



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE MATERIÁLŮ

INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE

**POVLAKOVANÁ HNOJIVA SE ZPOMALENÝM
UVOLŇOVÁNÍM NA BÁZI PHB**

COATED SLOW-RELEASE FERTILIZERS BASED ON PHB

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Magdalena Bobková

VEDOUcí PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Bc. Soňa Kontárová, Ph.D.

BRNO 2022

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1699/2021

Akademický rok: 2021/22

Ústav: Ústav chemie materiálů

Studentka: **Magdalena Bobková**

Studijní program: Chemie a technologie materiálů

Studijní obor: bez specializace

Vedoucí práce: **Ing. Bc. Soňa Kontárová, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Povlakovaná hnojiva se zpomaleným uvolňováním na bázi PHB

Zadání bakalářské práce:

Příprava pomalu se uvolňujících dusíkatých hnojiv s biodegradabilní matricí PHB a případně dalšími aditivy a jejich povlakování PHB roztokem. Jejich charakterizace s ohledem na kinetiku uvolňování dusíku ve vodném a půdním prostředí. V případě možnosti i zajištění provedení vegetačních testů a jejich vyhodnocení.

Termín odevzdání bakalářské práce: 27.5.2022:

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

Magdalena Bobková
studentka

Ing. Bc. Soňa Kontárová, Ph.D.
vedoucí práce

doc. Ing. František Šoukal, Ph.D.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2022

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá přípravou, charakterizací a optimalizací hnojiv se zpomaleným uvolňováním, povlakovaných roztokem poly-3-hydroxybutyrátu v dioxolanu. Nejdříve byly připraveny a povlakovány ruční formulace hnojiv s různým poměrem močoviny a biodegradabilního poly-3-hydroxybutyrátu v matrici, u kterých bylo studováno uvolňování močoviny ve vodním prostředí. U většiny formulací bylo po dvou měsících uvolněno pouze okolo 50 % hnojiva, byl tedy prokázán potenciál pro jejich použití jako hnojiv se zpomaleným uvolňováním. Dále byly připraveny pelety s různým poměrem močoviny a poly-3-hydroxybutyrátu pomocí čtvrtprovozního peletizačního zařízení, které byly následně povlakovány v dražovacím bubnu. Pelety byly studovány ve vodním a půdním prostředí a určitá směs také v polních testech. I u nich bylo potvrzeno zpomalené uvolňování močoviny a zároveň byla prokázána jejich schopnost dostatečné výživy rostlin. Jako nejperspektivnější byla vybrána formulace s 80 % močoviny a 20 % biodegradabilního poly-3-hydroxybutyrátu v matrici, u které došlo ve vodě k uvolnění 50 % hnojiva až po 44 dnech. V půdním prostředí bylo u této varianty také zaznamenáno pomalejší uvolňování dusíku a zároveň byl u všech variant povlakovaných hnojiv pozorován pozitivní vliv na vývoj hmotnosti nadzemních částí rostlin a na obsah chlorofylu v listech.

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with the preparation, characterization and optimization of slow-release fertilizers coated with a solution of poly-3-hydroxybutyrate in dioxolane. First, manual formulations of fertilizers consisting of different ratios of urea and poly-3-hydroxybutyrate were prepared and coated, which were studied for the release of urea in the water environment. Most of the formulations released only about 50 % of the fertilizer after two months, so the potential for their use as slow-release fertilizers was proved. Furthermore, pellets with different ratios of urea and poly-3-hydroxybutyrate were also prepared using a quarter-operation pelletizer and coated in a coating drum. The pellets were studied in water and soil environments and certain mixtures in field tests. The delayed release of urea was also confirmed, and their ability to adequately nourish the plants was proved. The formulation consisting of 80 % urea and 20 % biodegradable poly-3-hydroxybutyrate in the matrix, in which 50 % of the fertilizer was released in water after 44 days, was chosen as the most promising one. In the soil environment, a slower nitrogen release was also confirmed for this formulation, and at the same time, a positive effect on the weight development of the above-ground parts of the plants and on the chlorophyll content in the leaves was observed in all formulations of the coated fertilizers.

KLÍČOVÁ SLOVA

Hnojiva se zpomaleným uvolňováním, biodegradabilní povlak, močovina, poly-3-hydroxybutyrát, dioxolan, chytrá hnojiva

KEYWORDS

Slow-release fertilizers, biodegradable coating, urea, poly-3-hydroxybutyrate, dioxolane, smart fertilizers

BOBKOVÁ, Magdalena. *Povlakovaná hnojiva se zpomaleným uvolňováním na bázi PHB* [online]. Brno, 2022 [cit. 2022-05-22]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/137404>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie materiálů. Vedoucí práce Soňa Kontárová.

PROHLÁŠENÍ

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

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucí své bakalářské práce Ing. Bc. Soně Kontárové, Ph.D. a Mgr. Radku Přikrylovi, Ph.D. za jejich rady, nápady a podporu. Zároveň bych chtěla poděkovat doc. Ing. Petru Škarpovi, Ph.D. a Ing. Tomáši Kříškovi z Agronomické fakulty, Mendelovy univerzity za pomoc při zpracování experimentu.

OBSAH

Úvod	7
1 Teoretická část	8
1.1 Rozdělení jednotlivých typů hnojiv	8
1.1.1 Syntetická hnojiva	8
1.1.2 Organická hnojiva	9
1.1.3 Chytrá hnojiva	9
1.2 Hnojiva se zpomaleným uvolňováním	10
1.2.1 Anorganické látky s nízkou rozpustností	10
1.2.2 Organické dusíkaté látky s nízkou rozpustností	11
1.2.3 Hnojiva s živinami začleněnými v matici	11
1.2.4 Hnojiva na bázi hydrogelu	11
1.2.5 Povlakovaná hnojiva	11
1.3 Poly-3-hydroxybutyrát	13
1.3.1 Syntéza poly-3-hydroxybutyrátu	14
1.3.2 Vlastnosti poly-3-hydroxybutyrátu a jeho využití	15
1.3.3 Biodegradace	15
1.4 Význam dusíku pro rostliny	15
1.4.1 Cyklus dusíku	16
1.5 Negativní vliv hnojiv	17
1.5.1 Znečištění povrchové a podzemní vody	17
1.5.2 Znečištění vzduchu	17
1.5.3 Znečištění půdy	17
2 Experimentální část	19
2.1 Výroba hnojivových formulací	19
2.1.1 Materiály pro přípravu hnojiv	19
2.1.2 Ruční výroba	19
2.1.3 Výroba na čtvrtprovozním peletizačním zařízení	21
2.2 Testy ve vodním prostředí	22
2.3 Testy v půdním prostředí	23
2.3.1 Založení testů	23
2.3.2 Metody vyhodnocení testů	25

2.4	Polní testy.....	25
2.5	Metody pro studium vlastností polymerního povlaku	27
2.5.1	Termogravimetrická analýza	27
2.5.2	Gelová permeační chromatografie	27
3	Výsledky a diskuze.....	28
3.1	Testy ve vodním prostředí.....	28
3.1.1	Pelety připravené ručně	28
3.1.2	Pelety připravené na čtvrtprovozním zařízení	30
3.2	Polní testy.....	32
3.3	Testy v půdním prostředí	33
3.3.1	Stanovení obsahu amonného a nitratového dusíku.....	34
3.3.2	Stanovení obsahu chlorofylu v listu	35
3.3.3	Stanovení hmotnosti sušiny nadzemní části rostlin.....	36
3.3.4	Stanovení kořenové kapacity.....	37
3.4	Studium vlastností polymerního povlaku	37
3.4.1	Termogravimetrická analýza	37
3.4.2	Gelová permeační chromatografie	41
	Závěr.....	42
	Seznam použité literatury	43
	Seznam symbolů a zkratk	47
	Přílohy	49

ÚVOD

Světová populace neustále roste a předpokládá se, že do roku 2050 vzroste na 9,7 miliard obyvatel [1]. Obstarání dostatku potravy tak bude čím dál tím obtížnější. Jedním z možných řešení tohoto problému, jsou hnojiva, která značně zvyšují výnosy zemědělství. Obsahují všechny živiny potřebné pro růst rostlin, čímž zlepšují fyzikální, biologické i chemické vlastnosti půdy [2]. Jejich užívání, často až nadměrné, však představuje vážný ekologický problém, týkající se zejména zatížení a překyselení půdy, znečištění spodních vod a také atmosféry. Mimoto jejich nadužívání také paradoxně snižuje jejich efektivitu. Jedno z možných řešení představují „chytrá“ hnojiva, která živiny uvolňují postupně, čímž se zabrání jejich rychlému vyplavení z půdy a je tak možné hnojiva využívat účinněji, a tedy i v menší míře. Jednou ze slibných formulací těchto hnojiv jsou povlakovaná hnojiva, u kterých dochází k dočasnému omezení uvolňování živin pomocí mechanické bariéry. Tato práce je tedy zaměřená na jejich přípravu a optimalizaci. Jako materiál k povlakování byl, díky svým výjimečným mechanickým a biodegradabilním vlastnostem, vybrán poly-3-hydroxybutyrát (PHB) a jako hnojivo byla vybrána močovina.

Teoretická část se zabývá nejprve kategorizací jednotlivých hnojiv, s bližším představením „chytrých“ hnojiv a zejména hnojiv s povlakovanou vrstvou. Dále se věnuje charakterizaci PHB, přičemž je osvětlen výběr tohoto biopolymeru. Poté je přiblížen význam dusíku pro rostliny a průběh jeho cyklu v přírodě, a tedy zdůvodněna volba dusíkatého hnojiva, konkrétně močoviny, pro náš experiment. S dusíkatým koloběhem také souvisí různé nežádoucí efekty způsobené nadužíváním hnojiv, které jsou rozebrány závěrem teoretické části, čímž je vyzvednuta důležitost komerčního zavedení „chytrých“ hnojiv.

Cílem našeho experimentu byla příprava hnojiva se zpomaleným uvolňováním, které by obsahovalo co nejvyšší množství hnojiva (močoviny), ale zároveň dostatečné množství biopolymeru v matrici, aby byla adheze povlaku k povrchu pelety dostatečně kvalitní. Bylo tedy připraveno několik sérií s různým poměrem močoviny a PHB nejprve ručním lisováním, a následně na čtvrtprovozním peletizačním zařízení. Oba typy pelet byly povlakovány roztokem PHB v dioxolanu. Dioxolan byl vybrán, jelikož na rozdíl od běžně používaného chloroformu, jehož užívání bude omezeno legislativními dokumenty Zelené dohody pro Evropu (European Green Deal), je méně nebezpečný pro životní prostředí. Předchozí testy zároveň prokázaly, že oproti chloroformu také poskytuje kvalitnější a tenčí povlakovou vrstvu [3].

Kvalita povlakové vrstvy a průběh uvolňování hnojiva byly studovány nejprve pomocí testů ve vodním prostředí, kdy bylo množství uvolněné močoviny sledováno vázkovou metodou. Určité série byly dále zkoumány v půdním prostředí a vybraná směs také v polních testech. Byl tedy blíže charakterizován průběh uvolňování dusíku, odolnost hnojiv v přítomnosti půdních mikroorganismů a byl také porovnán jejich vliv na výnos kukuřice oproti 100% nepovlakované močovině. To bylo provedeno prostřednictvím analýzy půdy, kdy byl stanoven obsah amonného a nitrátového dusíku, a dále pomocí analýz rostlin, které zahrnovaly stanovení obsahu chlorofylu, hmotnosti sušiny a velikosti kořenového systému. Vlastnosti a přesnější složení biopolymerního povlaku byly zkoumány také pomocí gelové permeační chromatografie a termogravimetrické analýzy.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Rozdělení jednotlivých typů hnojiv

Pro podporu výnosů zemědělství byla vytvořena celá řada hnojiv, která se liší podle toho, jaké potřebné prvky rostlinám dodávají, případně v jaké podobě. Nejdéle používána jsou organická hnojiva (např. hnůj, močůvka), která byla ale z důvodu nižší účinnosti postupně nahrazována syntetickými hnojivy. V posledních letech je však kladen větší důraz na ekologii a udržitelnost, a proto pomalu začínají přicházet do praxe tzv. chytrá hnojiva, jež umožňují neefektivnější využití živin. Do této poslední skupiny spadají i hnojiva se zpomaleným uvolňováním.

1.1.1 Syntetická hnojiva

Syntetická neboli anorganická hnojiva obsahují ideální poměr potřebných živin a prvků v čisté rozpustné formě, které se díky tomu ve vodě přemění na ionty, a ty pak rychle doputují k rostlinám [4]. Zároveň je obsah živin koncentrovanější, takže lze hnojiva používat méně často. Dle obsahu prvků se dělí na jednosložková a vícesložková. U jednosložkových je stěžejní obsah jednoho prvku, který rostlinám v půdě chybí, např. dusík v močovině. Nejčastěji využívaným vícesložkovým hnojivem je pak N-P-K (dusík-fosfor-draslík) hnojivo obsahující všechny tři prvky esenciální pro výživu (viz tab. 1).

Nicméně syntetická hnojiva jsou hrozbou pro životní prostředí, jelikož jejich nezodpovědné užívání způsobuje znečištění vody, atmosféry a půdy, u které mohou z dlouhodobého hlediska i snížit úrodnost.

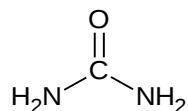
Tabulka 1: Hlavní prvky důležité pro výživu rostlin [2, 5, 6]

Prvek	Značka	Přijímán ve formě	Funkce	Hnojivo
Dusík	N	NO_3^- NH_4^+	Základní stavební jednotka bílkovin, chlorofylu, nukleových kyselin a hormonů	Močovina, dusičnan amonný, síran amonný
Fosfor	P	HPO_4^{2-} H_2PO_4^-	Složka fosfolipidů, nukleových kyselin a adenosintrifosfátu Součást důležitých procesů: přenos energie, růst kořenů, květů, plodů	Jednoduchý, dvojitý, trojitý superfosfát
Draslík	K	K^+	Aktivátor enzymů řídících fotosyntézu a dýchání Hlavní látka ovlivňující vodní bilanci a iontovou rovnováhu rostliny	Chlorid draselný Síran draselný

1.1.1.1 Močovina

Močovina (*Urea*) je dusíkaté hnojivo s nejvyšší koncentrací dusíku (46 %), které je vhodné zejména pro polní plodiny náročné na N (kukuřice, okopaniny, řepka). Lze jej použít jako základní hnojivo před sadbou, ale také k případnému přihnojení během růstu [7].

Z chemického hlediska se jedná o diamid kyseliny uhličité (obr. 1), který se průmyslově vyrábí reakcí amoniaku s oxidem uhličitým.



Obrázek 1: Strukturní vzorec diamidu kyseliny uhličité (močoviny)

Močovina se po aplikaci v půdě přeměňuje na amonné (NH_4^+) a hydrogenuhličitanové ionty (HCO_3^-). HCO_3^- odchází buďto v podobě oxidu uhličitého (CO_2), případně může s vápenatými ionty přítomnými v půdě reagovat za vzniku vápence. NH_4^+ se dále přeměňuje na dusičnanové ionty (NO_3^-). Zároveň se však během této přeměny může dusík uvolňovat i v podobě amoniaku. V tomto případě u suchých půd hrozí jeho vyprchání. Efektivní použití močoviny je tedy omezené potřebným dostatečným množstvím vlhkosti v půdě. Postupná přeměna různých forem N také omezuje její použití pro určité druhy rostlin, které jsou schopny reagovat na NH_4^+ i NO_3^- , jako jsou např. okopaniny. Její hlavní výhodou oproti dalšímu často užívanému dusíkatému hnojivu – ledku amonnému je bezpečnější manipulace. U ledku totiž při nesprávné manipulaci hrozí exotermní reakce s organickými látkami, tudíž i např. jeho peletizace ve směsi s PHB je potenciálně nebezpečná [8, 9].

1.1.2 Organická hnojiva

Přírodní, organická hnojiva jsou připravována z biologických a živočišných materiálů, díky čemuž nepředstavují pro půdu takovou zátěž. Uvolňování živin z nich sice probíhá pomaleji, ale na rozdíl od anorganických hnojiv zvyšují aktivitu půdních mikroorganismů, schopnost iontové výměny a samozřejmě také podíl organického uhlíku v půdě. Nevýhodou je, že jejich funkčnost závisí na teplotě a složení půdy, což komplikuje řízení přísunu živin rostlinám v potřebných fázích růstu, a ty tak mohou trpět jejich nedostatkem. Navíc zhruba 50 % dusíku se v nich nachází v podobě NH_4^+ iontů, které mohou do určité míry, v závislosti na způsobu aplikace, vyprchat a rostliny tak budou trpět jejich nedostatkem [2, 10].

Nejčastějšími typy organických hnojiv využívaných v zemědělství jsou hnůj, močůvka, kostní moučka a kompost.

1.1.3 Chytrá hnojiva

Ačkoli jsou hnojiva již dlouhou dobu a hojně využívána, jejich účinnost se stále pohybuje pouze mezi 30–50 %. Zbytek N je z půdy vyplaven, přičemž může různými způsoby poškodit jednotlivé ekosystémy [11]. Zároveň, přihlédneme-li k tomu, že zemědělské plochy zabírají 50 % z celkového obyvatelného prostoru, kterého bude při aktuální rychlosti růstu populace brzy potřeba mnohem více, narazíme na závažný problém, jak zajistit dostatečné zemědělské výnosy a zároveň zmenšit potřebné zemědělské plochy [12].

Řešením mohou být tzv. „chytrá (smart)“ hnojiva, která mají za cíl zefektivnit dodání živin rostlinám a eliminovat negativní účinky. Do této kategorie spadají nanohnojiva, bio-hnojiva a hnojiva se zpomaleným a kontrolovaným uvolňováním.

1.1.3.1 Nanohnojiva

Mezi tři hlavní typy nanohnojiv se řadí hnojiva o nano-rozměrech (10^{-9} m), tedy syntetizované nanočástice, hnojiva s aditivou o nano-rozměrech a hnojiva s nanopolymerními povlaky [13]. Lze je aplikovat do půdy i přímo na listy. Nejpoužívanější jsou nanočástice obsahující hlavní a vedlejší živiny řízeně dodávané rostlinám. Od ostatních materiálů se nanomateriály liší výjimečnými vlastnostmi

a funkcemi a především vysokou reaktivitou danou velkým měrným povrchem částic. Umožňují lepší stabilitu mechanismu uvolňování živin a také přesnější zacílení. Nicméně je však potřeba, aby jejich aplikace byla dokonale načasována, jelikož účinnost je ovlivněna klimatickými podmínkami [14].

1.1.3.2 Bio-hnojiva

Bio-hnojiva jsou definována jako látky obsahující žijící mikroorganismy – speciální bakterie a houby. Mikrobiální kmeny různými mechanismy zajišťují přísun živin, zvyšují úrodnost půdy a chrání rostliny před abiotickým a biotickým stresem a různými patogeny [15].

V posledních letech jsou vyvíjeny hlavně směsi více kmenů, u kterých je vyšší pravděpodobnost, že alespoň jeden z nich přežije a bude mít tu správnou funkci. Tato mikrobiální konsorcia se mohou skládat ze dvou a více kmenů, které jsou si buď blízké nebo vzdáleně příbuzné a poskytují celkový aditivní nebo synergický efekt biofertilizace. Jednou z nejznámějších kombinací je spojení bakterie *Rhizobium* a houby *Arbuscular mycorrhiza*. Nevýhodou bio-hnojiv však je jejich odlišné chování v různých typech půd a s tím spojené nevýznamné účinky na výnos plodin a nezaručená doba vytrvalosti [16].

1.2 Hnojiva se zpomaleným uvolňováním

Hnojiva se zpomaleným uvolňováním (Slow Release Fertilizers – SRF's) se od těch klasických liší tím, že živiny uvolňují postupně, po menších dávkách. Přesná definice zní, že to jsou hnojiva, u nichž k přísunu živin rostlinám nedochází hned po aplikaci, případně že živiny jsou oproti běžně užívaným hnojivům (dusičnan amonný, močovina atd.) rostlinám přístupny o značně delší dobu [17]. Konkrétně by nemělo docházet k uvolnění více než 15 % hnojiva během 24 hod a více než 75 % během dvaceti osmi dní [18].

Na rozdíl od hnojiv s kontrolovaným uvolňováním u nich ale nelze kompletně ovlivnit míru dávky a schéma celkového průběhu uvolňování [19]. Nicméně velká část vědeckých prací slučuje hnojiva se zpomaleným a kontrolovaným uvolňováním do jedné skupiny.

Jejich používání má za cíl snížit ztráty živin a zefektivnit tak využití hnojiv, která by poté mohla být aplikována až o 20–30 % méně [19]. Nižší dávky pak zajistí nižší koncentraci živin v půdě, což zabrání jejich rychlému vyplavení. Minimalizují také rizika poškození rostlin a životního prostředí jako jsou popálení listů, znečištění a eutrofizace vody a zatížení půdy.

Nevýhodu představuje jejich vyšší výrobní cena, ale přihlédneme-li k tomu, že díky jejich vyšší účinnosti jich zemědělci oproti běžným hnojivům aplikují méně, cenový rozdíl pak není tak markantní. Velkým problémem ale může být jejich závislost na vnějších podmínkách, protože poté může být při teplotních či srážkových výkyvech poměr uvolněných látek odlišný [19].

Obecně se SRF's rozdělují na:

- Anorganické látky s nízkou rozpustností
- Organické dusíkaté látky s nízkou rozpustností
- Hnojiva s živinami začleněnými v matici
- Hnojiva na bázi hydrogelu
- Hnojiva chráněná mechanickou bariérou – povlakovaná hnojiva [18, 20]

1.2.1 Anorganické látky s nízkou rozpustností

Tato hnojiva většinou zastupují anorganické sloučeniny s obecným vzorcem $\text{MeNH}_4\text{PO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, kde Me zastupuje dvojmocný kation kovu: železo (Fe) / hořčík (Mg) / zinek (Zn) nebo mangan (Mn). Nejvýznamnější je $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ známý jako struvit amonný [21].

Často se také užívají draselné deriváty této soli. Jejich kombinací pak vzniká varianta N-P-K hnojiva se zpomaleným uvolňováním. Tato varianta však obsahuje nízké množství N (okolo 10 %) a také je velmi závislá na vnějších vlivech, kvůli čemuž je v praxi užívána omezeně [20].

1.2.2 Organické dusíkaté látky s nízkou rozpustností

Typickými zástupci této kategorie jsou sloučeniny vznikající kondenzací močoviny a různých aldehydů, přičemž nejvíce využívaný je močovinoformaldehyd (MF). Ten tvoří směs nezreagované močoviny, oligomerů a dimerů, jejíž vlastnosti jsou dány pH při kondenzační reakci. Pokud je bazicky katalyzovaná, vzniknou ve vodě více rozpustné produkty. V případě kyselých katalýz vznikají delší řetězce ve vodě méně rozpustných oligomerů, které uvolňují N pomaleji. Výsledný produkt MF většinou obsahuje 37–40 % N [20].

K rozkladu MF dochází zejména činností mikroorganismů. Jiné deriváty močoviny a aldehydů, jako např. izobutylyden dimočoviny, jsou rozkládány chemicky – hydrolýzou. Oba typy jsou však silně závislé na velikosti částic a vlhkosti a pH půdy. Komplikací je také syntéza požadovaných oligomerů, které ovlivňují uvolňování N. Z tohoto důvodu rozsah jejich použití stále klesá [18].

1.2.3 Hnojiva s živinami začleněnými v matrici

Tento typ hnojiv je tvořen anorganickými látkami (vybrané sloučeniny N a P) zabudovanými v organické matrici. Nejčastěji je matrice tvořena polysacharidy (škrobem, ligninem či chitosanem), u kterých dochází k degradaci v různých časových intervalech. Díky tomu je možné poměrně spolehlivě řídit časové schéma uvolňování živin [22]. Nejčastěji jsou však používána ještě v kombinaci s ochrannou vrstvou povlaku.

1.2.4 Hnojiva na bázi hydrogelu

Hnojiva se zpomaleným uvolňováním na bázi hydrogelu jsou tvořena kombinací super-absorbujících hydrogelů (SAH) a klasických hnojiv. Kromě pozvolného uvolňování umožňují i zlepšení zadržování vody v půdě. To je možné díky tomu, že SAH jsou tvořeny zesíťovanými hydrofilními polymerními materiály, které dokáží absorbovat velké množství vody, zadržet ho a následně pod osmotickým tlakem uvolnit. Tato hydrogelní hnojiva tedy fungují jako miniaturní nádrže, které rostlinám dodávají živiny a vodu v potřebný čas prostřednictvím vyrovnávání rozdílů osmotických tlaků [23].

Nejčastěji používanými polymery jsou polyakrylová kyselina a polyakrylamid, které ale nejsou biodegradabilní. Z toho důvodu jsou vyvíjena řešení obsahující biopolymery, nejčastěji škrob, celulózu či algin. Hydrogely mohou být používány buď jako matrice, ve kterých mohou být částice hnojiva dispergovány, anebo k povlakování hnojiv v podobě tablet [23].

1.2.5 Povlakovaná hnojiva

Povlakovaná hnojiva jsou tvořena klasickými anorganickými hnojivy v granulované či prilované formě, která jsou potažena ochranným, ve vodě nerozpustným povlakem. Ten ovlivňuje přístup vody ke hnojivu, a tím uvolňování živin a délku jejich přísunu [18]. Povlaky mohou být tvořeny buďto látkami anorganickými, polymerními nebo jejich směsí. Rychlost uvolňování je u těchto hnojiv řízena především tloušťkou povlakované vrstvy, velikostí granule hnojiva a jeho čistotou.

1.2.5.1 Anorganický povlak

Nejčastěji používaným anorganickým materiálem je síra. Ta tvoří nepropustný povlak, který se pomalu rozkládá prostřednictvím mikrobiálních, chemických a fyzikálních procesů. Ve spojení se sírou je jako hnojivo používána pouze močovina, jelikož u dusičnanových hnojiv by hrozilo riziko výbuchu [18].

Kromě N se do půdy uvolňuje i síra (S), již je v půdě obecně, vlivem používání zejména N-P-K hnojiv bez obsahu S, také nedostatek. Příprava těchto hnojiv spočívá ve sprejování přehřátých granulí močoviny roztavenou S v rotačním bubnu. K uzavření případných pórů či prasklin se granule ještě obalují voskem či parafinovým olejem. Navzdory tomu jich však stále je mnoho značně defektních, a k úniku N tak dochází příliš rychle [18, 24].

Dalšími anorganickými materiály, u kterých je také zkoumáno možné využití jsou např. Ca / Mg fosfát, struvit amonný / draselný či různé jíly [18].

1.2.5.2 Polymerní povlak

Polymerní povlaky jsou pevné, tenké a mají schopnost odolávat poškození. Mohou být buďto polopropustné nebo nepropustné, obsahující drobné póry. Oproti ostatním typům SRF's jsou méně ovlivňovány vlastnostmi půdy jako je pH, mikrobiální aktivita a struktura. Jejich vlastnosti tak závisí především na teplotě a schopnosti povlaku propouštět vlhkost. Díky tomu u nich lze předpokládat postup uvolňování hnojiva s vyšší spolehlivostí než např. u povlaku tvořeného sírou [25]. Ke zvýšení funkčnosti a soudržnosti povlakové vrstvy se polymer často přidává i jako matrice do granulátu.

Jedním ze způsobů mechanismu uvolňování živin je, že se z granulí uvolňují s vodou, která k nim projde přes mikroskopické póry v obalu, čímž zvýší osmotický tlak v póru, který se poté rozšíří a voda s živinami se jím tak může volně odplavit ven [18]. Nejčastěji ale dochází k difuzi, která poskytuje relativně stálé uvolňování, podléhající zejména změnám v propustnosti povlaku a teplotě. Osmotické čerpání a difuze jsou pravděpodobné u polopropustných povlaků, u nepropustných dochází k uvolňování až při vzniku trhlin v důsledku nárůstu hydrostatického tlaku [25].

Ze začátku byly jako povlaky využívány různé polymery vytvářející tenké vrstvy, např. polyvinylchlorid a polystyren. Jenže tyto materiály se po uvolnění hnojiva akumulovaly v půdě, čímž vytvořily další znečištění. Z tohoto důvodu bylo nutné najít biodegradabilní materiály vhodné k povlakování, které by pro životní prostředí byly přijatelnější [26]. Nicméně stále se využívají různé syntetické nedegradabilní i biodegradabilní polymery.

Syntetické nedegradabilní polymery

Hlavními používanými syntetickými polymery bez schopnosti biodegradace jsou polyethersulfony (PES), polyvinylchlorid (PVC), polyetylen (PE), polystyren (PS), polyakrylonitril (PAN) a polyuretan (PU). Každý z těchto polymerů má různé mechanické vlastnosti, takže jejich kombinací v různých vrstvách lze ovlivnit i mechanismus uvolňování živin. Například pomocí PU a PES povlaků lze velmi dobře ovlivnit rychlost a načasování uvolňování. Dále je zde také pro své absorpční schopnosti využívána polyakrylová kyselina [13].

Použité množství polymerního povlaku je dáno požadovanou délkou trvání uvolňování a také geometrickými parametry granule hnojiva, jako jsou povrch, zakulacení atd. Díky těmto povlakům však lze s vysokou spolehlivostí řídit postup uvolňování pouze pro čistě dusíkatá hnojiva jako je močovina, u víceprvkových hnojiv (N-P-K) a hnojiv s vedlejšími prvky, se prozatím přesné řízení mechanismu uvolňování nepodařilo uskutečnit [18].

Biodegradabilní polymery

Tyto materiály představují spojení možnosti řídit přísun živin rostlinám a řešení problému znečištění půdy zbytky obalů hnojiv tvořených klasickými syntetickými polymery. Bývají rozdělovány do dvou skupin, a to na modifikované hydrofilní polysacharidy vytvářející hydrogely (škrob, lignin, želatina atd.) a degradabilní syntetické hydrofobní polymery nevytvářející hydrogely (polymléčná kyselina, poly-3-hydroxybutyrát atd.). Na rozdíl od povlaků ze syntetických ne-degradabilních polymerů jsou

ovlivňovány především aktivitou mikroorganismů, které je rozkládají, a dále také pH, teplotou a typem půdy. Tyto faktory je tedy nutné zahrnout při sestavování předpokládaného schématu mechanismu uvolňování živin [13, 27].

Přírodní polymery v jejich přirozené formě nelze použít, jelikož mají nedostačující mechanické vlastnosti, které nejsou kompatibilní s požadovanými parametry. K jejich použití je tedy nutné, aby nejprve došlo k chemické či fyzikální modifikaci. Díky tomu lze například využít chitin, který je deacetylací za alkalických podmínek převeden na již zmiňovaný chitosan, vhodný i k povlakování. Dalšími modifikovanými polysacharidy jsou např. směs ligninu a etylcelulózy, ligninu a škrobu nebo kopolymer kaučuku a škrobu. Ačkoli mají tyto polymery výhodné vlastnosti jako schopnost zadržování vody a netoxičita, problémem je, že u nich k degradaci dochází až příliš rychle, čímž je zkrácena doba uchování a uvolňování živin. V ideálním případě by totiž měla být biodegradace obalu zahájena až po úplném spotřebování živin [27].

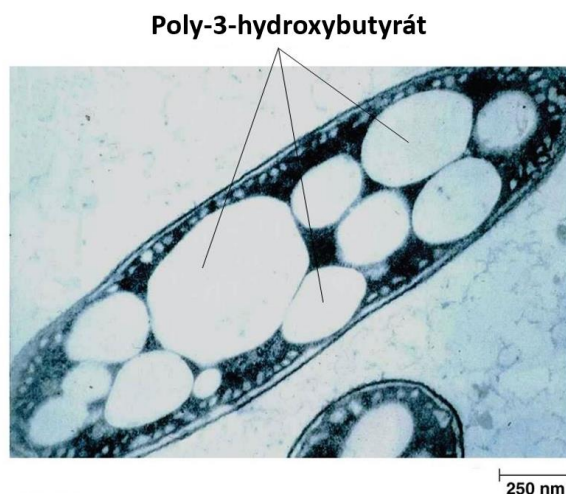
Jedním ze zástupců druhé skupiny biodegradabilních polymerů je polydopamin (PDA). Jedná se o biologicky odvozený syntetický polymer, který je využíván i pro biomedicínské aplikace. PDA vzniká polymerizací dopaminu za lehce bazických podmínek a má jedinečnou schopnost vytvářet tenké, k povrchu hnojiva dokonale přilnavé vrstvy. Ty jsou navíc odolné proti fotodegradaci a umí zachytávat reaktivní formy kyslíku [27, 28]. Nicméně ještě nejsou zcela prozkoumány všechny vlastnosti PDA, a tak je používáno spíše výjimečně.

Dalším zástupcem je polymléčná kyselina (PLA), hydrofobní, biodegradabilní a biokompatibilní polymer. Přípravuje se polykondenzací dvou mléčných kyselin, případně kyseliny mléčné a laktidu. PLA bývá používána i v kombinaci s polyvinylalkoholem (PVA), který je rozpustný ve vodě, a se škrobem, které napomáhají kompatibilitě povlaku a hnojiva [27, 29]. Proces biodegradace PLA je však stále diskutován, jelikož se zdá, že PLA není zcela biodegradabilní na jednotlivé konstituenty, tak jako PHB. Protože není výskyt PLA v přírodě přirozený, nevyskytují se zde ani jeho depolymerizační enzymy. V půdním prostředí tedy dochází k jeho abiotické degradaci. Struktura PLA je štěpena zejména prostřednictvím chemické hydrolýzy esterových vazeb, přičemž rychlost této reakce je ovlivněna pH a degradace probíhá pomaleji než u PHB [30].

V neposlední řadě je významným biodegradabilním polymerem PHB, jehož využitím se zabývá výzkumný tým prof. Tatiany G. Volové na univerzitě v Krasnojarsku, který byl inspirací i pro náš experiment. Ten zkoumal využití PHB ve formě fólií, pelet a potahovaných granulí, které zároveň i z důvodu lepší přilnavosti povlaku obsahovaly značné množství PHB. Roztok k povlakování byl připravován rozpuštěním PHB v dichlormetanu a chloroformu [31]. Syntéza a jednotlivé vlastnosti PHB jsou podrobně popsány v následující kapitole.

1.3 Poly-3-hydroxybutyrát

Poly-3-hydroxybutyrát (PHB) je polyester řadící se do skupiny biopolymerů nazývaných polyhydroxyalkanoáty (PHA). Vzniká v cytoplasmě bakterií jako produkt sekundárního metabolismu a představuje jejich zásobárnu energie a uhlíku. Vyskytuje se ve formě granulek (obr. 2), které mají obvykle rozměry 100–800 nm. Jejich počet, velikost a molekulová hmotnost závisí na typu bakterie, vnějších podmínkách a na typu jejich extrakce z bakteriální biomasy [32].



Obrázek 2: Bakterie *Azotobacter chroococcum* s granulkami PHB [33]

1.3.1 Syntéza poly-3-hydroxybutyrátu

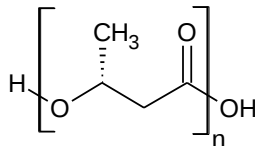
Existují tři základní způsoby syntézy PHB:

1. Ring-opening polymerace β -butyrolaktonu
 - Způsob syntetické přípravy PHB, kdy volbou podmínek reakčního prostředí a reakčních činidel lze syntetizovat jeho různé typy s odlišnými konfiguracemi a molekulovými hmotnostmi, od čehož se pak odvíjí jejich rozdílné vlastnosti.
2. Využití geneticky modifikovaných rostlin
 - Syntéza PHB je možná díky přítomnosti acetyl-CoA v rostlinách, který funguje jako základní substrát pro biosyntézu PHA. Příkladem takto využívané rostliny jen len setý, u kterého se pomocí transgenoze povedlo zvýšit výnos biomasy o zhruba 20 %.
3. Bakteriální fermentace
 - Nejčastěji využívaný způsob, který je aplikován i v průmyslovém měřítku.
 - Za ideálních kultivačních podmínek je možné docílit toho, aby buňky byly až z 90 % tvořeny zásobními PHA.
 - Syntéza PHB sestává ze tří enzymatických reakcí:
 - i. Kondenzace dvou acetylů-CoA za vzniku acetoacetyl-CoA katalyzovaná β -ketothiolázou
 - ii. Redukce acetoacetyl-CoA na (R)-3-hydroxy-butyryl-CoA acetoacetyl-CoA reduktázou
 - iii. Polymerace (R)-3-hydroxy-butyrylu-CoA na PHB pomocí PHB-polymerázy [34]

Existuje velké množství způsobů, jak prakticky provádět syntézu PHB, např. vsádková kultivace, přítoková vsádková a kontinuální kultivace či využití fermentorů a chemostatu. Nejvyužívanějším způsobem je proces kontinuální fermentace, který může být dvou nebo více fázový. V první fázi dochází k vyživování bakterií esenciálními živinami po úroveň potřebnou k tvorbě PHB. Poté je jejich přísun zastaven a bakterie jsou tak vystaveny stresové situaci, kdy jsou nuceny si vytvořit zásoby právě ve formě granulek PHB. Toto je momentálně velmi často užívaná metoda, která zároveň umožňuje spolehlivé udržování podmínek a zvýšení výnosů [35].

1.3.2 Vlastnosti poly-3-hydroxybutyrátu a jeho využití

Přírozně vznikající PHB je křehké a tuhé, má nízkou teplotní stabilitu ($T_i = 175\text{ °C}$) a kvůli své lineární řetězové struktuře (obr. 3) má vysoký podíl krystalické fáze, obvykle kolem 50–80 % [36]. Krystalinita je jedním z faktorů předurčujících mechanické vlastnosti polymeru. Obecně platí, že čím je vyšší, tím je vyšší tuhost i pevnost materiálu, ale zároveň i jeho křehkost.



Obrázek 3: Schéma struktury PHB

Má řadu významných vlastností, z nichž několik je srovnatelných s vlastnostmi polymerů připravených z ropy. Kupříkladu má podobné termoplastické chování jako polypropylen (PP). Průmyslovému využití PHB jako náhrady za syntetické polymery sice stále brání několik faktorů, např. vysoké výrobní náklady, nízké výnosy, složitá extrakce a v některých způsobech použití také nechtěná náchylnost k degradaci, nicméně jeho cena postupně klesá a zároveň je jeho zavedení legislativně podporováno, lze tedy předpokládat, že v budoucnu bude jeho využití rozšířené [35].

1.3.3 Biodegradace

Jednou z jeho nejvýznamnějších vlastností je již zmiňovaná biodegradabilita, která nastává při kontaktu PHB s mikroorganismy v biologicky aktivních prostředích, jako jsou půda, vodní zdroje a komposty. Prostřednictvím mikrobiálních enzymů – PHB-depolymeráz se PHB rozpouští a rozkládá na základní konstituenty [34].

Za aerobních podmínek vede degradace přes Krebsův cyklus k tvorbě CO₂, vody a mikrobiální biomasy. Při anaerobních podmínkách vznikají jako konečné produkty methan, voda a biomasa. Biodegradace PHB tedy probíhá enzymatickým mechanismem. Mikroorganismy nejprve produkují extracelulární depolymerázy, jež štěpí hydrofobní biopolymer na ve vodě rozpustné oligomery. Ty jsou poté absorbovány přes buněčné stěny a membrány do nitrobuněčného prostoru, kde se vyskytují intracelulární štěpící enzymy. Ty oligomery štěpí na monomery – hydroxykyseliny. Poté dochází k oxidaci hydroxykyselin a následnému štěpení na acetyl-CoA, který dále vstupuje do Krebsova cyklu [30].

Aby k biodegradaci nedocházelo i neplánovaně, jsou u některých aplikací k PHB často přidávány různé plastifikátory, stabilizátory, matrice a plniva, s kterými poté PHB vytváří stabilní biokompozity [34].

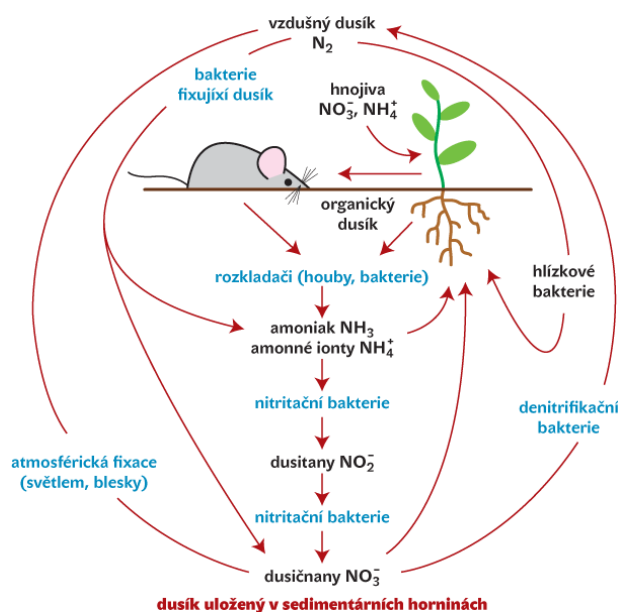
1.4 Význam dusíku pro rostliny

Abychom pochopili, proč jsou hnojiva pro rostliny tak důležitá a proč je vyvážený příjem, zejména N, zajišťující výnosnou sklizeň a zároveň nezatěžující životní prostředí cílem udržitelného zemědělství, je třeba si přiblížit význam N a také jeho koloběh v přírodě [37].

Rostliny jej využívají ve formě dusičnanu (NO₃⁻) či amonného iontu (NH₄⁺) a obecně potřebují zhruba 1000 µg N na kilo sušiny [38]. Zaujímá hlavní roli v jejich biochemických a fyziologických funkcích a podílí se nejenom na zvýšení výtěžků úrody, ale také i na její vyšší kvalitě. N je také jejich základním stavebním prvkem, jelikož je součástí bílkovin, enzymů, chlorofylu atd. Ovlivňuje růst kořenů a plodů a také příjem ostatních živin [10]. Jeho nedostatek se projevuje snížením růstu a výskytem chlorózy, projevující se změnou barvy nejstarších listů od bledě zelené po žlutou [39].

1.4.1 Cyklus dusíku

Pro komplexní uchopení problematiky distribuce N v půdě je důležité si představit jeho cyklus v přírodě, během něhož se vyskytuje v různých formách (obr. 4). Tento cyklus je řízen řadou biologických procesů, které jsou ovlivňovány klimatickými podmínkami a vlastnostmi půdy [37].

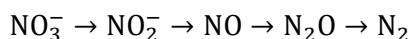


Obrázek 4: Zjednodušené schéma cyklu dusíku [40]

Kromě hnojiv se N dostává do půdy i přirozeně, a to z atmosféry a organických zbytků (zvířecí hnůj, zbytky úrody). Atmosférický N v podobě N_2 však rostliny nejsou schopny přijímat, proto je nutné, aby nejprve došlo k jeho přeměně v procesu zvaném fixace dusíku. Malé množství může být takto přeměněno fotokatalytickou oxidací a získané oxidy se následně ze vzduchu dostanou do půdy prostřednictvím deště či sněhu. Většina je však zpracována půdními bakteriemi, které mají jedinečnou schopnost redukovat molekulu vzdušného dusíku N_2 na amoniak (NH_3). Vzhledem k tomu, že je nutné, aby došlo k redukci velmi silné trojné vazby v molekule N_2 , je tento vysoce energeticky náročný proces schopno uskutečnit pouze omezené množství prokaryot, z nich nejznámější je hlízková bakterie *Rhizobium* žijící v symbióze s vyššími rostlinami. Z organické hmoty je pak N přeměněn na NH_3 mikroorganismy v procesu zvaném amonifikace [41, 42].

Dále je N nacházející se ve formě NH_3 , případně NH_4^+ , přeměněn v procesu nitrifikace nejprve na dusitany (NO_2^-), a poté na dusičnany (NO_3^-). Každý z těchto procesů probíhá odděleně, prostřednictvím různých mikroorganismů [41].

Závěrečnými kroky cyklu jsou denitrifikace a imobilizace N. Během denitrifikace dochází k přeměně dusičnanů zpět na plynný dusík, který se uvolňuje do atmosféry v biologicky inertní formě. Vznikají během ní ale i oxidy dusíku, které se řadí mezi skleníkové plyny (obr. 5). Imobilizace spočívá ve snížení obsahu NO_3^- a NH_4^+ v půdě v důsledku jejich konzumace rostoucími bakteriemi, využívajícími je k tvorbě bílkovin [37, 41].



Obrázek 5: Schéma denitrifikace dusičnanu

Dalšími způsoby, kterými dochází k úniku dusíku v různých podobách z půdy, jsou již zmiňované vyplavení, tékání, odstraňování posklizňových zbytků a eroze půdy [37]. K většině z nich dochází v důsledku intenzivního zemědělství a nepřiměřeného užívání dusíkatých hnojiv, kdy je narušena přirozená rovnováha cyklu.

K narušení přirozeného cyklu dusíku tak dochází dvojnásobně. Nejprve sklízením průmyslových plodin dochází k odebrání organické hmoty z půdy, a tedy i přírodního zdroje dusíku, který je pak nahrazován hnojivy. Ta jsou většinou ale používána v příliš velké míře, takže se v půdě nachází nadbytečné množství dusičnanů [10].

1.5 Negativní vliv hnojiv

Jak již bylo několikrát zmiňováno, při nesprávném používání hnojiv je jejich vliv na úrodnost půdy spíše kontraproduktivní. Vlivem uvolnění velkého množství dusičnanů, jež už se nedokáže spotřebovat v přirozeném cyklu dusíku, dochází k poškození životního prostředí, a to buď znečištěním půdy, vody anebo ovzduší.

1.5.1 Znečištění povrchové a podzemní vody

Často dochází k tomu, že živiny z hnojiv jsou z polí vyplaveny do povrchových vod. Zde podporují růst a reprodukci mikroorganismů, které z vody odebírají kyslík. Bez dostatku kyslíku pak hrozí rybám a dalším vodním živočichům udušení, následkem čehož se poté ve vodě nachází jejich mrtvá těla, která dále degradují její kvalitu. Navíc se na vzniklé organické hmotě mikroorganismy opět přizívají, čímž ještě navýší svůj růst [43].

Tento proces, při kterém vlivem lidské činnosti dochází k rapidnímu růstu sinic a řas, se nazývá eutrofizace a znamená v podstatě „zamoření živinami“. Eutrofizace je přírodní jev, ke kterému dochází vlivem uvolňování zejména dusíku a fosforu z půdy a sedimentů. Kvůli intenzivní zemědělské činnosti a znečištění odpadních vod však přesahuje své přirozené meze [44].

Narůstající řasy a sinice se shromažďují na hladině, čímž brání přístupu slunečních paprsků k rostlinám ve větší hloubce, které poté hynou. Obecně lze říci, že eutrofní vody jsou sice vysoce produktivní, ale pouze pro odolnější organismy jako jsou řasy a sinice, ty slabší tedy vymírají a klesá tak biodiverzita vodního ekosystému. Dalším negativním dopadem kromě ztráty biodiverzity a již zmíněného deficitu kyslíku je horší zpracovatelnost napadené vody ve vodárnách [44].

Kromě povrchových vod se může dusík vyplavit i do podzemních, kde se nejčastěji vyskytuje ve formě NO_3^- . Jejich vyšší koncentrace v pitné vodě pak může vést ke vzniku řady nemocí, jako jsou rakovina žaludku, nemoci štítné žlázy a poruchy plodnosti [7].

1.5.2 Znečištění vzduchu

Častým užíváním syntetických hnojiv také dochází k znečištění atmosféry a uvolňování skleníkových plynů, zejména oxidů dusíku. U vápenatých a zásaditých půd také dochází k uvolňování amoniaku. Ten poté může být zoxidován na kyselinu dusičnou a společně s kyselinou sírovou, z průmyslových zplodin, vytvářet kyselé deště [45].

1.5.3 Znečištění půdy

Přísun velkého množství N způsobuje v půdě dysbalanci mezi obsahem makro a mikro prvků, což vede ke snížení kvality půdy a následně tedy i výnosu úrody a její kvality. Nadměrné množství N je také jednou z hlavních příčin překyselení půdy, jelikož je některými mikroorganismy oxidován na kyselinu

dusičnou [46]. Překyselení, kromě jiného, způsobuje omezení přístupu rostlin k fosfátům, které jsou stěžejní pro jejich správný růst a bez nich dochází k redukci úrody [7].

Dalším z důsledků intenzivního zemědělství a nadměrného užívání hnojiv je ochuzení půdy o uhlík a tzv. dehumifikace půdy, tedy ztráta organické hmoty. Při nedostatku uhlíku půda ztrácí svou konzistenci a soudržnost, a tak i schopnost zadržovat živiny a vodu [47]. Jednou z možností zmírnění tohoto problému je přidávání uhlíku získaného pyrolýzou kávové sedliny. K obohacení půdy uhlíkem však pomůže i samotné použití povlakovaných hnojiv, u nichž se rozkladem obalů z biopolymerů také do půdy uvolní potřebný uhlík.

V poslední řadě se do půdy zároveň s anorganickými hnojivy dostávají také těžké kovy jako arsen, kadmium, olovo a rtuť, které se zde akumulují a ukládají se do rostlin následně konzumovaných lidmi. Na rozdíl od organického znečištění je znečištění těžkými kovy hůře detekovatelné, persistentní a nevratné. Představuje tak celosvětový problém, jelikož jejich výskyt v potravním řetězci způsobuje u živočichů, a tedy i u lidí, řady závažných chorob [48].

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Výroba hnojivových formulací

Hnojiva pro tuto bakalářskou práci byla připravována dvěma způsoby, a to buďto ručním lisováním nebo prostřednictvím peletizéru. V obou případech byly použity stejné výchozí materiály, z kterých bylo vytvořeno několik sérií s různým poměrem hnojiva – močoviny a výplňového materiálu – PHB. Následně byly pelety povlakovány roztokem PHB v dioxolanu.

2.1.1 Materiály pro přípravu hnojiv

2.1.1.1 Močovina

Jako hnojivo byla pro ruční i čtvrtprovozní výrobu vybrána močovina. Byla použita močovina od firmy Duslo a.s. (Šaľa, Slovensko), která byla dodána ve formě bílých, prilovaných granulí bez obsahu stabilizátorů a povrchových úprav s obsahem močovinného dusíku 46 % (tab. 2).

Před použitím byly granule močoviny s původní velikostí částic 0,5–3,5 mm vždy pomlety na žernovém mlýnu na jemný prášek a prosety sítím. Konečná velikost částic močoviny se tedy pohybovala pod 0,6 mm.

Tabulka 2: Chemické a granulometrické složení močoviny [7]

	Obsah (% hm.)
Celkový N (močovinnový)	46,0
Biuret	max. 1,0
Částice (0,5–3,5 mm)	min. 90,0

2.1.1.2 Poly-3-hydroxybutyrát

K výrobě bylo použito PHB ve formě bílého prášku (TianAn, Čína, $\rho = 1,23 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$; $M_w = 450\,000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) dodané firmou Nafigate (Praha, Česká republika, šarže 2252). Z důvodu snížení výrobních nákladů bylo použito PHB bez přečištění v acetonu. PHB bylo použito k vytvoření povlakové vrstvy a zároveň, aby byla zajištěna kvalitní adheze biopolymerního povlaku k peletám, tvořilo jako výplňový materiál část matrice.

2.1.1.3 Dioxolan

Pro přípravu roztoku k povlakování pelet vrstvou PHB byl jako rozpouštědlo použit GPR Rectapur 1,3-dioxolan ($\rho = 1,23 \text{ kg}\cdot\text{dm}^{-3}$; $M_w = 74,08 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) stabilizovaný 0,03 % BHT (2,6-bis(1,1-dimetyletyl)-4-metylfenol) od firmy VWR Chemicals (Viedeň, Rakousko) o obsahu 99,9 % dioxolanu. Dioxolan byl pro experiment vybrán, jelikož jeho roztok s PHB poskytuje slibné vlastnosti pro povlakování pelet hnojiva a není na rozdíl od chloroformu řazen do skupiny toxických látek.

Bylo pracováno také se syntézním SOLVAGREEN 1,3-dioxolanem ($\rho = 1,06 \text{ kg}\cdot\text{dm}^{-3}$; $M_w = 74,08 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) s pouze 90% čistotou od firmy Carl Roth (Karlsruhe, Německo).

2.1.2 Ruční výroba

2.1.2.1 Lisování pelet

Bylo vytvořeno několik sérií pelet s různým poměrem obsahu PHB a močoviny (tab. 3). Pomletá močovina a práškové PHB byly pomocí síta zbaveny hrudek a naváženy v daném poměru dle potřebného množství. Po homogenizaci bylo naváženo vždy 0,5 g směsi, které byly následně pomocí

formy ručně lisovány za studena na hydraulickém lisu společnosti SPECAC (Orpington, Anglie) o tlačné síle ekvivalentu 2 tun. Vylisované pelety měly průměr 10 mm, výšku 4 mm a hmotnost se pohybovala okolo 0,5 g.

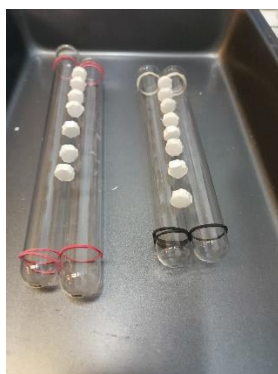
Tabulka 3: Přehled obsahu močoviny a PHB v ručních peletách pro jednotlivé série

Název série	Hmotnost močoviny (g)	Hmotnost PHB (g)
1. série 50 : 50 (Močovina : PHB)	0,25	0,25
2. série 60 : 40 (Močovina : PHB)	0,30	0,20
3. série 70 : 30 (Močovina : PHB)	0,35	0,15
4. série 80 : 20 (Močovina : PHB)	0,40	0,10
5. série 90 : 10 (Močovina : PHB)	0,45	0,05
6. série 100 % Močovina	0,50	0,00

2.1.2.2 *Ruční povlakování*

K ručnímu povlakování byl použit 6% roztok PHB v dioxolanu. Ten byl připraven rozpuštěním 12,77 g PHB v 200 g dioxolanu při zahřívání roztoku v reagenční lahvi nejprve 30 minut na 90 °C, a poté 1,5 hodiny na 95 °C, přičemž zahřívání probíhalo v komorové sušárně.

Připravený roztok byl nalit do kádinky, pelety do něj byly jednotlivě ponořovány a vyjímány pinzetou, a poté ponechány k vysušení a odpaření rozpouštědla na skleněných zkumavkách (obr. 6). Po vysušení, přibližně po 30–40 minutách, byly pelety opět ponořeny do roztoku. Tento postup byl opakován celkem 6krát, pelety tedy byly nakonec obaleny šesti vrstvami povlaku (obr. 7). Pro zjištění průměrného procentuálního zastoupení povlaku na peletě bylo pro každou sérii vždy před a po povlakování zváženo deset pelet.



Obrázek 6: Ilustrace sušení pelet na zkumavkách při ručním povlakování



Obrázek 7: Ručně připravované pelety před (vlevo) a po povlakování roztokem PHB (vpravo)

2.1.3 Výroba na čtvrtprovozním peletizačním zařízení

2.1.3.1 Peletizace

Pro možnost studia funkce povlakovaných hnojiv i ve větším než laboratorním měřítku byl pro náš experiment zajištěn peletizační stroj typu PL120 (Brno, Česká republika) o výkonu 3 kW. Stroj se skládá z peletizační matrice s průměrem děr 2,5 mm a dvou otáčejících se válců (obr. 8). Samotný proces spočíval v nasypání materiálu násypkou na válce, které jej zatlačily do děr peletizační matrice. Zpod matrice vystupovaly úzké válečky vznikajícího materiálu, které byly krájeny nožem rotujícím pod matricí.



Obrázek 8: Peletizační matrice a válce [49]

Během výroby pelet bylo vždy nutné peletizér nejprve rozehrát peletizací vhodného materiálu (my jsme zvolili ovesné vločky), než jsme mohli přejít k peletizaci močoviny a PHB. Dostatečné rozehrání bylo indikováno výrobou ovesných pelet, které se nedrolily a držely pevný tvar. Peletizace směsi močoviny a PHB byla provedena v šesti sériích o stejných poměrech močoviny : PHB jako u ručních pelet.

K peletizaci bylo vždy naváženo potřebné množství směsi močoviny a PHB, která byla následně promícháním zhomogenizována a zbavena hrudek. Při navažování bylo nutné započíst i částečné ztráty vznikající během pročištění peletizéru od ovsu. Peletizace probíhala znatelně tím hůře, čím více PHB směs obsahovala. Z toho důvodu bylo u všech směsí nutné peletizaci provést 2–3krát, ihned po sobě (až na sérii se 100% močovinou). Zároveň před poslední peletizací byly pelety pokropeny cca 50 ml destilované vody, abychom docílili jejich konečné pevnosti a eliminovali výskyt prasklin a obsah prašného podílu.

2.1.3.2 Povlakování v bubnu

Kromě výroby samotných pelet se čtvrtprovozní příprava lišila také způsobem jejich povlakování. K tomu byl využit rotační dražovací buben (obr. 9). Frekvence napájení motoru byla nastavena na 30–35 Hz, což odpovídalo cca 30 ot./min. V bubnu bylo vždy povlakováno 900 g pelet.



Obrázek 9: Dražovací buben použitý k povlakování pelet vytvořených pomocí peletizačního stroje

Z důvodu většího množství pelet byla třeba i praktičtější příprava roztoku. Nejprve byl zkoušen způsob přípravy roztoku pod zpětným chladičem při teplotě 78 °C po dobu více jak 1 hodiny. Ještě efektivnější se však ukázala příprava v míchaném autoklávu s topným pláštěm o objemu 2 dm³. Při té bylo nejprve topné médium (glycerol) vytemperováno v termostatu během 40–50 min na 95 °C. Následně byl po vpravení suspenze PHB v dioxolanu autokláv uzavřen a vytemperován prostřednictvím topného pláště na 95 °C (tlak par 1,25 bar). Tímto způsobem byl, za stálého míchání 600 ot./min, roztok PHB připraven již za 20–25 minut. Celkově bylo na 900 g pelet vždy připraveno cca 2000 ml 7,4% roztoku (174,27 g PHB + 2014 g dioxolanu).

Povlakování probíhalo tak, že na pelety promíchávající se v bubnu byl roztok pomalu naléván po menších dávkách (cca 20 ml) tak, aby nedocházelo k jejich shlukování.

2.2 Testy ve vodním prostředí

Dynamika uvolňování hnojiva z povlakovaných pelet byla studována vodními testy. Ty spočívaly v navážení cca 5 g pelet (u ručních pelet bylo použito pět pelet, které byly předem vždy dohromady zváženy) a jejich zalití 50 ml destilované vody v kádince, v které byly následně navážené pelety za laboratorní teploty ponechány bez míchání určitý počet dní, dle potřeb testování. Každá série byla založena v počtu tří opakování (kádinek). Byla také založena série pelet 100% močoviny bez povlaku jako pozitivní reference. Množství uvolněné močoviny bylo měřeno vázkovou metodou (tab. 4), která spočívala ve vysušení vody slité přes čajové sítko do předvážených petriho misek (PM) v sušárně po dobu 24 hod na 60 °C a jejich následném zvážení na analytických vahách. Podíl močoviny uvolněné z celkové navážky byl poté vypočítán jako podíl hmotnosti vyluhované močoviny (hmotnost petriho misky s vysušenou močovinou mínus hmotnost čisté petriho misky) a předpokládaného obsahu močoviny v gramech v navážce.

Tabulka 4: Příklad výpočtu procent uvolněné močoviny z povlakovaných pelet pro odběr po 1 dni ve vodě

	100% močovina bez povlaku	50 : 50 (močovina : PHB)	80 : 20 (močovina : PHB)
Navážka pelet (g)	4,9975	5,0001	5,0171
Obsah povlaku (%)	0,00	26,12	39,81
Obsah močoviny (%)	100,00	39,64	57,22
Obsah močoviny (g)	4,9975	1,9823	2,8708
Hmotnost PM (g)	53,8829	53,4093	53,3982
Hmotnost PM s močovinou (g)	58,8565	53,5397	53,4088
Hmotnost močoviny (g)	4,9736	0,1304	0,0106
Uvolněný podíl z celkové močoviny (%)	99,52	6,58	0,37

U ručně povlakovaných pelet byly vodní testy provedeny pro všech šest sérií (tab. 3). U pelet připravených pomocí čtvrtprovozního peletizéru a povlakovaných v roztoku s 90% dioxolanem byly testy provedeny pro prvních pět sérií, a dále místo povlakované 100% močoviny byla jako reference zkoumána nepovlakovaná čistá močovina. U čtvrtprovozních pelet povlakovaných roztokem s 99% dioxolanem byly zkoumány povlakované série s 50, 80, 90 a 100% obsahem močoviny v matrici.

2.3 Testy v půdním prostředí

Ve spolupráci s Mendelovou univerzitou Brno (Agronomická fakulta, Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin) byly provedeny testy vlivu našich povlakovaných hnojivových formulací na růst kukuřice a na průběh uvolňování N v půdě. Ty spočívaly v aplikaci daného množství semen kukuřice a pelet hnojiva do půdy uložené v Mitscherlichových vegetačních nádobách. Tyto testy zároveň blíže charakterizovaly průběh rozkladu biopolymerního povlaku našich pelet, jelikož v půdě se na rozdíl od destilované vody (využívané ve vodních testech) vyskytuje řada mikroorganismů rozkládajících PHB, a uvolňování močoviny tak probíhá jiným mechanismem než při pouhém louhování v destilované vodě.

2.3.1 Založení testů

Pokus byl založen ve skleníku se stálou teplotou 25 °C během dne a 18 °C v noci a vlhkostí 25 % přes den a 50 % v noci, který se nacházel v areálu Mendelovy univerzity. Hnojivo bylo aplikováno během setí kukuřice. Testy byly založeny pro pět variant hnojení povlakovanými peletami a dále byla založena varianta pozitivní reference – 100% nepovlakovaná močovina a negativní reference – bez hnojiva (tab. 5). Každá varianta byla založena s třemi odběry v čase (tedy 14, 28 a 42 dní po založení) a na každý odběr připadaly tři nádoby, tedy devět nádob na sérii a celkem šedesát tři nádob. Pro hnojení byly využity pouze čtvrtprovozní pelety, jelikož díky své praktičtější a rychlejší přípravě mají větší potenciál pro komerční použití.

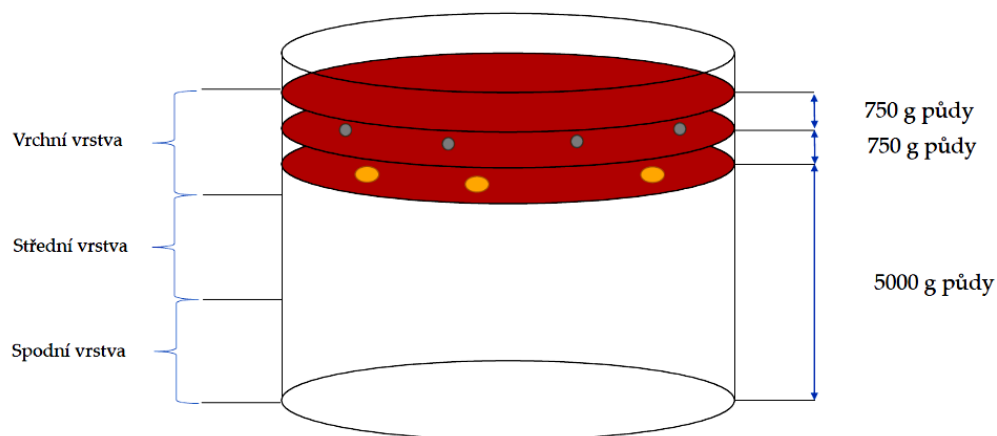
Tabulka 5: Varianty hnojivových formulací použité pro půdní testy

Číslo var.	Produkt	Množství pelet (g/nádoba)	Množství N (g/nádoba)
1	Čtvrtprovozní pelety 50 : 50 (močovina : PHB) – povlakované	2,73	0,5
2	Čtvrtprovozní pelety 80 : 20 (močovina : PHB) – povlakované	1,89	0,5
3	Čtvrtprovozní pelety 90 : 10 (močovina : PHB) – povlakované	1,63	0,5
4	Čtvrtprovozní pelety 100% močovina – povlakované	1,28	0,5
5	Čtvrtprovozní pelety směs (1/3 – 100% močovina nepovlakovaná, 2/3 – 80 : 20 povlakované)	0,36 + 1,25	0,5
6	Pozitivní reference – 100% močovina nepovlakovaná	1,08	0,5
7	Negativní reference – bez hnojiva	0,00	0,0

Do každé nádoby bylo naváženo 5 kg předem charakterizované půdy (tab. 6), na niž bylo rovnoměrně rozprostřeno hnojivo, které bylo překryto dalšími 750 g půdy. Na tuto vrstvu byla rozložena semena kukuřice (šest rostlin na nádobu), která byla opět pokryta 750 g půdy (obr. 10). Nakonec byla každá z nádob zalita 500 ml kohoutkové vody a překryta textilií pro udržení vlhkosti, než dojde ke vzejití klíčků. Použitá kukuřice byla odrůdy SY Orpheus od firmy Syngenta (Praha, Česká republika).

Tabulka 6: Charakteristika půdy použité v půdních testech

Půdní parametr	Hodnota
pH (CaCl ₂)	5,62
N _{min.}	10,55 mg/kg
N – NH ₄ ⁺	2,38 mg/kg
N – NO ₃ ⁻	8,17 mg/kg
Obsah P	216,8 mg/kg
Obsah K	172,6 mg/kg
Obsah Ca	1006,0 mg/kg
Obsah Mg	69,5 mg/kg
Jíl	20 %
Prach	27 %
Písek	53 %



Obrázek 10: Schéma Mitscherlichovy nádoby

2.3.2 Metody vyhodnocení testů

Během růstu kukuřice byly provedeny ve třech odběrech (co dva týdny) analýzy půdy a rostlin.

Analýzy půdy:

- Odběr půdy ze tří hloubek půdního profilu (vždy ze tří nádob). Stanovení obsahu $N_{\min}$ (minerálního N) = amonného N (NH_4^+) a nitrátového N (NO_3^-) v půdě.

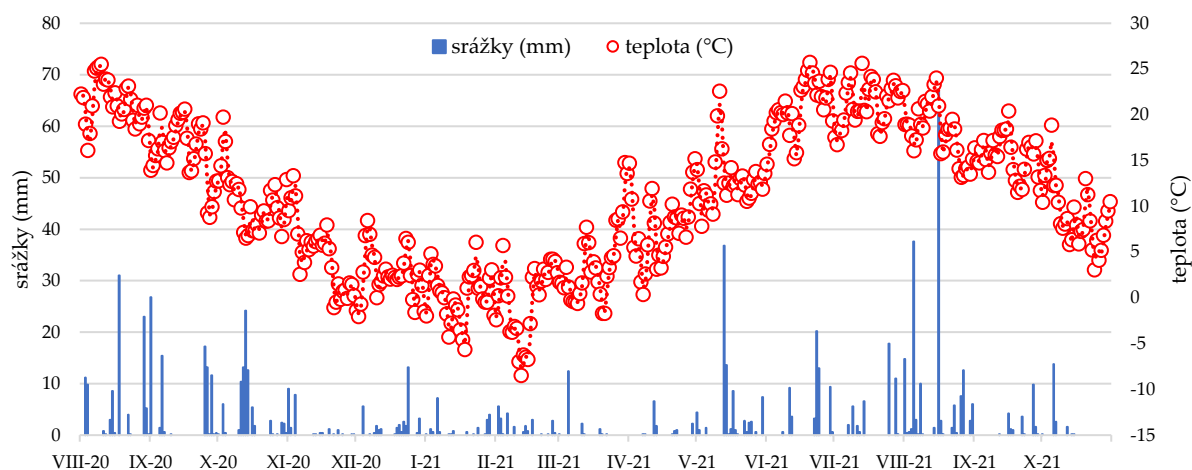
Analýzy rostlin:

- Stanovení obsahu chlorofylu v listu pomocí Yara N-Tester chlorofyl metru (Grimsby, Anglie).
- Stanovení hmotnosti sušiny nadzemní části rostlin. Po odběru byly nadzemní části rostlin vždy vysušeny při 50 °C a následně zváženy.
- Při posledním odběru bylo provedeno stanovení kořenové kapacity rostlin hodnocené dle elektrické kapacity kořenového systému (EKK). Ta byla měřena přístrojem LCR multimetr ESCORT ELC131D (Aesch, Švýcarsko). Měřicí frekvence byla nastavena na 1 kHz. Během měření byla katoda (kleště) uchycena na stonku rostliny ve výšce 2 cm nad půdou a anoda (jehla) byla zasunuta do půdy v blízkosti rostliny do hloubky 5 cm. Nádoby byly před měřením zavlaženy na hodnotu maximální kapilární vodní kapacity, aby byl vyloučen vliv vlhkosti půdy na stanovovanou kapacitu kořenů.

2.4 Polní testy

Abychom ještě lépe vyzkoušeli naše experimentální hnojivové formulace v reálnějších podmínkách byly do experimentu zařazeny také polní testy. Ty byly provedeny s peletami 50 : 50 (močovina : PHB) dodanými společností Duslo Šaľa. Testy probíhaly na Školním zemědělském pozemku Mendelovy univerzity u obce Žabčice, 25 km jižně od Brna. Tato oblast se nachází v nadmořské výšce 179 m, v jihomoravské suché oblasti s typickým vnitrozemským klimatem a jedná se o jednu z nejteplejších oblastí v České republice.

Před aplikací hnojiv a zasetím kukuřice byla provedena klimatická (obr. 11) a půdní charakteristika, z které se vycházelo při vyhodnocování experimentu. Půdní analýza je shodná jako u půdních testů (tab. 6), jelikož do nádob byla použita půda právě ze Žabčic.



Obrázek 11: Klimadiagram pro oblast Žabčice za období 2020/2021

Pokus byl založen pro čtyři varianty: kontrola – negativní reference (bez hnojiva), pozitivní reference (močovina bez povlaku) a pelety připravené na peletizéru 50 : 50 (močovina : PHB) povlakované roztokem připravovaným pod zpětným chladičem a v tlakovém kotli (T.K.) (tab. 7). Každá varianta byla založena ve čtyřech opakováních/parcelách (obr. 12). Plocha jedné parcely byla 15 m².



Obrázek 12: Pozemek Mendelovy univerzity při zakládání experimentu (vlevo) a po vyklíčení kukuřice (vpravo)

Tabulka 7: Varianty hnojivových formulací použité v polních testech

Varianta	Množství pelet (kg/ha)	Množství N (kg/ha)
1. Negativní reference	0	0
2. Pozitivní reference (100 % močovina)	325	150
3. Čtvrťprovozní pelety - močovina : PHB (50 : 50) – povlakovací roztok připraven pod zpětným chladičem	793	150
4. Čtvrťprovozní pelety - močovina : PHB (50 : 50) – povlakovací roztok připraven v tlakovém kotli	778	150

K experimentu byla opět použita zrna kukuřice odrůdy SY Orpheus. Setba kukuřice a aplikace hnojiv byly provedeny 16. 4. 2021 a 27. 5. 2021 byl aplikován herbicid MAISTER POWER od společnosti Bayer S.A.S. (Lyon, Francie) v množství 1,5 l/ha. Dne 21. 10. 2021 proběhla sklizeň. Poté byl zjištěn výnos zrna kukuřice a hmotnost tisíce semen (HTS). Tato data byla vyhodnocena metodou

jednofaktorové analýzy variance v programu STATISTICA 12 (s následným testováním dle Fischera, při 95% hladině významnosti).

2.5 Metody pro studium vlastností polymerního povlaku

Kromě testování ve vodním a půdním prostředí bylo zkoumáno také složení povlakové vrstvy, konkrétně množství zbylého dioxolanu pomocí termogravimetrické analýzy (TGA) a degradace PHB v důsledku zahřívání v roztoku pomocí gelové permeační chromatografie (GPC).

2.5.1 Termogravimetrická analýza

K měření TGA byl využit přístroj TGA Q500, TA Instruments (New Castle, Delaware, USA). Měření vzorků o hmotnosti cca 15 mg probíhalo na platinových pánvičkách. Vzorky byly nejprve v dusíkové atmosféře zahřáty na 600 °C, a poté za přítomnosti vzduchu na 650 °C. Ohřev probíhal s krokem 10 °C/min. Průtok plynu byl nastaven při analýze vzorku na 60 ml/min a rovnovážný průtok na 40 ml/min.

2.5.2 Gelová permeační chromatografie

Metoda GPC byla měřena pomocí přístroje Agilent Technologies 1100 Series (Santa Clara, Kalifornie, USA). Kolona GPC byla nejprve kalibrována standartním roztokem lineárního polystyrenu o koncentraci 1 ml/g. Jako mobilní fáze byl použit chloroform, průtoková rychlost byla nastavena na 1 ml/min.

Byl zkoumán čistý prášek PHB, povlaková vrstva ze série 80 : 20 (močovina : PHB) povlakované roztokem PHB v 90% dioxolanu a povlaková vrstva série 80 : 20 (močovina : PHB) s 99% dioxolanem. K měření byly použity vzorky vrstvy PHB ulpělé během povlakování na stěnách dražovacího bubnu. Každý vzorek o hmotnosti 5 mg byl nejprve rozpuštěn v chloroformu stabilizovaném etanolem a zředěn na koncentraci 3–6 mg/ml. Všechny vzorky byly založeny v pěti opakováních, které byly zrandomizovány. Měření bylo využito pro stanovení hmotnostního a číselného středu molekulových hmotností a indexu polydisperzity.

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Testy ve vodním prostředí

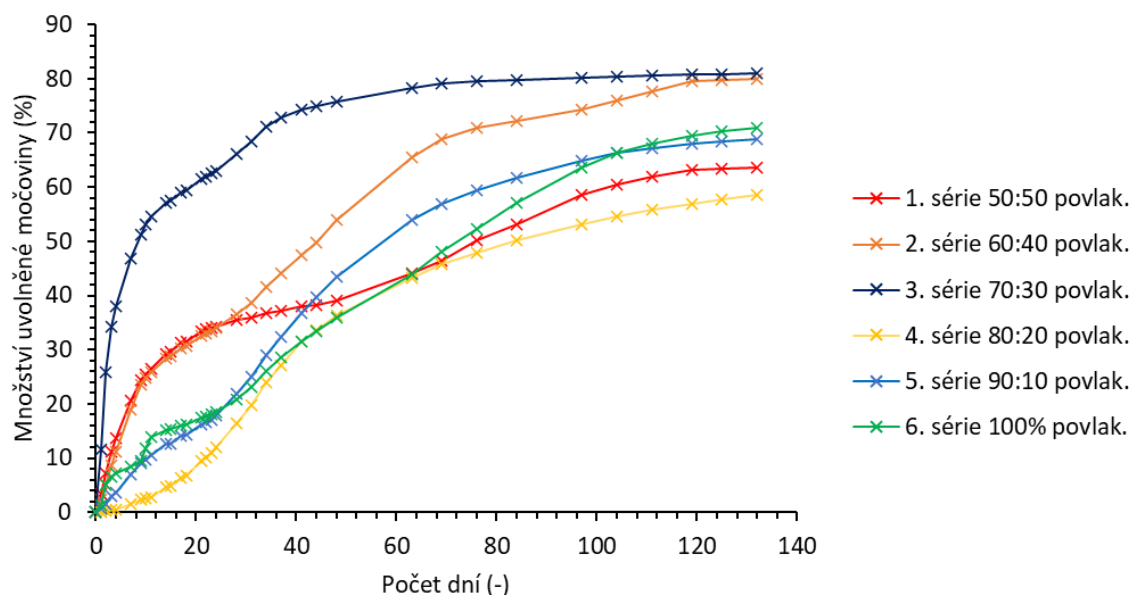
3.1.1 Pelety připravené ručně

U všech šesti ručně připravovaných sérií s různým obsahem močoviny : PHB bylo před založením testů ve vodním prostředí zjištěno hmotnostní zastoupení povlaku na peletách (tab. 8), a to u každé série zvážení deseti pelet před a po povlakování a následným zprůměrováním jednotlivých hodnot. Nejvyšší obsah povlaku byl u 1. série – 50 : 50 (močovina : PHB) a nejnižší u 6. série – 100% močovina. Tento jev však nebyl způsoben klesajícím obsahem PHB v matrici, ale vzrůstající zručností při ručním povlakování, jelikož série byly připravovány vzestupně. Je tedy jasné vidět, že ruční příprava je značně ovlivněna lidským faktorem a má nízkou reprodukovatelnost.

Tabulka 8: Procentuální zastoupení povlaku pro jednotlivé série (močovina : PHB)

Série	Obsah povlaku (% hm.)
1. 50 : 50	30,5 ± 1,8
2. 60 : 40	27,8 ± 2,0
3. 70 : 30	21,8 ± 1,7
4. 80 : 20	23,4 ± 1,8
5. 90 : 10	18,5 ± 1,2
6. 100 %	18,0 ± 1,7

Také z výsledků testů uvolňování močoviny z ručně lisovaných a povlakovaných pelet ve vodě (obr. 13) lze vyčíst, že u těchto ručně zpracovaných pelet nezáleží na složení matrice, ale na kvalitě provedení povlaku. Nejrychleji se močovina uvolnila z povlakovaných pelet 3. série, následovala 2., 6., 5., 1. a nejpomaleji probíhalo uvolňování u 4. série, v tomto případě tedy nelze odvodit závislost rychlosti uvolnění močoviny na jejím obsahu. Testování bylo ukončeno po sto třiceti dnech, protože ačkoli většina sérií ještě neměla uvolněných ani 80 % hnojiva, nedocházelo již k výraznému posunu. Pouze u série 70 : 30 (močovina : PHB) bylo uvolněno více než 80 % močoviny, tato série se ale vymykala již od začátku testování, je tedy pravděpodobné, že při její přípravě došlo ke vzniku velkého množství defektů. Dále téměř 80 % dosáhla série 60 : 40. U 6. série – 100% močoviny, kde byl předpoklad nejrychlejšího uvolnění hnojiva v důsledku horší adheze povlaku při nepřítomnosti PHB v matrici, se po více než 4 měsících uvolnilo průměrně pouze 70 % hnojiva. Na podobné úrovni byla i série 90 : 10. U série 50 : 50 bylo uvolněno pouze 64 % a u série 80 : 20 dokonce pouze 58 %. K uvolnění 50 % hnojiva došlo u série 50 : 50 po 76 dnech, u 60 : 40 po 45 dnech, 70 : 30 po 8 dnech, 80 : 20 po 84 dnech, 90 : 10 po 57 dnech a u 100% močoviny po 72 dnech.



Obrázek 13: Grafické znázornění průběhu uvolňování močoviny ve vodě pro pelety připravené ručně

Lze ale pozorovat, že průběh křivek není lineární. To bylo způsobeno tím, že u každé série byly nejen zprůměrovány hodnoty pro tři opakování (kádinky), ale zároveň v každé kádince bylo pět pelet, u kterých docházelo k proniknutí vody v různých časových intervalech. Z toho lze také usuzovat, že po určité době by pravděpodobně došlo k dalšímu nárůstu množství uvolněné močoviny, kdy by se hnojivo uvolnilo ze zbývajících nejodolnějších pelet. Zároveň ale také během odlévání destilované vody s vyluhovanou močovinou docházelo ke ztrátám. Lze tedy předpokládat, že množství již uvolněné močoviny bylo reálně vyšší.

Tím, že byly hodnoty pro jednotlivé série zprůměrovány však také došlo ke vzniku značných odchylek mezi průběhem uvolňování v jednotlivých kádinkách. Pro lepší přehled jsou tedy v příloze uvedeny grafy s průběhem vodních testů i pro jednotlivé série.

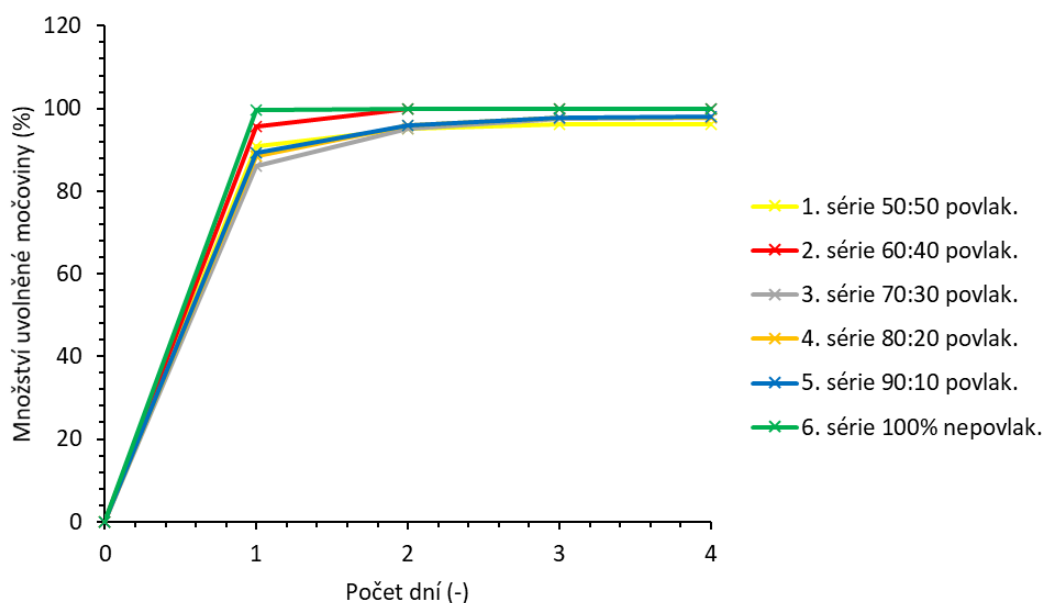
Pro srovnání, v experimentu prof. Volové byly jako hnojiva se zpomaleným uvolňováním připraveny pelety povlakované šesti vrstvami 5% roztoku PHB v chloroformu, které obsahovaly jen 25 % dusičnanu amonného a 75 % PHB a u nichž zastoupení povlaku na peletách tvořilo až 59 %. Pelety byly ponechány sedm dní ve vodě, přičemž po této době došlo k uvolnění necelých 20 % hnojiva [50]. Přibližně stejné množství bylo po této době uvolněno u našich sérií 50 : 50 (močovina : PHB) a 60 : 40, u série 70 : 30 s nepovedeným povlakem 47 %. U série 80 : 20 byla uvolněna jen necelá 2 %, u série 90 : 10 necelých 7 % a u série se 100% močovinou 8,5 %. V naší práci bylo tedy dosaženo jak prodloužení doby uvolňování hnojiva, tak zároveň navýšení množství hnojiva v peletě a snížení zastoupení povlaku.

Ačkoli z těchto výsledků nelze vyčíst optimální poměr močoviny : PHB v matrici, bylo jasné prokázáno, že pelety mají potenciál k využití jako hnojiva se zpomaleným uvolňováním. Velmi nadějně výsledky měla série 80 : 20, která obsahuje vysoké množství hnojiva, ale zároveň u ní probíhalo jeho uvolňování velmi pomalu.

3.1.2 Pelety připravené na čtvrtprovozním zařízení

3.1.2.1 Pelety připravené na čtvrtprovozním zařízení a povlakované roztokem s 90% dioxolanem

Jak již bylo zmíněno výše, během experimentu byl jako rozpouštědlo vyzkoušen i pouze 90% dioxolan, jehož nižší cena nabízí možnost snížení nákladů. Náš výzkum však prokázal, že nelze pracovat s dioxolanem o nižší čistotě. Roztok, v němž byla kromě dioxolanu obsažena i voda a metanol, vykazoval již při povlakování odlišné vlastnosti a jím obalené pelety měly hrbokatý povrch. Testy ve vodním prostředí následně ukázaly, že povlak na peletě není vůbec celistvý a ve všech sériích došlo k uvolnění více než 90 % hnojiva již po dvou dnech (obr. 14). Oproti referenci – peletách 100% močoviny bez povlaku je tedy po dvou dnech rozdíl okolo pouhých 4 %, což je zanedbatelné. Pelety povlakované v roztoku PHB s pouze 90% dioxolanem tedy jako hnojiva se zpomaleným uvolňováním nelze použít.



Obrázek 14: Grafické znázornění průběhu uvolňování močoviny ve vodě pro pelety připravené na čtvrtprovozním zařízení a povlakované roztokem s pouze 90% dioxolanem

3.1.2.2 Pelety připravené na čtvrtprovozním zařízení a povlakované roztokem s 99% dioxolanem

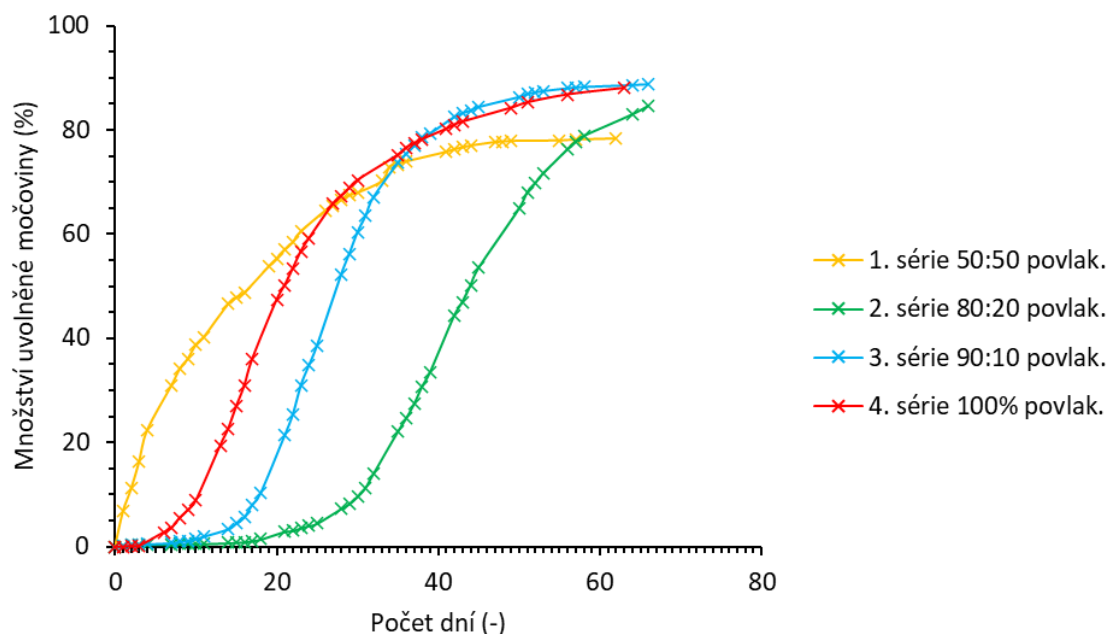
Testy ve vodním prostředí byly provedeny také u čtvrtprovozních pelet povlakovaných v bubnu roztokem PHB v 99% dioxolanu. Byly zkoumány série s různým obsahem močoviny a PHB v matrici, které byly následně použity i v půdním prostředí. U každé série bylo zjištěno hmotnostní zastoupení povlaku na peletách (tab. 9).

Tabulka 9: Obsah povlaku pro jednotlivé série čtvrtprovozních pelet

Série	Obsah povlaku (% hm.)
1. 50 : 50 (močovina : PHB)	26,1
2. 80 : 20 (močovina : PHB)	39,8
3. 90 : 10 (močovina : PHB)	35,9
4. 100% močovina	18,1

Množství povlaku se u jednotlivých sérií značně lišilo. Dva hlavní důvody této skutečnosti byly rozdílná rychlost nalévání roztoku PHB a odlišná adheze povlaku k peletám. Při rychlejší nalévání se dioxolan nestíhal dostatečně rychle odpařovat, a tak byla vrstva povlaku kvůli dioxolanu uzavřenému v peletě objemnější. Pomalejší nalévání (po cca 20–25 ml roztoku s alespoň 10s přestávkami) zajistilo tenčí vrstvu. Zároveň bylo zjištěno, že přilnavost povlaku závisí na kvalitě povrchu pelet. To se projevilo u pelet 50 : 50, které byly v důsledku obtížnější peletizace vlivem vysokého obsahu PHB v matrici popraskané. Jejich povlakovaná vrstva tak následně obsahovala trhliny, které způsobily rychlejší uvolnění hnojiva.

Rozdíl v kvalitě povlaku oproti výše zmíněným peletám s 90% dioxolanem je z testů ve vodním prostředí patrný hned na první pohled. Až na sérii 50 : 50, která, jak již bylo zmíněno, byla defektní, se z pelet během prvních deseti dní neuvolnilo skoro žádné hnojivo (obr. 15).



Obrázek 15: Grafické znázornění průběhu uvolňování močoviny ve vodě pro pelety připravené na čtvrtprovozním zařízení a povlakované roztokem s 99% dioxolanem

Po deseti dnech začaly rychleji vodu propouštět pelety 90 : 10 a 100% močovina, jejichž křivky od tohoto úseku exponenciálně stoupají. U série s 90% obsahem močoviny došlo po necelých čtyřech týdnech k uvolnění více než 50 % a po šesti týdnech více než 80 % hnojiva. Poté se rychlost uvolňování snížila.

Pelety se 100 % močoviny mají velmi podobný průběh uvolňování, k uvolnění 50 % hnojiva došlo po třech týdnech a 80 % také po šesti týdnech. Tyto výsledky jsou velmi pozitivní, jelikož jsme vzhledem k absenci PHB v těchto peletách předpokládali horší adhezi povlaku. Nicméně díky pomalejší rychlosti nalévání povlakujícího roztoku bylo i u 100% močoviny dosaženo kvalitní vrstvy. V půdním prostředí však očekáváme rychlé narušení povlaku mikroorganismy a rychlejší uvolnění hnojiva.

U pelet 80 : 20 byl průběh uvolňování močoviny první čtyři týdny velmi mírný, bylo uvolněno pouze 7 % hnojiva. Poté začala močovina unikat rychleji, nicméně po více než šesti týdnech byla uvolněna pouze polovina hnojiva. K uvolnění 80 % došlo až po více než devíti týdnech. Tato varianta se nám díky

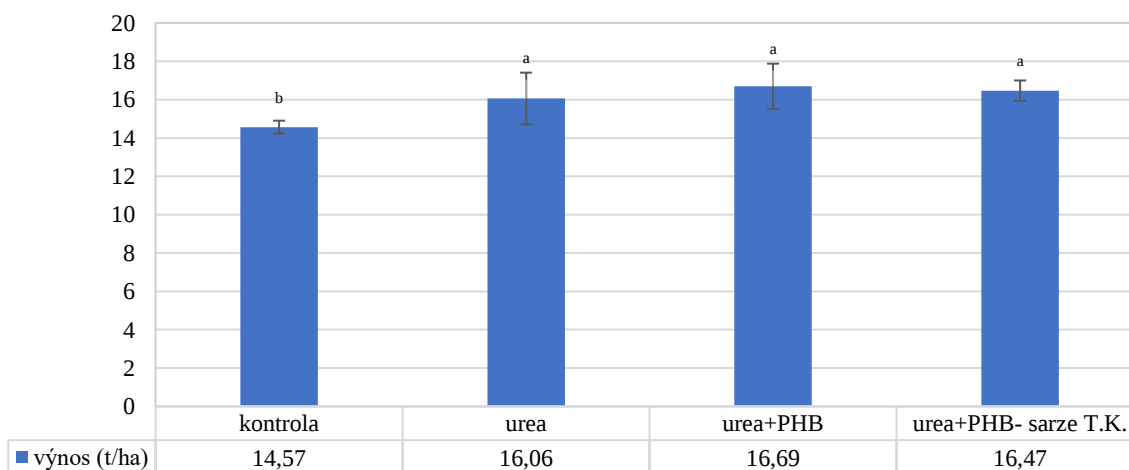
vysokému zastoupení hnojiva v matrici a zároveň jeho značně zpomalenému uvolňování jeví jako neoptimálnější.

Naopak série 50 : 50 má zcela odlišný průběh uvolňování a její křivka začíná již od začátku strmě růst. Po osmnácti dnech bylo uvolněno více než 50 %. Po šesti týdnech bylo uvolněno více než 75 % hnojiva, ale poté se rychlost uvolňování zpomalila a nebylo dosaženo uvolnění více než 80 %. To bylo způsobeno pravděpodobně opět ztrátami při odlévání, stejně jako u testů s ručně připravovanými peletami, a také pomalejším uvolňováním zbývajících močoviny z matrice s vysokým obsahem PHB. Aby bylo dosaženo pozvolnějšího uvolňování hnojiva z těchto pelet díky hladšímu povlaku, bylo by třeba optimalizovat jejich přípravu na peletizačním zařízení. Ale vzhledem k tomu, že se perspektivněji jeví pelety s 80 % hnojiva v matrici, dále jsme se prozatím tomuto problému nevěnovali. V polních testech byly použity pelety série 50 : 50, které byly vyrobeny na peletizačním zařízení ve firmě Duslo Šaľa. Zde mají výrobu pelet již optimalizovanou, proto byly pelety hladké a nedefektní.

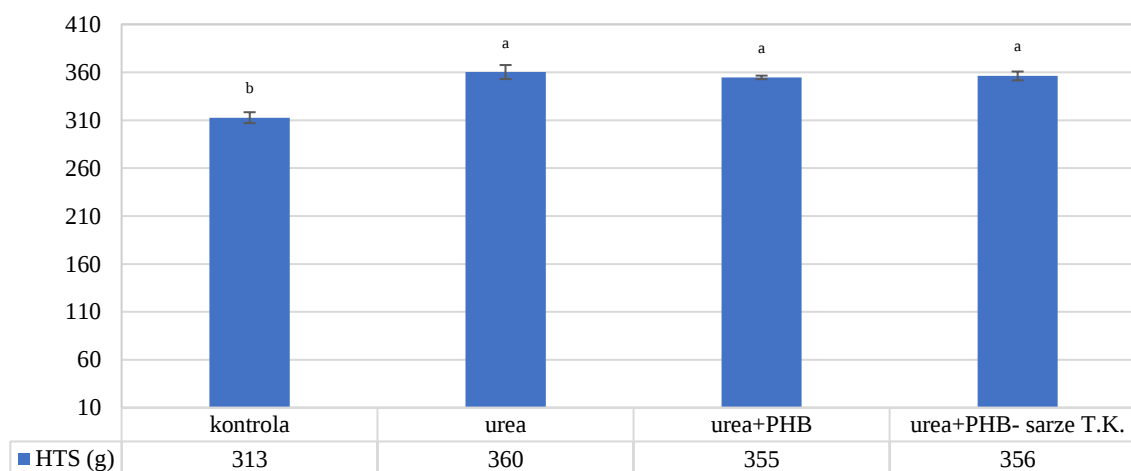
Nejpovolnějšího uvolňování tedy bylo dosaženo u série 80 : 20, u které došlo k uvolnění 80 % hnojiva po více než 60 dnech. Oproti tomu (např. u jednoho z často používaných syntetických polymerů – PS) došlo u pelet 100% močoviny povlakovaných roztokem PS k uvolnění 80 % hnojiva po necelých čtyřech týdnech, přičemž zastoupení povlaku na peletách tvořilo zhruba 10 % [51]. Naše hnojiva se zcela biodegradabilním přírodním povlakem tedy dosahují ve vodním prostředí dokonce i lepších výsledků než syntetický nerozložitelný PS. Z ostatních biopolymerů je díky své nízké ceně často studován také škrob, avšak samotný jej nelze použít. Ale na příklad v podobě hydrogelu vyztuženého nanočásticemi přírodního uhlí u něj bylo dosaženo uvolnění 70 % živin během tří týdnů [52].

3.2 Polní testy

Z vyhodnocení polních testů pomocí výnosu zrna (obr. 16) a hmotnost tisíce semen (HTS) (obr. 17) nejsou patrné statisticky významné rozdíly mezi výnosy při aplikaci 100% nepovlakované močoviny a našich povlakovaných hnojiv, jelikož u obou testů dosahují 100% močovina a čtvrtprovozní pelety podobných hodnot. Na základě těchto testů jsme tedy přistoupili k optimalizaci složení hnojivových formulací a předpokládáme, že lepších výsledků bude dosaženo u pelet s obsahem 80 % hnojiva v matrici a výše.



Obrázek 16: Grafické znázornění výnosů zrna kukuřice pro jednotlivé série polních testů (mezi výnosy označenými stejnými písmeny (a, b) nejsou statisticky významné rozdíly)



Obrázek 17: Grafické znázornění hmotnosti tisíce semen kukuřice pro jednotlivé série polních testů (mezi výnosy označenými stejnými písmeny (a, b) nejsou statisticky významné rozdíly)

Co se týče výnosu zrna u pelet připravovaných na čtvrtprovozním zařízení a povlakovaných roztokem připraveným pod refluxem (urea+PHB) měly oproti čisté močovině o 4,32 % vyšší výnos. Čtvrtprovozní pelety povlakované roztokem připraveným v tlakovém kotli (urea+PHB – šarže T.K.) měly výnos vyšší o 2,81 %. U HTS jsou odchylky ještě menší, vůči močovině je u čtvrtprovozních pelet povlakovaných roztokem připraveným pod refluxem (urea+PHB) rozdíl pouze 1,60 % a u čtvrtprovozních pelet povlakovaných roztokem připraveným v tlakovém kotli (urea+PHB – šarže T.K.) 1,28 %.

Bylo tedy prokázáno, že přítomnost PHB nemá z tohoto hlediska negativní vliv a hnojení je stejně kvalitní. Rozdíl bude patrný zřejmě v průběhu uvolňování N, které bude zkoumáno v dalším měření. Dále jsou také ještě zpracovávány výsledky studia kvality kukuřice, konkrétně obsah N a škrobu a produkce bílkovin a škrobu.

3.3 Testy v půdním prostředí

Pro testy v půdním prostředí bylo u každé varianty založeno celkově devět nádob, tři nádoby na jeden odběr. Tři odběry v čase byly provedeny vždy s dvoutýdenním rozestupem. Každé měření tedy bylo provedeno vždy u tří nádob a zjištěné hodnoty byly zprůměrovány. Výsledky byly následně statisticky vyhodnoceny Tukeyovým HSD testem.

Po dvou týdnech v půdním prostředí držely povlakované pelety všech variant svůj tvar, ale u pár pelet již došlo k částečnému porušení povlaku a absorpci vody. Po čtyřech týdnech se pelety 50 : 50 již rozpadaly, PHB bylo nasáklé vodou a drolilo se. Na některých se také objevila plíseň. Pelety 80 : 20 a 90 : 10 lépe držely svůj tvar, nicméně u některých pelet byl povlak porušen. K narušení povlaku docházelo zejména na koncích pelet. Povlakované pelety se 100 % močoviny již byly zcela vyprázdněné. Po šesti týdnech v půdě se pelety všech variant při vyjímání z půdy rozpadaly (viz obr. 18).



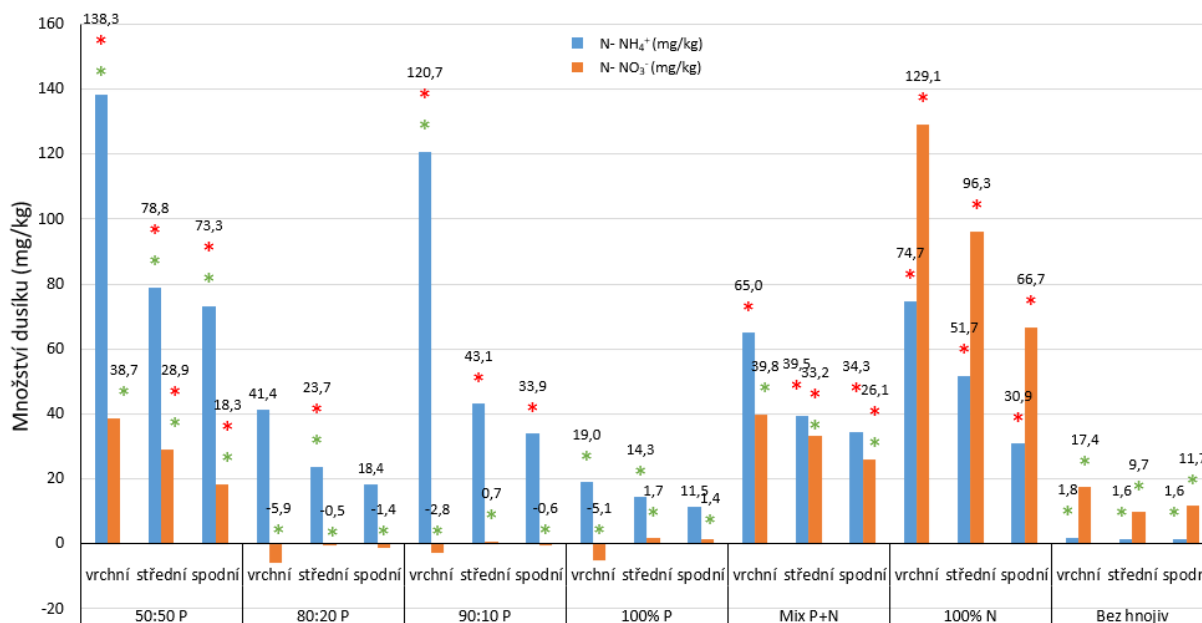
Obrázek 18: Povlakované pelety po šesti týdnech v půdním prostředí (konkrétně varianta 80 : 20)

3.3.1 Stanovení obsahu amonného a nitrátového dusíku

Na základě obsahu minerálního N v jednotlivých vrstvách půdy byl posouzen vliv povlaku na průběh uvolňování hnojiva z pelet. Minerální N se v půdě vyskytoval v podobě NH_4^+ a NO_3^- vznikajícího jeho nitrifikací. Toto stanovení bylo z časových důvodů vyhodnoceno pouze u prvního odběru. Hodnoty byly vždy vztaženy k negativní referenci – variantě bez hnojiva, jelikož určité množství minerálního N se v půdě nachází i přirozeně. Množství N bylo stanovováno ve třech vrstvách půdy (vrchní, střední, spodní), jelikož při aplikaci závlivky dochází k distribuci živin i do nižších úrovní. Významná je především vrchní vrstva, u které vysoké množství NH_4^+ indikuje riziko volatilizace, a spodní vrstva, ze které je při vysokém obsahu NO_3^- jasné, že nedochází ke zpomalenému uvolňování.

Po prvních dvou týdnech se hnojivo dle očekávání nejrychleji uvolnilo u pozitivní reference – 100% nepovlakovaná močovina, u které je nejvyšší hodnota obsahu NO_3^- ve všech vrstvách, jelikož došlo k velmi rychlému uvolnění hnojiva a nitrifikaci NH_4^+ (obr. 19). Je tedy jasné patrný rozdíl oproti ostatním povlakovaným peletám, u kterých byl prokázán účinek povlaku a zabránění vyplavování NO_3^- iontů do spodních vrstev již v prvním termínu. K rychlému uvolnění močoviny došlo také u povlakovaných pelet 50 : 50 (močovina : PHB), které mají vysoké hodnoty obsahu NH_4^+ . Díky povlakové vrstvě však nedošlo k tak rychlé nitrifikaci. Uvolnění močoviny ale proběhlo rychleji než u ostatních povlakovaných variant. I v půdním prostředí tedy bylo potvrzeno, že povlaková vrstva je u této varianty defektní. U varianty – mix: 1/3 – 100% nepovlakovaná močovina + 2/3 – 80 : 20 povlakované došlo k rozpuštění nepovlakované močoviny a jsou zde tedy také vyšší hodnoty obsahu NH_4^+ i NO_3^- .

U povlakovaných pelet 80 : 20 bylo uvolňování močoviny pomalejší, což dokazují nižší hodnoty NH_4^+ . Hodnoty NO_3^- vyšly záporně. Jedná se však pouze o odchylky, které jsou zanedbatelné a byly způsobeny pouze nižším obsahem přirozeného N v půdě. Půda hnojená povlakovanými peletami 90 : 10 vykazovala vysoký obsah NH_4^+ ve vrchní vrstvě, u kterého tedy hrozí volatilizace. Obsah NO_3^- ale zaznamenán nebyl. Nízké hodnoty byly naměřeny také u povlakované 100% močoviny, nicméně předpokládáme, že vzhledem k absenci PHB v matici, a tedy horší adhezi povlaku k peletám, došlo v dalším odběru ke skokovému nárůstu uvolněného množství.

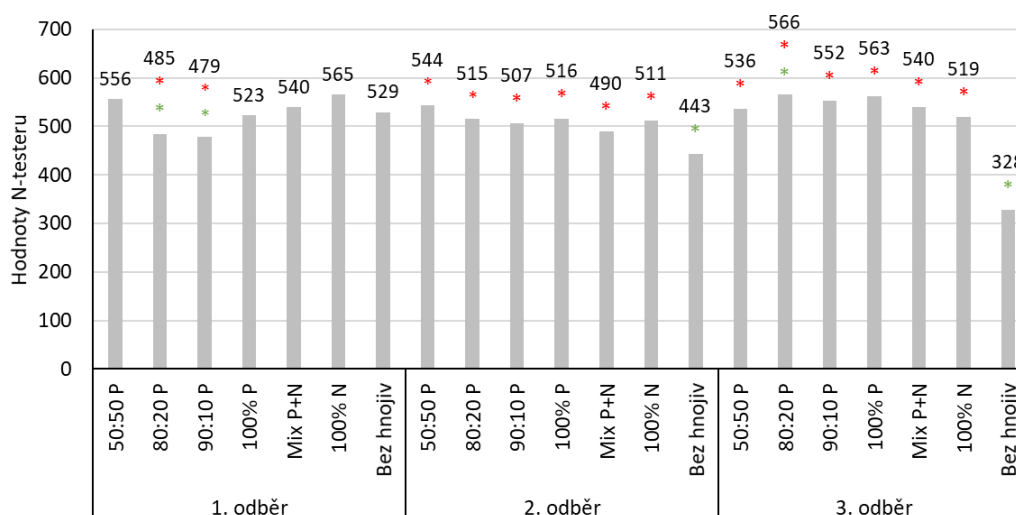


Obrázek 19: Grafické znázornění obsahu amonného a nitratového dusíku u jednotlivých variant čtvrtprovozních pelet s různým obsahem močoviny : PHB po 1. odběru (* – statisticky významný rozdíl od negativní reference; * – statisticky významný rozdíl od pozitivní reference; P – povlakované; N – nepovlakované)

3.3.2 Stanovení obsahu chlorofylu v listu

Obsah chlorofylu v listech byl stanoven pomocí přístroje Yara N-tester. Ze získaných dat (obr. 20) je patrné, že v prvním intervalu přijaly nejvíce N rostliny u varianty nepovlakované 100% močoviny. Platí, že čím více N rostliny přijmou, tím jsou zelenější a mají vyšší fotosyntetickou aktivitu. Je tedy patrné, že u všech povlakovaných variant bylo uvolňování hnojiva oproti variantě bez povlaku zpomalené. Nejnížší hodnoty byly zjištěny u povlakovaných variant 80 : 20 a 90 : 10 (močovina : PHB). Tyto výsledky korelují se stanovením obsahu dusíku z prvního termínu, kde byly u těchto variant naměřeny nejnížší obsahy nitratového dusíku.

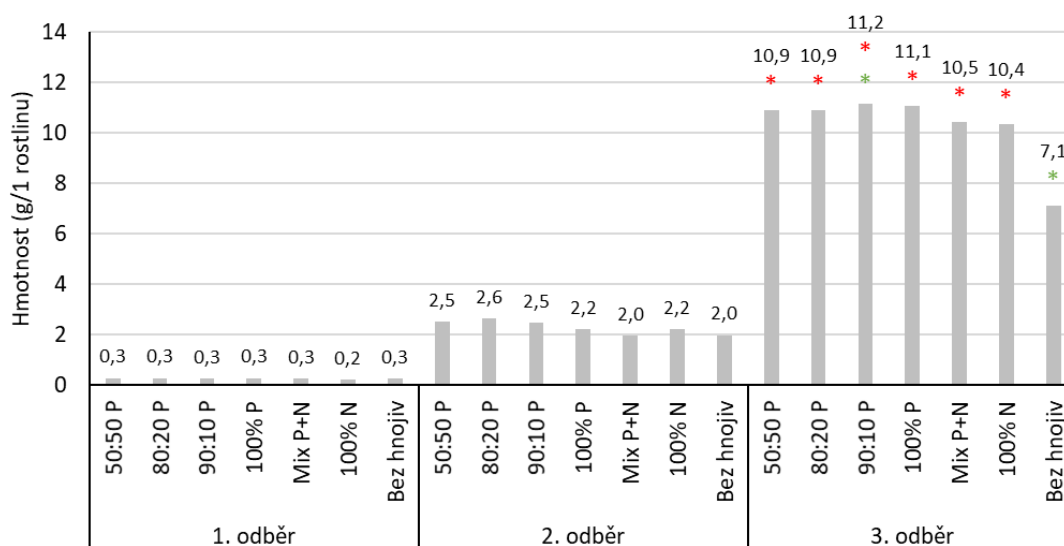
U druhého odběru měla nejvyšší hodnoty N-testeru povlakovaná varianta 50 : 50, u které došlo po 100% nepovlakované močoviny k uvolnění hnojiva nejrychleji. Po třetím odběru, tedy po šesti týdnech v půdě, byl nejvyšší obsah chlorofylu u povlakovaných variant 80 : 20, 100% močovina a 90 : 10. To opět poukazuje na postupné uvolňování dusíku u těchto variant, díky kterému rostliny mají dostatečné množství dusíku i ve třetím termínu, a proto vyšší hodnoty N-testeru. K podrobnějšímu rozboru jsou ale třeba data stanovení obsahu NH_4^+ a NO_3^- i pro druhý a třetí termín.



Obrázek 20: Grafické znázornění vývoje obsahu chlorofylu pro jednotlivé varianty čtvrtprovozních pelet s různým obsahem močoviny : PHB (* – statisticky významný rozdíl od negativní reference; * – statisticky významný rozdíl od pozitivní reference; P – povlakované; N – nepovlakované)

3.3.3 Stanovení hmotnosti sušiny nadzemní části rostlin

Byl hodnocen také vliv hnojiv na produkci rostlinné hmoty. Vývoj hmotnosti sušiny je znázorněn na obr. 21. Po prvním ani po druhém odběru nebyly zaznamenány mezi hmotnostmi statisticky významné rozdíly. Po třetím odběru, tedy po šesti týdnech, již byly patrné rozdíly mezi variantami s povlakovanými a nepovlakovanými hnojivy a u všech hnojených variant byly naměřeny výrazně vyšší hodnoty než u negativní reference (variantě bez hnojiva). Byl pozorován pozitivní vliv povlakovaných hnojiv na růst nadzemních částí rostlin. Statisticky významně vyšší hodnota oproti pozitivní referenci byla naměřena u varianty 90 : 10.

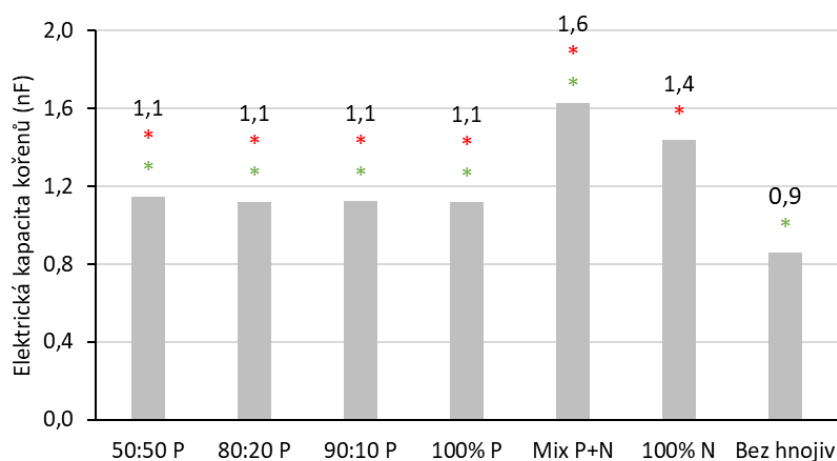


Obrázek 21: Grafické znázornění vývoje hmotností sušiny nadzemních částí rostlin pro jednotlivé varianty čtvrtprovozních pelet s různým obsahem močoviny : PHB (* – statisticky významný rozdíl od negativní reference; * – statisticky významný rozdíl od pozitivní reference; P – povlakované; N – nepovlakované)

3.3.4 Stanovení kořenové kapacity

Velikost (kapacita) kořenového systému byla stanovena pouze po třetím odběru, a to prostřednictvím elektrické kapacity kořenů (EKK). Velikost je tedy vyjádřena jednotkami elektrické kapacity – nanofarady (nF) a je znázorněna na obr. 22.

U variant: mix povlakovaných a nepovlakovaných pelet a nepovlakovaná 100% močovina se rostliny pravděpodobně spíše soustředily na budování zásob kořenového systému. U povlakovaných variant, u kterých byl pozvolnější přísun živin, byly rozvíjeny nadzemní části. U varianty bez hnojiva byly zaznamenány nejnižší hodnoty jak hmotností nadzemních částí rostlin, tak velikosti kořenového systému. Nejvyšší hodnota EKK u mixu povlakovaných a nepovlakovaných pelet byla nejspíše způsobena rozvrstvením N v různých vrstvách půdy, které bylo odlišné od ostatních variant. K bližší charakterizaci jsou ale opět potřeba data vyhodnocení obsahu NH_4^+ a NO_3^- z druhého a třetího odběru.



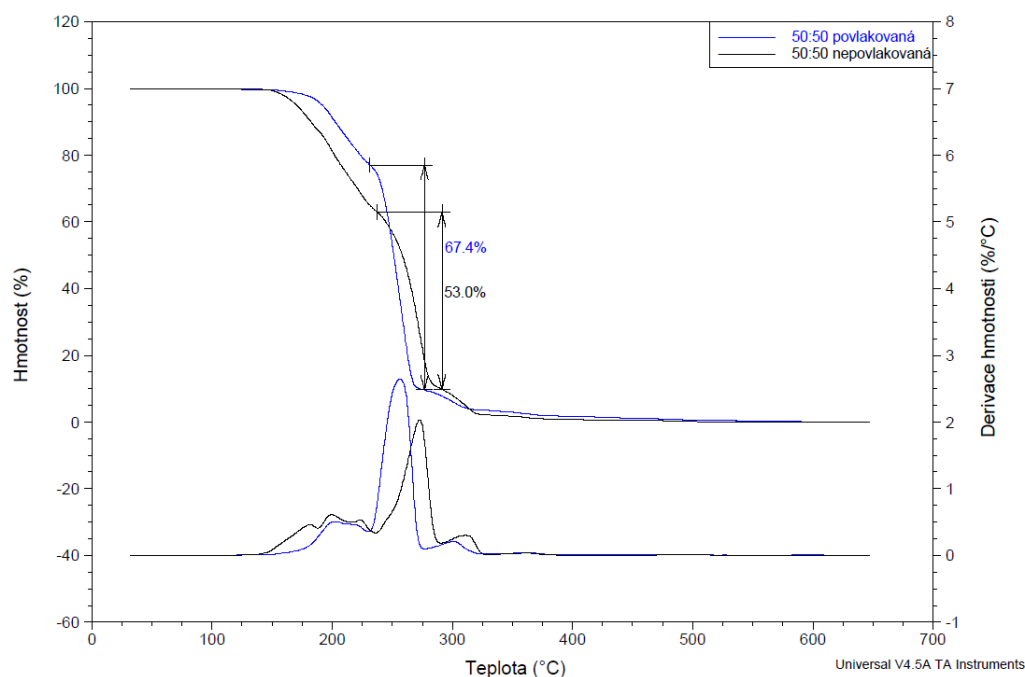
Obrázek 22: Grafické znázornění výsledků stanovení kořenové kapacity po třetím odběru pro jednotlivé varianty čtvrtprovozních pelet s různým obsahem močoviny : PHB (* – statisticky významný rozdíl od negativní reference; * – statisticky významný rozdíl od pozitivní reference; P – povlakované; N – nepovlakované)

3.4 Studium vlastností polymerního povlaku

3.4.1 Termogravimetrická analýza

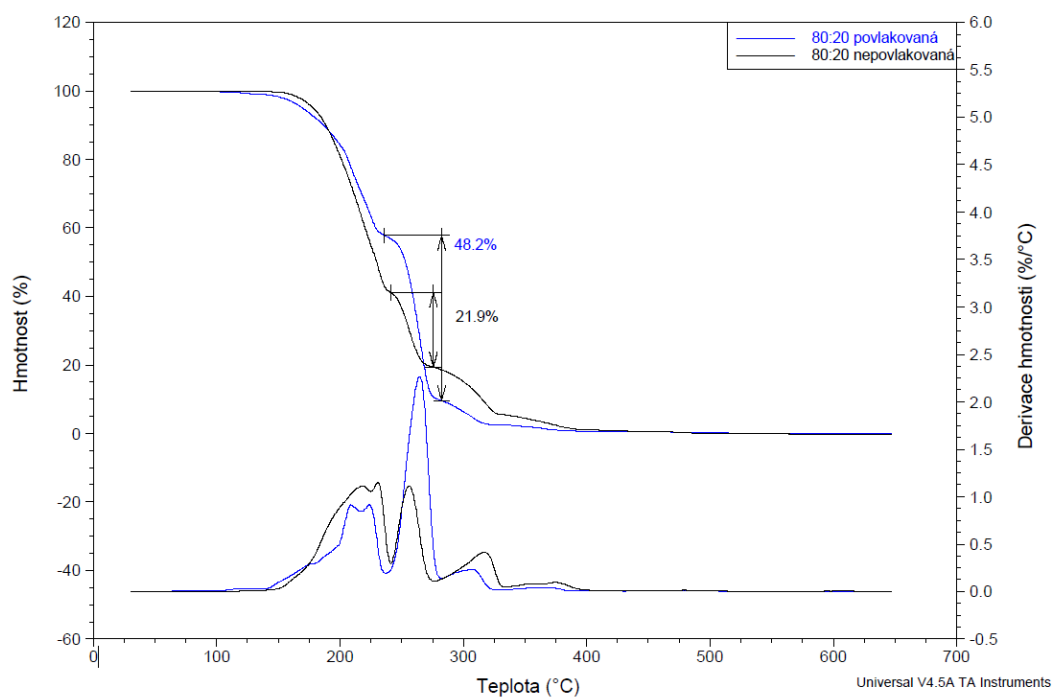
Analýza byla provedena pro všechny série použité v testech v půdním prostředí. U každé série bylo měření provedeno pro tři vzorky pelet s povlakem a jednu bez povlaku. Jelikož průběhy měření byly u jednotlivých opakování shodné, byl pro každou sérii vždy vybrán jeden reprezentativní výsledek. Ten ukazoval změnu hmotnosti a derivaci hmotnosti podle teploty v závislosti na teplotě. Pomocí těchto křivek a známého průběhu křivky pro samotné PHB a močovinu bylo vždy určeno procentuální zastoupení povlaku na peletě.

U série 50 : 50 (močovina : PHB) bylo u nepovlakované pelety změřeno 53,0 % PHB v matici a u povlakované celkově 67,4 % PHB (obr. 23). Obsah PHB čistě v povlaku tedy odpovídá 14,4 %. Zvážením pelet před a po povlakování však byl naměřen nárůst hmotnosti o 26,1 %.



Obrázek 23: Vyhodnocení TGA pro pelety 50 : 50 (močovina : PHB) s povlakem a bez

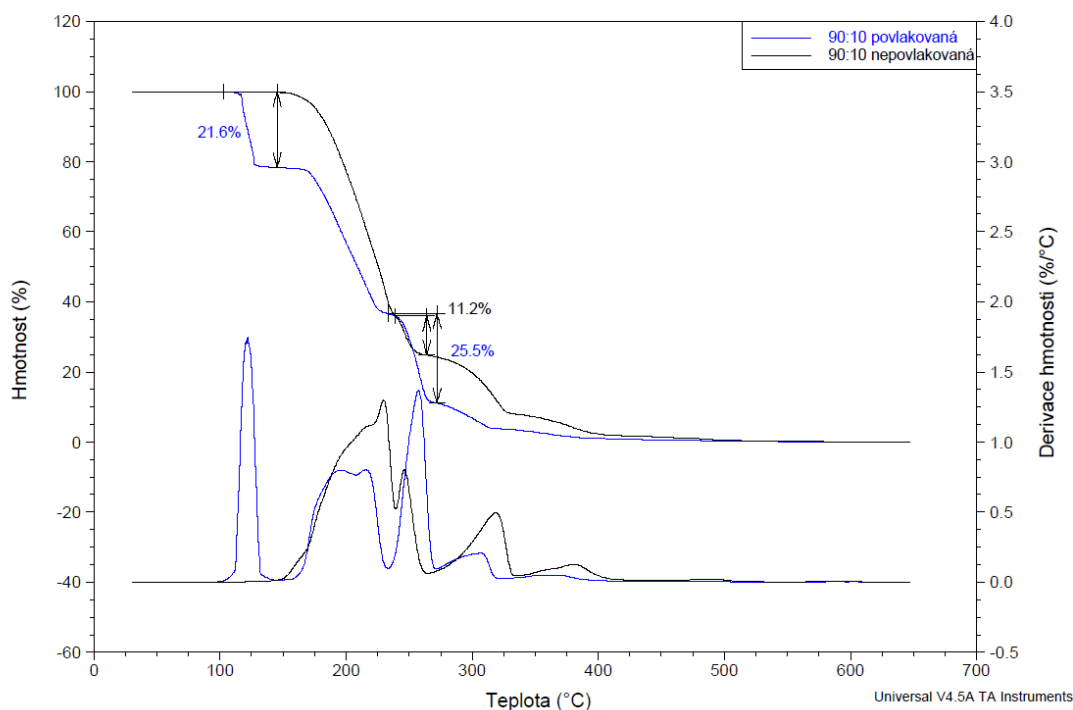
U série 80 : 20 bylo naměřeno u nepovlakované pelety v matrici 21,9 % PHB a u povlakované celkově 48,2 % PHB, obsah povlaku byl tedy 26,3 % (obr. 24), oproti naváženým 39,8 %.



Obrázek 24: Vyhodnocení TGA pro pelety 80 : 20 (močovina : PHB) s povlakem a bez

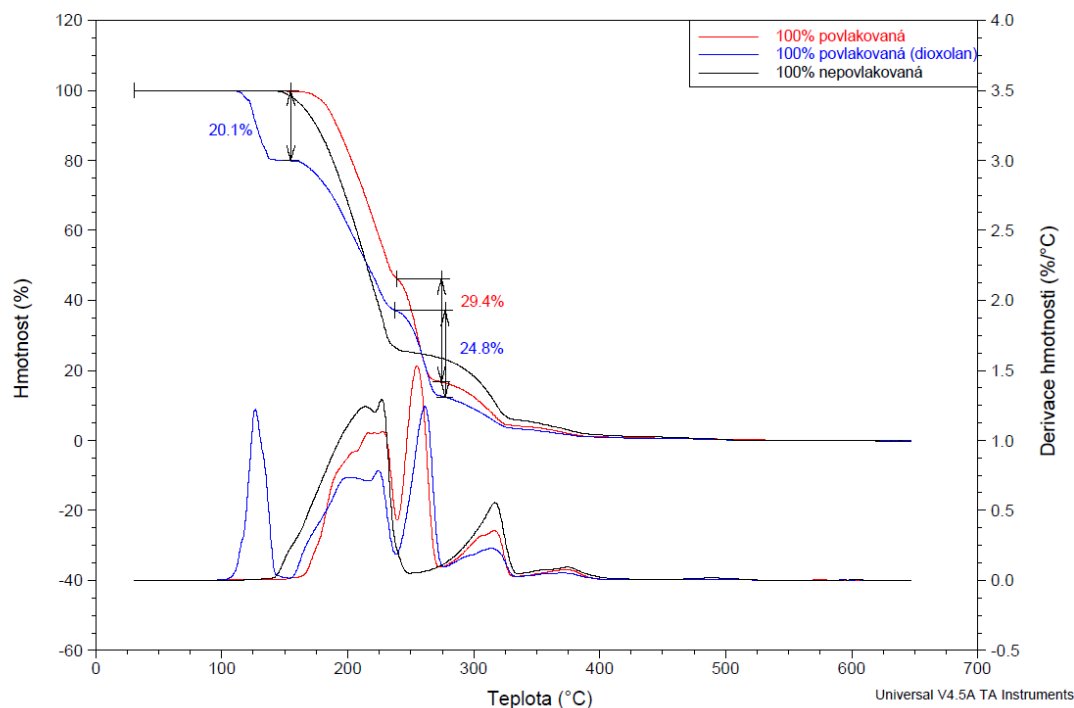
U série 90 : 10 (obr. 25) byla jako u jediné ve všech třech měřeních povlakovaných pelet zaznamenána přítomnost dioxolanu, který způsobil pokles hmotnosti již při teplotě nad 100 °C. Teplota varu dioxolanu je sice 78,0 °C [53], ale posun byl pravděpodobně způsoben přítomností povlaku na peletě či nerovnoměrným prohříváním pelety v důsledku špatného přestupu tepla do vzorku. Další možností je, že v peletě byla obsažena voda. Močovina má sice tendenci absorbovat vzdušnou vlhkost, nicméně ne v tak velkém množství jako bylo zaznamenáno. Obsah dioxolanu byl 21,6 %.

Dále byl u povlakované pelety celkový obsah PHB 25,5 % a u nepovlakované bylo v matrici 11,2 % PHB. Povlak tedy měl v peletě zastoupení 35,9 %, přičemž stejná hodnota byla zjištěna i vážením pelet.



Obrázek 25: Vyhodnocení TGA pro pelety 90 : 10 (močovina : PHB) s povlakem a bez

U pelet s čistou močovinou (obr. 26) byl pouze u jednoho vzorku zaznamenán dioxolan, který tvořil 20,1 %, obsah PHB u této pelety byl 24,8 %. U pelet bez přítomnosti dioxolanu byl obsah PHB 29,4 %. Vážením byl naměřen obsah povlaku pouhých 18,12 %.



Obrázek 26: Vyhodnocení TGA pro pelety 100% močovina s povlakem a bez

Rozdíly v hmotnostních zastoupeních povlaků na peletách zjištěných pomocí TGA a vážením byly u všech sérií způsobeny zejména zkreslením výsledků TGA vlivem výběru vzorků, které mohly být značně odlišné od ostatních pelet. Maximální hmotnost vzorku byla 20 mg, takže byly k měření vybrány nejmenší kousky pelet, u nichž je poměr objemu (hmotnosti) ku povrchu (povlaku) odlišný od klasické velikosti a nelze jejich vlastnosti generalizovat. Nicméně u nepovlakovaných pelet bylo potvrzeno požadované zastoupení PHB v matrici, a tedy ověřena kvalita homogenizace směsi během peletizace.

Významným výsledkem měření však je zaznamenání přítomnosti dioxolanu u série 90 : 10 a 100%. Vzhledem k omezenému výběru vzorků je vysoce pravděpodobné, že je přítomen u všech sérií. Jeho obsah souvisí s kvalitou promíchávání pelet v bubnu a dávkováním roztoku. Je pravděpodobné, že dochází při nalévání lokálně k rychlé sorpci dioxolanu do pelety a jeho uzavření povlakem.

3.4.2 Gelová permeační chromatografie

Pomocí GPC byly měřeny vzorky čistého PHB, povlakové vrstvy PHB ze série 80 : 20 (močovina : PHB) povlakované roztokem s 90% dioxolanem a povlakové vrstvy PHB série 80 : 20 s 99% dioxolanem. Každý vzorek byl založen v pěti opakováních, jejichž hodnoty byly zprůměrovány (tab. 10).

Tabulka 10: Průměrné hodnoty M_w , M_n a D pro jednotlivé vzorky

	PHB prášek	80 : 20 (90% dioxolan)	80 : 20 (99% dioxolan)
M_w (g/mol)	290 500	238 300	286 120
M_n (g/mol)	98 672	97 788	106 162
D (-)	3,01	2,46	2,76

Z výše uvedených údajů zjištěných z GPC, zejména z hmotnostního středu molekulových hmotností (M_w), je patrný rozdíl mezi rozpouštěním PHB v 90% a 99% dioxolanu. Při použití 90% dioxolanu došlo ke snížení M_w o 18 % oproti čistému PHB prášku a u 99% pouze o 2 %, přičemž tato změna je zanedbatelná. Zahříváním polymeru v 99% dioxolanu tedy nedochází k jeho degradaci.

Naopak v případě 90% se značně snížila kvalita polymeru, což vysvětluje i nižší kvalitu povlaku (viz vodní testy 3.1.2.1). V tomto typu dioxolanu je obsaženo 9 % vody a 1 % methanolu, domníváme se tedy, že pravděpodobně došlo k hydrolýze či alkoholýze esterových vazeb v PHB (nicméně analýza této příčiny již nebyla předmětem našeho experimentu). Při povlakování tak roztok s 90% dioxolanem pomaleji zasychal a postupným nabalováním roztoku vznikla na povrchu pelet hrbolatá struktura (obr. 27). Svou negativní roli mohla sehrát i interakce PHB s vodou a methanolem při odpařování dioxolanu.



Obrázek 27: Peleta povlakovaná roztokem PHB v 90% dioxolanu (nalevo) a v 99% dioxolanu (napravo)

ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce byla příprava povlakovaných hnojiv se zpomaleným uvolňováním a jejich charakterizace ve vodním a půdním prostředí. Nejprve bylo ručně připraveno šest sérií hnojivových formulací s různým obsahem močoviny : PHB v matrici: 50 : 50; 60 : 40; 70 : 30; 80 : 20; 90 : 10 a 100 % močoviny. Tyto ruční pelety byly povlakovány šesti vrstvami 6% roztoku PHB v dioxolanu, přičemž konečné zastoupení povlaku na peletách se pohybovalo mezi 18–30 %. Pelety byly studovány pomocí testů ve vodním prostředí, které prokázaly účinnost povlaku a zpomalené uvolňování močoviny. Nejpomalejšího uvolňování bylo dosaženo u série 80 : 20 (močovina : PHB), u které došlo k uvolnění 50 % hnojiva až po 84 dnech. Takovýchto výsledků často nebylo dosaženo ani u syntetických povlaků.

Příprava ručních pelet je však značně časově náročná a závislá na zručnosti při povlakování, tudíž bylo pro potenciální komerční zavedení našich hnojiv nutné optimalizovat jejich přípravu ve větším množství. Na čtvrtprovozním peletizačním zařízení byly tedy připraveny série 50 : 50 (močovina : PHB), 80 : 20, 90 : 10 a 100 % močoviny. Ty byly následně povlakovány v dražovacím bubnu 7,4% roztokem PHB v dioxolanu. Během povlakování byla zjištěna závislost mezi rychlostí nalévání roztoku a tloušťkou vzniklého povlaku. Při rychlejší nalévání docházelo k tvorbě pelet o vyšší hmotnosti, což bylo způsobeno dioxolanem uzavřeným v peletách. Přítomnost dioxolanu v povlakové vrstvě byla následně potvrzena prostřednictvím TGA.

Také u pelet připravovaných na čtvrtprovozním zařízení bylo testy ve vodním prostředí potvrzeno zpomalené uvolňování. Pouze u série 50 : 50, u jejíž pelet se v důsledku obtížné peletizace při vysokém obsahu PHB vyskytovaly trhliny, došlo k rychlejšímu uvolnění hnojiva. Bylo ale také pracováno s peletami 50 : 50 připravenými ve firmě Duslo Šaľa, u nichž byla peletizace lépe optimalizována, a pelety tak nebyly defektní. Tyto pelety byly studovány v polních testech, kterými bylo prokázáno, že dokáží rostliny dostatečně vyživovat.

Nejpomalejší průběh uvolňování hnojiva ve vodním prostředí nastal u pelet připravených na čtvrtprovozním zařízení u série 80 : 20, kdy 80 % hnojiva bylo uvolněno po více než devíti týdnech. Významných výsledků bylo také dosaženo u 100% povlakované močoviny, u které, navzdory předpokladu horší adheze povlaku k peletě bez obsahu PHB, došlo k uvolnění 80 % močoviny až po šesti týdnech. Zároveň bylo zjištěno, že je nutné pelety povlakovat roztokem s 99% dioxolanem. Byly testovány také série povlakované roztokem s 90% dioxolanem, nicméně u nich kvůli defektnímu povlaku došlo k uvolnění více než 90 % hnojiva do vody již po dvou dnech. Pomocí GPC bylo následně také zjištěno, že při použití 90% dioxolanu dochází na rozdíl od 99% dioxolanu k degradaci PHB.

Testy v půdním prostředí prokázaly u povlakovaných pelet schopnost zpomaleného uvolňování i v přítomnosti půdních mikroorganismů a zároveň jejich pozitivní vliv na růst rostlin. Stanovení obsahu amonného a nitratového dusíku potvrdilo zpomalené uvolňování u povlakovaných sérií 80 : 20, 90 : 10 a 100% močovina. U těchto sérií bylo dosaženo také nejvyšší hmotnosti sušiny nadzemních částí rostlin a nejvyššího obsahu chlorofylu v listech.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] EHRLICH, Paul R. a John HARTE, 2015. Opinion: To feed the world in 2050 will require a global revolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. [cit. 2021-9-30]. Dostupné z: <https://www.pnas.org/content/112/48/14743>.
- [2] SHARMA, Ameeta a Ronak CHETANI, 2017. Review on the Effect of Organic and Chemical Fertilizers on Plants. *International Journal for Research*. 677-679. ISSN 2321-9653.
- [3] *Příloha průběžné zprávy za rok 2021: Projekt FV40095- Smart Fertilizers*, 2021.
- [4] CHEN, Jen-Hshuan, 2006. The Combined Use of Chemical and Organic Fertilizers and/or Biofertilizer for Crop Growth and Soil Fertility. *International Workshop on Sustained Managment of the Soil-Rhizosphere System for Efficient Crop Production and Fertilizer Use*. 1-3.
- [5] The Impact of Chemical Fertilizers on our Environment and Ecosystem, 2019. KUMAR, Randeep et al. *Research Trends in Enviromental Sciences*. s. 69-86.
- [6] *Cvičení z fyziologie rostlin: Minerální výživa rostlin* [online]. Laboratoř růstových regulátorů, UPOL, s. 3 [cit. 2021-11-06]. Dostupné z: http://www.rustreg.upol.cz/materials/fyziologie_rostlin/FZRSB_Mineralni_vyziva.pdf.
- [7] *Močovina: Duslo, Minerální hnojiva, Granulovaná dusíkatá hnojiva* [online]. [cit. 2022-03-12]. Dostupné z: <https://www.duslo.sk/sk/granulovane-dusikate-hnojiva>.
- [8] KISSEL, D. E. a M. L. CABRERA, 2005. Ammonia. *Encyclopedia of Soils in the Enviroment*. University of Georgia, 59-60. Dostupné z: doi:10.1016/b0-12-348530-4/00177-6.
- [9] FINCH, H. J. S. et al., 2014. Fertilisers and Manures: Nitrogen fertilizers. *Lockhart & Wiseman's Crop Husbandry*. 73. Dostupné z: doi:10.1533/9781782423928.1.63.
- [10] HOFMAN, Georges a Oswald VAN CLEEMPUT, 2004. Soil and Plant Nitrogen. *International Fertilizer Industry Association*. Paris.
- [11] LADHA, Jagdish K. et al. Efficiency of Fertilizer Nitrogen in Cereal Production: Retrospects and Prospects. *Advances in Agronomy*. 2005, (87), 85-87. ISSN 0065-2113/05.
- [12] RITCHIE, Hannah a Max ROSER, 2019. Land Use. *Our World in Data* [online]. [cit. 2021-9-28]. Dostupné z: <https://ourworldindata.org/land-use>.
- [13] CALABI-FLOODY, Marcela et al. Smart Fertilizers as a Strategy for Sustainable Agriculture. *Advances in Agronomy*. 2018, (147). ISSN 0065-2113. Dostupné z: doi:10.1016/bs.agron.2017.10.003.
- [14] MEJIAS, J. H. et al. Nanofertilizers: a Cutting-Edge Approach to Increase Nitrogen Use Efficiency in Grasslands. *Frontiers in Enviromental Science*. 2021. Dostupné z: doi:10.3389/fenvs.2021.635114.
- [15] MAČIK, Mateusz, Agata GRYTA a Magdalena FRĄC, 2020. Biofertilizers in Agriculture: An Overview on Concepts, Strategies and Effects on Soil Microorganisms. *Advances in Agronomy*. 31-37. ISSN 0065-2113.
- [16] MITTER, Eduardo K. et al. Rethinking Crop Nutrition in Times of Modern Microbiology: Innovative Biofertilizer Technologies. *Frontiers in Enviromental Science*. 2021. Dostupné z: doi:10.3389/fsufs.2021.606815.

- [17] SINGH, Rana Pratap et al., 2017. Eco-friendly Nitrogen Fertilizers for Sustainable Agriculture. *Adaptive Soil Management: From Theory to Practices*. India, 238-241. Dostupné z: doi:10.1007/978-981-10-3638-5_11.
- [18] TRENKEL, Martin E., 2010. *Slow- and Controlled-Release and Stabilized Fertilizers: An Option for Enhancing Nutrient Efficiency in Agriculture*. 2. Paris, France: International Fertilizer Industry Association. 32-34. ISBN 978-2-9523139-7-1.
- [19] LIU, Guodong et al., 2017. Controlled-Release and Slow-Release Fertilizers as Nutrient Management Tools. *Horticultural Sciences Departement, UF/IFAS Extension*. 2-3.
- [20] SHAVIV, Avi. Advances in Controlled-Release Fertilizers. *Advances in Agronomy*. 2001. Dostupné z: doi:10.1016/S0065-2113(01)71011-5.
- [21] ARSLANOGLU, Hasan a Fikret TÜMEN, 2021. Potassium struvite (slow release fertilizer) and activated carbon production. *Process Safety and Environmental Protection*. Dostupné z: doi:10.1016/j.psep.2021.01.025.
- [22] SOJKA, Robert E. a James A. ENTRY, 2007. Matrix-Based Fertilizers: a New Fertilizer Concept to Reduce Nutrient Leaching. *Designing Sustainable Farms*. 67-68.
- [23] RAMLI, Ros Azlinawati, 2019. Slow Release Fertilizer Hydrogels: a Review. *The Royal Society of Chemistry: Polymer Chemistry*. Dostupné z: doi:10.1039/c9py01036j.
- [24] SHIVAY, Y. S. et al. Sulphur-coated Urea as a Source of Sulphur and an Enhanced Efficiency of Nitrogen Fertilizer for Spring Wheat. *Cereal Research Communications*. 2015, , 513-515. Dostupné z: doi:10.1556/0806.44.2016.002.
- [25] NAIK, Rajeswar et al. *Polymer Coated Fertilizers as Advance Technique in Nutrient Management*. 2017. Dostupné z: doi:10.15740/HAS/AJSS/12.1/228-232.
- [26] NI, Boli, Minghzu LIU a Shaoyu LÜ. Multifunctional slow-release urea fertilizer from ethylcellulose and superabsorbent coated formulations. *Chemical Engineering Journal*. 2009(155), 892-893.
- [27] MAJEED, Zahid et al. a comprehensive review on biodegradable polymers and their blends used in controlled-release fertilizer processes. *Reviews in Chemical Engineering*. 2015. Dostupné z: doi:10.1515/revce-2014-0021.
- [28] LYNAGE, Martin E. et al. Polydopamine—a nature-inspired polymer coating for biomedical science. *Nanoscale*. 2011. Dostupné z: doi:10.1039/c1nr10969c.
- [29] NOOEAD, Patcharakamon et al. Eco-Friendly Polyvinyl Alcohol/Polylactic Acid Core/Shell Structured Fibers as Controlled-Release Fertilizers for Sustainable Agriculture. *Journal of Polymers and the Enviroment*. 2020. Dostupné z: doi:10.1007/s1092 4-020-01902 -9.
- [30] VODIČKA, Juraj, 2020. *Biodegradace bioplastů v prostředí kompostu*. Brno. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Doc. Stanislav Obruča.
- [31] VOLOVA, Tatiana G. et al. Biodegradable poly-3-hydroxybutyrate as a fertiliser carrier. *Society of Chemical Industry*. 2016. Dostupné z: doi:10.1002/jsfa.7621.
- [32] GWYNNE, Jessica, 2011. Polyhydroxybutyrate. *Chemistry world* [online]. [cit. 2021-11-02]. Dostupné z: <https://www.chemistryworld.com/podcasts/polyhydroxybutyrate/3005910.article>.

- [33] *Microbiology: Cell Structure and Function* [online]. In: . s. 24 [cit. 2021-11-02]. Dostupné z: <https://slideplayer.com/slide/6107373/>.
- [34] ANJANA, et al., 2021. Recent approaches for enhanced production of microbial polyhydroxybutyrate: Preparation of biocomposites and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 1650-1654.
- [35] MCADAM, Blaithín et al., 2020. Production of Polyhydroxybutyrate (P3HB) and Factors Impacting Its Chemical and Mechanical Characteristics. *Polymers*. Athlone Institute of Technology, 2-15. Dostupné z: doi:10.3390/polym12122908.
- [36] DOS SANTOS, Antonio José et al. *From Obtaining to Degradation of P3HB: Material Properties. Part i* [online]. [cit. 2021-11-02]. Dostupné z: <https://www.redalyc.org/journal/835/83554561010/html/>.
- [37] LAMB, John A., Fabian G. FERNANDEZ a Daniel E. KAISER. Understanding Nitrogen in Soils. *Extension*. University of Minnesota. 2014. 1-2.
- [38] BEIG, Bilal et al. Biodegradable Polymer Coated Granular Urea Slows Down N Release Kinetics and Improves Spinach Productivity. *Polymers*. 2020. Dostupné z: doi:10.3390/polym12112623.
- [39] LEGHARI, Shah Jahan et al. Role of Nitrogen for Plant Growth and Development: a Review. *Advances in Enviromental Biology*. 2016, 209-212. ISSN 1995-0756.
- [40] ZOUHAR, Petr, 2011. Jak ekosystém k dusíku přišel. *Vesmír* [online]. [cit. 2021-11-28]. ISSN 1214-4029. Dostupné z: <https://vesmir.cz/cz/casopis/archiv-casopisu/2011/cislo-11/jak-ekosystem-k-dusiku-prisel.html>.
- [41] BERNHARD, Anne. The Nitrogen Cycle: Processes, Players, and Human Impact. *Nature Education Knowledge* [online]. [cit. 2021-11-21]. Dostupné z: <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/the-nitrogen-cycle-processes-players-and-human-15644632/>.
- [42] Symbiotická fixace dusíku u rostlin, 2015. *IS MUNI* [online]. [cit. 2021-11-21]. Dostupné z: https://is.muni.cz/el/sci/jaro2015/Bi7240/um/2015_Symbioticka_fixace_dusiku_Text.pdf.
- [43] BERG, Mary, Miranda MEEHAN a Tom SCHERER, 2017. Environmental Implications of Excess Fertilizer and Manure on Water Quality. *North Dakota State University*.
- [44] KOČÍ, Vladimír, Jiří BURKHARD a Blahoslav MARŠÁLEK. *Eutrofizace na přelomu tisíciletí* [online]. [cit. 2021-11-05]. Dostupné z: <http://ekotoxikologie.sweb.cz/toxlab/knihovna/eutrofizace.htm>.
- [45] SAVCI, Serpil, 2012. *Investigation of Effect of Chemical Fertilizers on Environment*. Hong Kong: Elsevier. Dostupné z: doi: 10.1016/j.apcbee.2012.03.047.
- [46] WALLACE, Arthur, 2008. *Soil acidification from use of too much fertilizer*. Communications in Soil Science and Plant Analysis. Dostupné z: doi:10.1080/00103629409369010.
- [47] Dehumifikace půdy (ztráty organické hmoty). *EAGri* [online]. Ministerstvo zemědělství [cit. 2021-11-06]. Dostupné z: <https://eagri.cz/public/web/mze/puda/ochrana-pudy-a-krajiny/degradace-pud/dehumifikace-pudy/>.

- [48] LI, Changfeng et al., 2019. a Review on Heavy Metals Contamination in Soil: Effects, Sources and Remediation Techniques. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*. Dostupné z: doi:10.1080/15320383.2019.1592108.
- [49] Náhradní díly: Fotogalerie. *Vše pro pelety: Výroba paliv z biomasy* [online]. [cit. 2022-05-17]. Dostupné z: <http://vsepropelety.cz/wp-content/uploads/2017/06/P2160025-1.jpg>.
- [50] BOYANDIN, A. N., E. A. KAZANTSEVA, T. A. VARYGINA a T. G. VOLOVA, 2017. Constructing slow-release formulations of ammonium nitrate fertilizer based on degradable poly(3-hydroxybutyrate). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. University of Florida, 6-10. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jafc.7b01217.
- [51] YANG, Yue-chao et al., 2012. Improving the Quality of Polymer-Coated Urea with Recycled Plastic, Proper Additives, and Large Tablets. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. American Chemical Society, 60, 11233. Dostupné z: doi:10.1021/jf302813g.
- [52] SALIMI, Mehri et al., 2020. Starch-g-poly(acrylic acid-co-acrylamide) composites reinforced with natural char nanoparticles toward environmentally benign slow-release urea fertilizers. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 8, 103765. Dostupné z: doi:10.1016/j.jece.2020.103765.
- [53] 1,3-Dioxolane: Chemical and Physical Properties- Boiling Point. In: *PubChem* [online]. [cit. 2022-05-02]. Dostupné z: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1_3-Dioxolane.

SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK

ATP – Adenosintrifosfát

BHT – 2,6-bis(1,1-dimetyletyl)-4-metylfenol

Ca – Vápník

CO₂ – Oxid uhličitý

EKK – Elektrická kapacita kořenů

Fe – Železo

F_M – Maximální výtěžek fluorescence chlorofylu ve světelně adaptovaném stavu

F_V – Maximální výtěžek variabilní fluorescence chlorofylu ve světelně adaptovaném stavu

GPC – Gelová permeační chromatografie

HCO₃⁻ – Hydrogenuhličitanový iont

HTS – Hmotnost tisíce semen

K – Draslík

MF – Močovinoformaldehyd

Mg – Hořčík

Mn – Mangan

N – Dusík

NDVI – Normalized difference vegetation index

nF – Nanofarad

NH₃ – Amoniak

NH₄⁺ – Amonný iont

NO₂⁻ – Dusitanový iont

NO₃⁻ – Dusičnanový iont

N-P-K – Hnojiva obsahující dusík, fosfor a draslík

PAN – Polyakrylonitril

PE – Polyetylen

PES – Polyethersulfony

PDA – Polydopamin

PHA – Polyhydroxyalkanoáty

PHB – Poly-3-hydroxybutyrát

PLA – Polymléčná kyselina

PM – Petriho miska

PP – Polypropylen

PS – Polystyren

PVC – Polyvinylchlorid

PU – Polyuretan

QY – Kvantový výtěžek

R_{FD} – Index vitality

S – Síra

SAH – Super-absorbující hydrogel

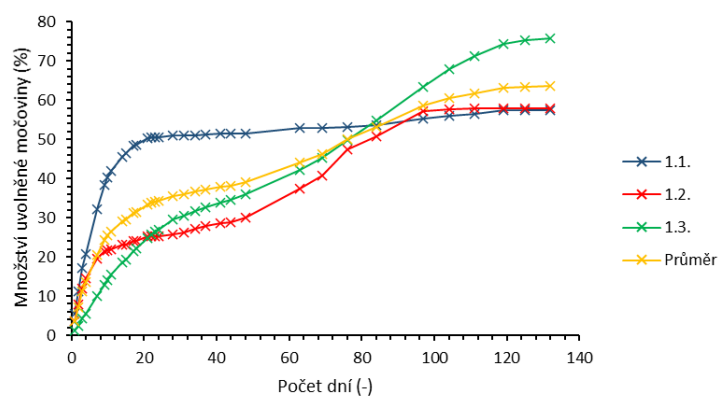
SRF's – Slow Release Fertilizers

TGA – Termogravimetrická analýza

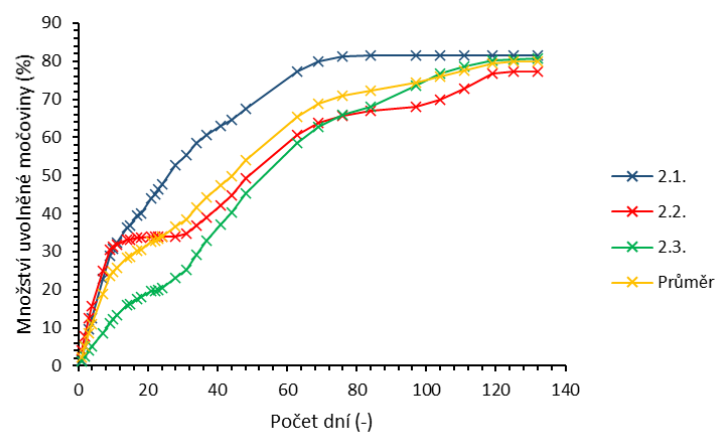
T.K.- Tlakový kotel

Zn – Zinek

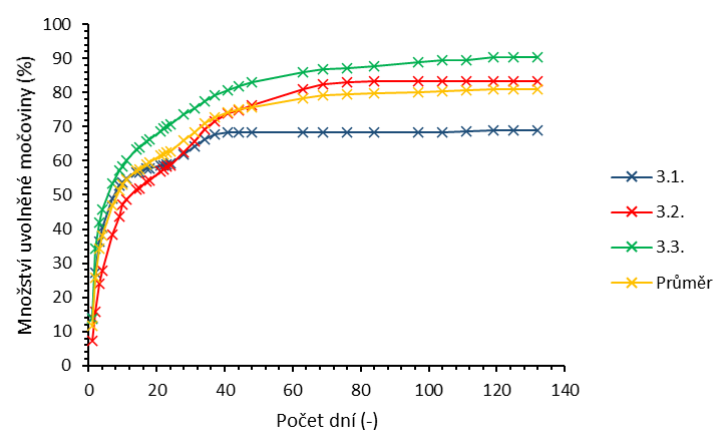
PŘÍLOHY



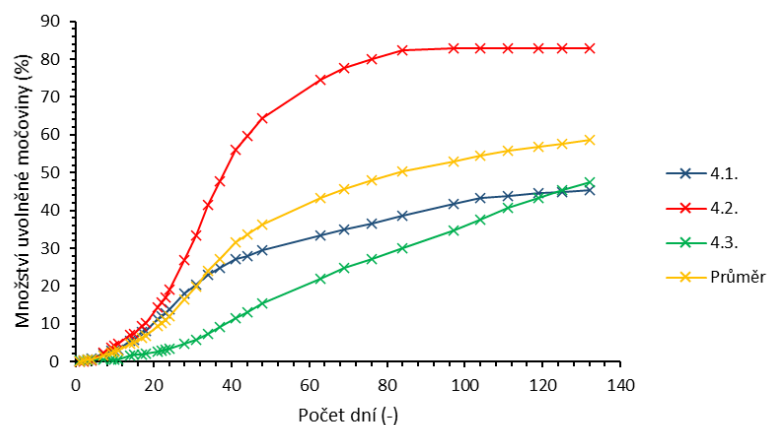
Obrázek 28: Grafické znázornění průběhu uvolňování močoviny pro pelety připravované ručně:
1. série – 50 : 50 (močovina : PHB)



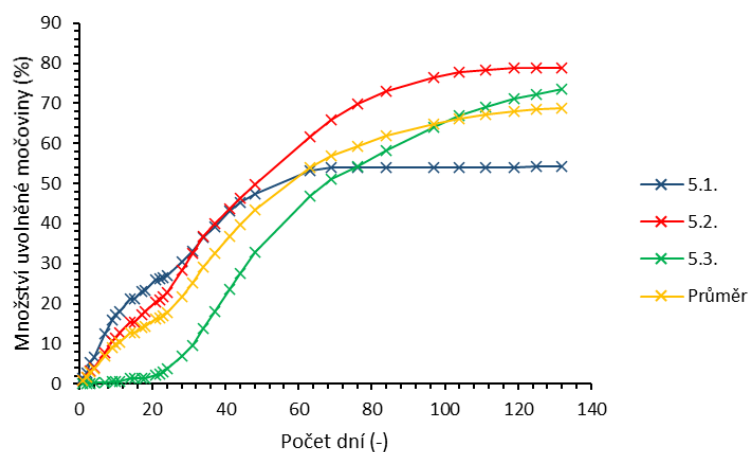
Obrázek 29: Grafické znázornění průběhu uvolňování močoviny pro pelety připravované ručně:
2. série – 60 : 40 (močovina : PHB)



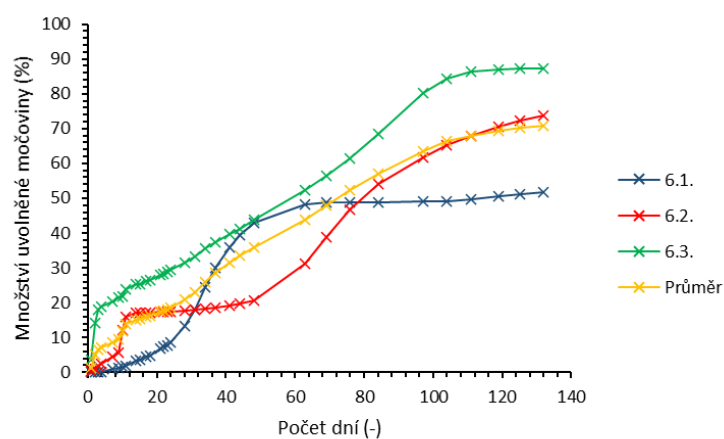
Obrázek 30: Grafické znázornění průběhu uvolňování močoviny pro pelety připravované ručně:
3. série – 70 : 30 (močovina : PHB)



Obrázek 31: Grafické znázornění průběhu uvolňování močoviny pro pelety připravované ručně:
4. série – 80 : 20 (močovina : PHB)



Obrázek 32: Grafické znázornění průběhu uvolňování močoviny pro pelety připravované ručně:
5. série – 90 : 10 (močovina : PHB)



Obrázek 33: Grafické znázornění průběhu uvolňování močoviny pro pelety připravované ručně:
6. série – 100% močovina