ± 0,15
AQU3	0,17 ± 0,15
AQU4	61,13 ± 11,83
ORG1	5,58 ± 0,89
ORG2	5,53 ± 0,49
ORG3	3,37 ± 0,15
Σ HUMEOM	114,85 ± 12,39
AE	8,94 ± 3,19



Graf č. 1: Výťažky organickej hmoty jednotlivých frakcií v pomere ku 1 g biouhlia

6.2 Elementárna analýza a termogravimetria

Ako už bolo spomenuté vyššie, v jednotlivých frakciách pri procese prípravy vzniká veľké množstvo solí, ktoré síce boli dialyzované, ale aj napriek tomu ich patrne obsahujú, frakcie môžu tiež obsahovať anorganické látky, ktoré cez dialyzačné membrány neprešli. Preto je potrebné vykonať elementárnu analýzu, pomocou ktorej je možné výťažky prepočítať na celkové množstvo hmoty, resp. organických elementov. Elementárnou analýzou boli zistené obsahy základných organických prvkov C, H, N, S, všetkých frakcií. Čo sa týka stanovenia obsahu O, bolo by možné ho dopočítať po stanovení obsahu vlhkosti a popola, avšak táto práca sa upriamuje najmä na C a N, keďže tie sú najdôležitejšie v súvislosti s aplikáciou biouhlia do pôdy s cieľom zvýšiť jej úrodnosť a zlepšiť podmienky na rast. Výsledky sú spriemerované z 3 opakovaní a je možné ich vidieť v tabuľke č. 4. Elementárnej analýze bola podrobená aj zdrojová matrica, s cieľom zistiť obsah C a N pred chemickou frakcionáciou na tzv. „humeomiká“ a alkalickou extrakciou.

Vo všeobecnosti obsahujú organorozpustné frakcie viac C ako vo vode rozpustné. Čo sa týka obsahu C, najväčšie zastúpenie má vo frakcii ORG1, ktorá predstavuje neviazanú – mobilnú frakciu molekúl, ktoré by v prípade aplikácie do pôdy boli obdobne ako u frakcie AQU1 ľahko vylúhovateľné do okolitého prostredia. Spomedzi AQU frakcií obsahuje najviac C frakcia AQU3, ktorá má silnejšie viazané molekuly. Frakcia AQU4, ktorá je najsilnejšie viazaná obsahuje uhlíka pomerne málo a to vyše 2 %. Mimo frakcie AQU4 je obsah C a N v AQU frakciách vyšší smerom k silnejšie viazaným frakciám. Pri ORG frakciách je možné si všimnúť, že sa naopak obsah N znižuje smerom k silnejšie viazaným frakciám a obsah C je ako už bolo vyššie spomenuté najvyšší pri voľnej frakcii ORG1. Pri porovnaní frakcií humeomík a organickej hmoty získanej pomocou alkalického extrakcie je vidieť, že vzorka získaná pomocou alkalického extrakcie obsahuje najviac N popri ostatných frakciách. Obsah C a N je možné vidieť v tabuľke č. 4:

Tabuľka č. 4: Obsah C a N v jednotlivých izolovaných frakciách humeomík a vzorkách získaných alkalickou extrakciou (AE)

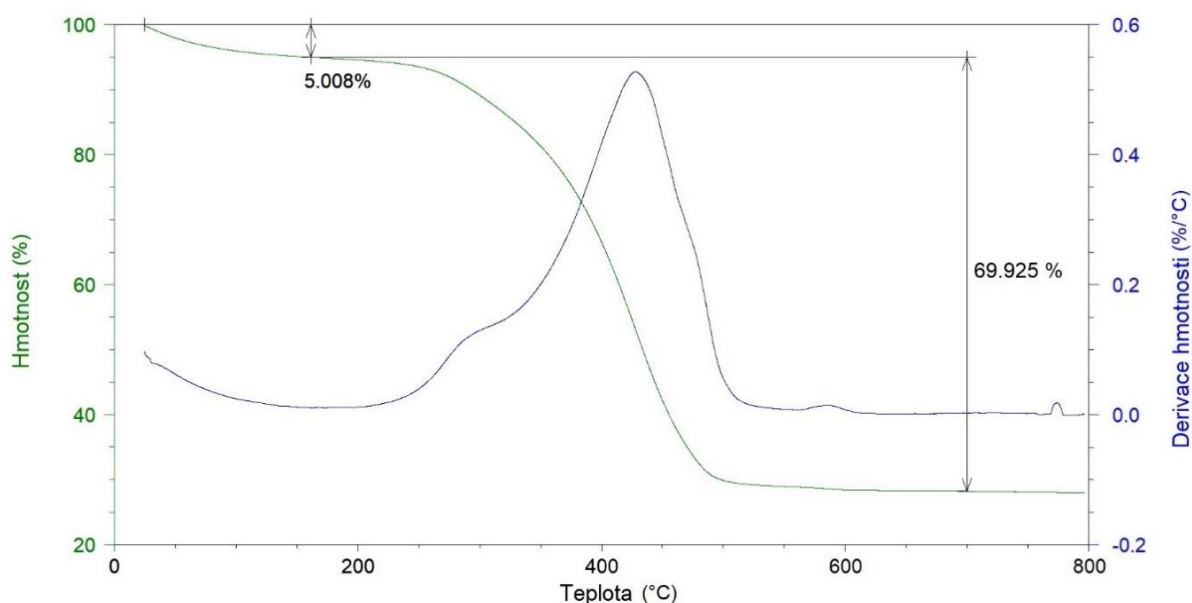
Vzorka	C _{org} (hm.%)	N _{org} (hm.%)
AQU1	3,266 ± 0,125	0,782 ± 0,060
AQU2	14,558 ± 2,582	1,581 ± 0,259
AQU3	24,177 ± 2,594	2,304 ± 0,584
AQU4	2,189 ± 0,042	0,727 ± 0,033
ORG1	66,225 ± 5,401	3,141 ± 0,589
ORG2	50,875 ± 2,562	2,937 ± 0,058
ORG3	63,153 ± 1,678	2,635 ± 0,057
AE	48,009 ± 2,503	3,532 ± 0,207

Elementárna analýza bola využitá aj pre charakterizáciu pôvodného biouhlia, ktoré slúžilo ako zdrojová matrica pre izoláciu organickej hmoty extrakciou na humeomiká a alkalickú extrakciu. Namerané výsledky (priemer z 6 čiastkových opakovaných meraní) sú uvedené v tabuľke č. 5:

Tabuľka č. 5: Obsah C a N v zdrojovej matrici

Vzorka	C _{org} (hm.%)	N _{org} (hm.%)
Biouhlie	47,635 ± 5,026	2,555 ± 0,370

Ďalšou využitou metódou pre určenie obsahu organickej hmoty v analyzovanom vzorku biouhlia bola termogravimetria. Výsledkom tohto merania je termogravimetrická krivka, ktorú je vidieť na Graf č. 2: Behom tohto merania sa vzorka ohrieva a sleduje sa váhový úbytok materiálu. Najprv dochádza k odparovaniu voľnej a viazanej vody, čo je vidieť na grafe č. 2 – váhový úbytok do približne 200 °C. Následne s ďalším zahrievaním začne dochádzať k degradácii organickej hmoty, ktorá sa rozkladá na oxid uhličitý a vodnú paru. Celkový obsah organickej hmoty tak predstavuje váhový úbytok medzi cca 200 °C a 600 °C. Zbytkový materiál predstavuje tzv. popol, ide o anorganické zložky obsiahnuté v biouhli.



Graf č. 2: Termogravimetrická analýza

6.3 Stanovenie organického C a N

Pre stanovenie organického uhlíka a dusíka vo vzorkách je potrebný prepočet na základe výsledkov z predošlých dvoch podkapitol a teda na základe výsledkov elementárnej analýzy, termogravimetrie a zvážených výťažkov. Výpočet je nasledujúci:

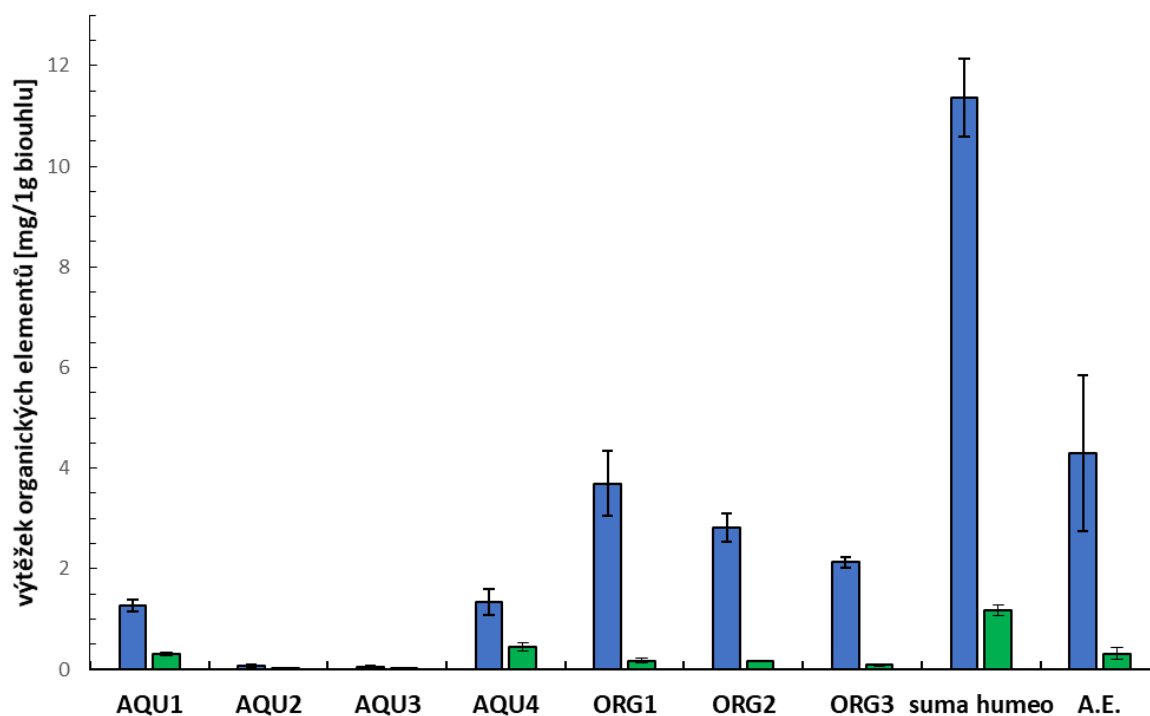
$$C_{org} = \frac{\text{Obsah C}}{100} \cdot \text{Výt'azok na 1 g biouhlia} \quad (1)$$

Obdobný výpočet prislúcha aj výpočtu organického dusíka N_{org} . Výťažok jednotlivých organických elementov vyjadruje tabuľka č. 6 a Graf č. 3:

Tabuľka č. 6: Výťažok organických elementov C_{org} a N_{org} v jednotlivých vzorkách

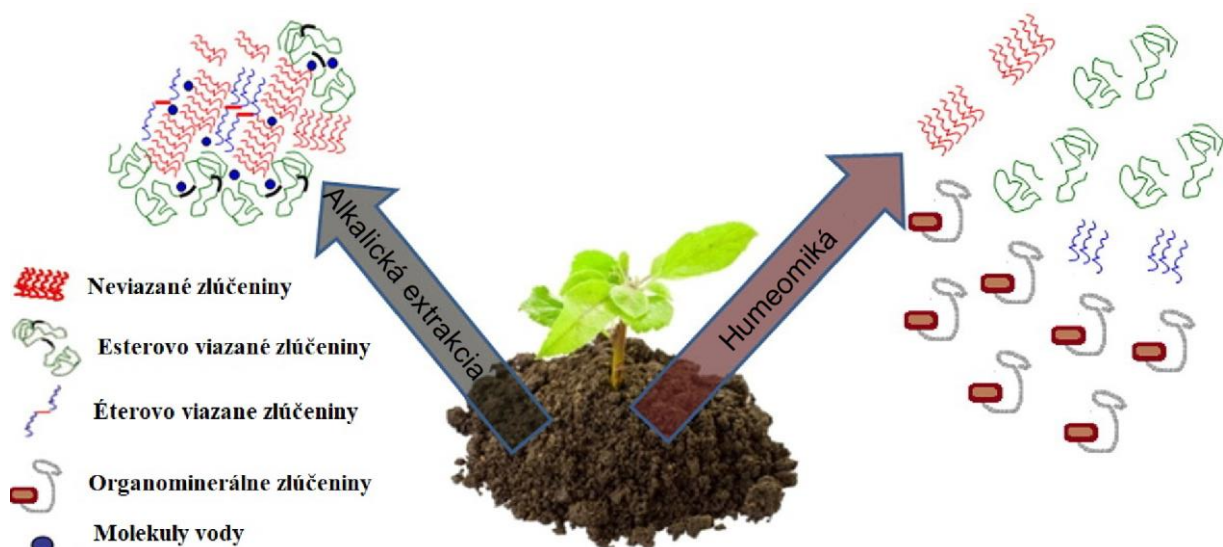
Vzorka	Corg (mg C _{org} /1 g biouhlia)	Norg (mg N _{org} / 1 g biouhlia)
AQU1	1,2588 ± 0,1191	0,3014 ± 0,0348
AQU2	0,0786 ± 0,0262	0,0085 ± 0,0028
AQU3	0,0401 ± 0,0375	0,0038 ± 0,0037
AQU4	1,3379 ± 0,2613	0,4442 ± 0,0886
ORG1	3,6953 ± 0,6479	0,1753 ± 0,0427
ORG2	2,8124 ± 0,2876	0,1623 ± 0,0148

Vzorka	C _{org} (mg C _{org} /1 g biouhlia)	N _{org} (mg N _{org} / 1 g biouhlia)
ORG3	2,1283 ± 0,1103	0,0888 ± 0,0044
ΣHUMEO	11,3514 ± 0,7741	1,1843 ± 0,1056
AE	4,2920 ± 1,5477	0,3158 ± 0,1142



Graf č. 3: Výťažok organických elementov C_{org} a N_{org}

Výtěžok organických elementov C_{org} a N_{org} je ako už bolo vyššie naznačené smerom k silnejšie viazaným frakciám nižší, frakcie AQU2 a AQU3 neobsahujú takmer žiadnu organickú hmotu. Celková výtěžnosť C predstavuje v prípade humeomík približne 2,383 % z celkového obsahu C v zdrojovej matici, výtěžnosť N je trochu vyššia a to približne 4,635 %. Obe výtěžnosti sú relatívne malé, z čoho je možné vyvodit', že skúmaná vzorka biouhlia má pevnú štruktúru, z ktorej nemožno vyizolovať mnoho dostupnejšiu organickú hmotu. Druhá extrakčná metóda (alkalická extrakcia) má výtěžnosť ešte nižšiu, a to pre C 0,901 % a pre N 1,236 %. Výtěžnosť N bola pri oboch metódach vyššia ako výtěžnosť C. Suma humeo udávajúca celkové množstvo izolovaného organického uhlíka predstavuje približne 12 mg/1 g zdrojového biouhlia, čo predstavuje malú výtěžnosť, ale stále ide o väčší výtěžok ako je celkový izolovateľný organický uhlík získaný alkalickou extrakciou. Z týchto skutočností vyplýva, že na analýzu pevných zdrojových matric, ako je napríklad predmetné biouhlie je vhodnejšie použiť chemickú frakcionáciu na tzv. „humeomiká“ ako alkalickú extrakciu, ktorá je síce prácnejšia, no v prípade C je približne 2,5 krát efektívnejšia, v prípade N ešte viac a to takmer 4 krát. Podobné skutočnosti je možné nájsť aj v práci od Drosos et. al. [30], kde autor práce získal pomocou sekvenčnej chemickej frakcionácie na tzv. „humeomiká“ o približne 235 % viac organickej hmoty v porovnaní s alkalickou extrakciou. Autor sa ďalej v práci zameriava na charakterizáciu získaných izolovaných frakcií a porovnáva ich s extraktom získaným na základe klasickej alkalickéj extrakcie, čo je znázornené na Obrázok č. 5:



Obrázok č. 5 : Porovnanie a znázornenie alkalickej extrakcie s chemickou frakciáciou na tzv. „humeomiká“ [30].

Celkový obsah C analyzovanej vzorky biouhlia je $476,345 \pm 50,261$ mg/1 g biouhlia a celkový obsah N biouhlia je $25,553 \pm 3,702$ mg/1 g biouhlia. Na druhej strane, z termogravimetrie vyplýva, že biouhlie obsahuje približne $699,25 \pm 44,901$ mg organickej hmoty na 1 g biouhlia a teda vzorka z väčšej časti obsahuje organickú hmotu, konkrétne takmer 70 %.

Celkovo z analýz vyplýva, že skúmané biouhlie je skutočne rigidný a odolný materiál, keďže sa z neho podarilo vyizolovať len malú časť a to sa na izoláciu použili pomerne agresívne činidlá, rozpúšťadlá, teploty a pod., no aj napriek tomu sa nepodarilo narušiť jeho štruktúru natoľko, aby bolo možné vyextrahovať aj silne viazanú organickú hmotu. Dá sa konštatovať, že je to pozitívny výsledok, keďže to naznačuje dlhodobé pôsobenie biouhlia v pôde. Pre ďalšie a podrobnejšie popísanie pôsobenia biouhlia by bolo potrebné získané frakcie charakterizovať a to jednak chromatografickými metódami (GC-MS alebo LC-MS), ktoré by poskytli informácie o molekulárnej úrovni frakcií alebo metódami štruktúrnej analýzy (napríklad FTIR, NMR). Ako ďalšia možnosť, ktorá sa javí, je pomocou sekvenčnej chemickej frakcionácie na tzv. „humeomiká“ charakterizovať biouhlie, ktoré bolo podrobené kultivácií a pôsobeniu pôdných mikroorganizmov. Tím by bolo možné lepšie posúdiť ich potencionálne pôsobenie na biouhlie v pôde a študovať biodostupnosť organickej hmoty biouhlia pre okolité pôdne prostredie.

ZÁVER

Úlohou tejto bakalárskej práce bolo popísať biouhlie, produkt vyrobený firmou BIOUHEL.CZ, s cieľom lepšie pochopiť pôsobenie biouhlia ako pôdneho supplementu a optimalizovať vybrané metodiky.

V rámci experimentálnej časti boli pripravené vzorky pomocou chemickej frakcionácie na tzv. „humeomiká“. Touto metódou boli pripravené vzorky frakcií obsahujúce organickú hmotu s rôznou rozpustnosťou, buď vo vode alebo v organických rozpúšťadlách a jednotlivé frakcie sú rozdelené na základe ich väzby k zdrojovej matici. Organická hmota bola vyizolovaná aj druhým spôsobom a to klasickou alkalickou extrakciou. Vzorky boli následne charakterizované pomocou elementárnej analýzy, ktorou boli stanovené organické prvky C, H, N, a S, pričom táto práca je zameraná najmä na C a N. Kvôli stanoveniu celkového obsahu organickej hmoty bola elementárna analýza doplnená o termogravimetrickú analýzu.

Výsledky analýz priniesli zaujímavé závery o obsahu organických elementov v každej z frakcií. Prepočtom bolo stanovené, koľko a aké organické elementy sú obsiahnuté v 1 g biouhlia. Potvrdili sa predpoklady o pevnej štruktúre skúmanej vzorky biouhlia vydedukované pri príprave vzoriek v experimentálnej časti. Pevná štruktúra tohto biouhlia vyplýva z skutočnosti, že sa z biouhlia aj napriek použitiu silných rozpúšťadiel nepodarilo vyextrahovať veľmi silne viazanú organickú hmotu. Tento produkt má teda po tejto stránke potenciál pri využití v poľnohospodárskej sfére ako pôdny supplement, keďže biouhlie bude pravdepodobne pôsobiť v pôde pomerne dlhú dobu a bude takto prispievať k stabilizácii organickej hmoty v pôde.

Pre lepšie pochopenie efektov konkrétneho biouhlia v pôde by bolo vhodné charakterizovať ho aj inými analytickými metódami, avšak z technických a časových dôvodov to nebolo možné, na druhej strane sa dbal aj dôraz na dodržanie rozsahu bakalárskej práce. Analýzy vykonané v tejto práci prinášajú základ, na ktorom je možné jednoducho postaviť ďalšiu výskumnú činnosť v danej problematike.

ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV

- [1] LEHMANN, Johannes, Matthias C. RILLIG, Janice THIES, Caroline A. MASIELLO, William C. HOCKADAY a David CROWLEY. Biochar effects on soil biota – A review. *Soil Biology and Biochemistry*. 2011, **43**(9), 1812-1836. DOI: 10.1016/j.soilbio.2011.04.022. ISSN 00380717.
- [2] TAN, Zhongxin, Carol S.K. LIN, Xiaoyan JI a Thomas J. RAINEY. Returning biochar to fields: A review. *Applied Soil Ecology*. 2017, 116, 1-11. DOI: 10.1016/j.apsoil.2017.03.017. ISSN 09291393.
- [3] Back to the Future: Terra Preta – Ancient Carbon Farming System for Earth Healing in the 21st Century. In: *Permaculture News* [online]. 2010 [cit. 2019-12-01]. Dostupné z: <https://permaculturenews.org/2010/05/25/back-to-the-future-terra-preta-%E2%80%93-ancient-carbon-farming-system-for-earth-healing-in-the-21st-century/>
- [4] DOWNIE, Adriana, Alan CROSKY a Paul MUNROE. Physical properties of biochar. In: *Biochar for environmental management*. Sydney, 2012. Dizertácia. THE UNIVERSITY OF NEW SOUTH WALES.
- [5] YUAN, Jin-Hua, Ren-Kou XU a Hong ZHANG. The forms of alkalis in the biochar produced from crop residues at different temperatures. *Bioresource Technology*. 2011, 102(3), 3488-3497. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.11.018. ISSN 09608524.
- [6] SPOKAS, Kurt A. Review of the stability of biochar in soils: predictability of O. Carbon Management. 2014, 1(2), 289-303. DOI: 10.4155/cmt.10.32. ISSN 1758-3004.
- [7] KUMAR, A., I.J. SCHREITER, A. WEFER-ROEHL, L. TSECHANSKY, C. SCHÜTH a E.R. GRABER. Production and Utilization of Biochar From Organic Wastes for Pollutant Control on Contaminated Sites. *Environmental Materials and Waste*. Elsevier, 2016, 2016, 91-116. DOI: 10.1016/B978-0-12-803837-6.00005-6. ISBN 9780128038376.
- [8] YE, Shujing, Guangming ZENG, Haipeng WU, et al. Biological technologies for the remediation of co-contaminated soil. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2017, 37(8), 1062-1076. DOI: 10.1080/07388551.2017.1304357. ISSN 0738-8551.
- [9] GAI, Xiapu, Hongyuan WANG, Jian LIU, Limei ZHAI, Shen LIU, Tianzhi REN, Hongbin LIU a Jonathan A. COLES. Effects of Feedstock and Pyrolysis Temperature on Biochar Adsorption of Ammonium and Nitrate. *PLoS ONE*. 2014, 9(12). DOI: 10.1371/journal.pone.0113888. ISSN 1932-6203.
- [10] HU, Xun a Mortaza GHOLIZADEH. Biomass pyrolysis: A review of the process development and challenges from initial researches up to the commercialisation stage. *Journal of Energy Chemistry*. 2019, 39, 109-143. DOI: 10.1016/j.jechem.2019.01.024. ISSN 20954956.
- [11] Pyrolysis. *IUPAC Compendium of Chemical Terminology*. Research Triangle Park, NC: IUPAC, 2009. DOI: 10.1351/goldbook.P04961. ISBN 0-9678550-9-8.
- [12] SHAFIZADEH, F. Introduction to pyrolysis of biomass. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 1982, 3(4), 283-305. DOI: 10.1016/0165-2370(82)80017-X. ISSN 01652370.

- [13] KAN, Tao, Vladimir STREZOV a Tim J. EVANS. Lignocellulosic biomass pyrolysis: A review of product properties and effects of pyrolysis parameters. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Research Triangle Park, NC: IUPAC, 2016, **57**(57), 1126-1140. DOI: 10.1016/j.rser.2015.12.185. ISBN 0-9678550-9-8. ISSN 13640321.
- [14] CHA, Jin Sun, Sung Hoon PARK, Sang-Chul JUNG, Changkook RYU, Jong-Ki JEON, Min-Chul SHIN a Young-Kwon PARK. Production and utilization of biochar: A review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 2016, **40**, 1-15. DOI: 10.1016/j.jiec.2016.06.002. ISSN 1226086X.
- [15] UCHIMIYA, Minori, Lynda H. WARTELLE, K. Thomas KLASSON, Chanel A. FORTIER a Isabel M. LIMA. Influence of Pyrolysis Temperature on Biochar Property and Function as a Heavy Metal Sorbent in Soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011, **59**(6), 2501-2510. DOI: 10.1021/jf104206c. ISSN 0021-8561.
- [16] YAO, Ying, Bin GAO, Mandu INYANG, Andrew R. ZIMMERMAN, Xinde CAO, Pratap PULLAMMANAPPALLIL a Liuyan YANG. Biochar derived from anaerobically digested sugar beet tailings: Characterization and phosphate removal potential. *Bioresource Technology*. 2011, **102**(10), 6273-6278. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.03.006. ISSN 09608524.
- [17] BIOCHAR WORK IN DEVELOPING COUNTRIES: THE 9 COUNTRY PROJECTS. In: *Biochar International* [online]. [cit. 2019-12-07]. Dostupné z: <https://biochar-international.org/9country/>
- [18] Carbon Sequestration. In: *Science direct* [online]. [cit. 2019-12-07]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/earth-and-planetary-sciences/carbon-sequestration>
- [19] ZHU, Z.L. a D.L. CHEN. Nitrogen fertilizer use in China - Contributions to food production, impacts on the environment and best management strategies. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. **63**(2/3), 117-127. DOI: 10.1023/A:1021107026067. ISSN 13851314.
- [20] NEBBIOSO, Antonio a Alessandro PICCOLO. Basis of a Humeomics Science: Chemical Fractionation and Molecular Characterization of Humic Biosuprastructures. *Biomacromolecules*. 2011, **12**(4), 1187-1199. DOI: 10.1021/bm101488e. ISSN 1525-7797.
- [21] YAO, Ying, Bin GAO, Ming ZHANG, Mandu INYANG a Andrew R. ZIMMERMAN. Effect of biochar amendment on sorption and leaching of nitrate, ammonium, and phosphate in a sandy soil. *Chemosphere*. 2012, **89**(11), 1467-1471. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2012.06.002. ISSN 00456535.
- [22] STEVENSON, F. J. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. 2nd ed. New York: Wiley, 1994. ISBN 04-715-9474-1.
- [23] Isolation of IHSS Soil Fulvic and Humic Acids. In: *National organic matter research* [online]. Glen Osmond: IHSS, 1996 [cit. 2020-01-12]. Dostupné z: <http://humic-substances.org/isolation-of-ihss-soil-fulvic-and-humic-acids/>
- [24] NGUYEN, Binh Thanh, Johannes LEHMANN, William C. HOCKADAY, Stephen JOSEPH a Caroline A. MASIELLO. Temperature Sensitivity of Black Carbon

- Decomposition and Oxidation. 2010, 44(9), 3324-3331. DOI: 10.1021/es903016y. ISSN 0013-936X.
- [25] PLAZA, César, Beatrice GIANNETTA, Iria BENAVENTE, Costantino VISCHETTI a Claudio ZACCONE. Density-based fractionation of soil organic matter: effects of heavy liquid and heavy fraction washing. *Scientific Reports*. 2019, 9(1). DOI: 10.1038/s41598-019-46577-y. ISSN 2045-2322.
- [26] RODRÍGUEZ-VILA, Alfonso, Verónica ASENSIO, Rubén FORJÁN a Emma F. COVELO. Chemical fractionation of Cu, Ni, Pb and Zn in a mine soil amended with compost and biochar and vegetated with *Brassica juncea* L. *Journal of Geochemical Exploration*. 2015, 158, 74-81. DOI: 10.1016/j.gexplo.2015.07.005. ISSN 03756742.
- [27] SALBU, Brit a Trygve KREKLING. Characterisation of radioactive particles in the environment†. *The Analyst*. 123(5), 843-850. DOI: 10.1039/a800314i. ISSN 00032654.
- [28] FIGUEREDO, Natália Aragão de, Lioyando Marciano da COSTA, Leônidas Carrijo Azevedo MELO, Evair Antônio SIEBENEICHLERD a Jairo TRONTO. Characterization of biochars from different sources and evaluation of release of nutrients and contaminants. *REVISTA CIÊNCIA AGRONÔMICA*. 2017, 48(3). DOI: 10.5935/1806-6690.20170046. ISSN 1806-6690.
- [29] SUN, Jingling, Marios DROSOS, Pierluigi MAZZEI, Davide SAVY, Daniele TODISCO, Giovanni VINCI, Genxing PAN a Alessandro PICCOLO. The molecular properties of biochar carbon released in dilute acidic solution and its effects on maize seed germination. *Science of The Total Environment*. 2017, 576, 858-867. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.10.095. ISSN 00489697.
- [30] DROSOS, Marios, Antonio NEBBIOSO, Pierluigi MAZZEI, Giovanni VINCI, Riccardo SPACCINI a Alessandro PICCOLO, 2017. A molecular zoom into soil Humeome by a direct sequential chemical fractionation of soil. *Science of The Total Environment*. **586**, 807-816. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.02.059. ISSN 00489697.

ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK A SYMBOLOV

Skratka	Vysvetlenie skratky
CEC	Katiónová výmenná kapacita
AQU	Vodné frakcie
ORG	Organické frakcie
HTL	Hydrotermálne skvapalňovanie
HTC	Hydrotermálna karbonizácia
HTG	Hydrotermálne splyňovanie
ICP-AES	Atómová emisná spektroskopia s indukčne viazanou plazmou
NMR	Nukleárna magnetická rezonancia
FTIR	Infračervená spektroskopia s fourierovou transformáciou
ICP-OES	Optická emisná spektroskopia s indukčne viazanou plazmou
EA	Elementárna analýza
TGA	Termogravimetria
LC-MS	Kvapalinová chromatografia-hmotnostná spektroskopia
GC-MS	Plynová chromatografia-hmotnostná spektroskopia