

# WASTE FORUM



RECENZOVANÝ ČASOPIS PRO VÝSLEDKY VÝZKUMU  
A VÝVOJE PRO ODPADOVÉ HOSPODÁŘSTVÍ

ROČNÍK 2013

číslo 1  
strana 1 – 46

## **Patron čísla**

**8. ročník česko-slovenského symposia  
Výsledky výzkumu a vývoje pro odpadové hospodářství  
ODPADOVÉ FORUM 2013 (17. – 19. 4. 2013, Kouty nad Desnou)**

## OBSAH

|                                                                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Úvodní slovo šéfredaktora                                                                                                                                           | 3  |
| Pro autory                                                                                                                                                          | 3  |
| <b>Bark as potential source of chemical substances for industry: analysis of content of selected phenolic compounds</b>                                             | 4  |
| Kůra jako potenciální zdroj průmyslově využitelných látek: analýza obsahu vybraných fenolických sloučenin<br><i>Petr MARŠÍK, Jan KOTYZA, Jan REZEK, Tomáš VANĚK</i> |    |
| <b>Mezofilné a termofilné anaeróbne spracovanie ovocných a zeleninových odpadov</b>                                                                                 | 10 |
| <i>Michal LAZOR, Miroslav HUTŇAN, Nina KOLESÁROVÁ, Anna ORSÁGOVÁ</i>                                                                                                |    |
| <b>Vliv přídavku kompostu na únik minerálního dusíku a produkci biomasy</b>                                                                                         | 20 |
| <i>Lukáš PLOŠEK, Jakub ELBL, Antonín KINTL, Jaroslav ZÁHORA, Jaroslav HYNŠT</i>                                                                                     |    |
| <b>Využití odpadních materiálů pro přípravu brusných nástrojů na bázi anorganických polymerů</b>                                                                    | 29 |
| <i>Ivana PERNÁ, Tomáš HANZLÍČEK</i>                                                                                                                                 |    |
| <b>Produkční proces lipofilních kvasinek v rámci vývoje biologického surfaktantu</b>                                                                                | 37 |
| <i>Kristina TURNVALDOVÁ, Marek ŠÍR, Zuzana HONZAJKOVÁ, Jiří MIKEŠ, Juraj GRÍGEL, Miroslav MINAŘÍK</i>                                                               |    |
| Týden vědy, výzkumu a inovací pro praxi                                                                                                                             | 46 |

**WASTE FORUM** – elektronický recenzovaný časopis pro výsledky výzkumu a vývoje pro odpadové hospodářství  
ISSN: 1804-0195; [www.WasteForum.cz](http://www.WasteForum.cz). Vychází čtvrtletně.

Ročník 2013, číslo 1

Vydavatel: CEMC – České ekologické manažerské centrum, IČO: 45249741, [www.cemc.cz](http://www.cemc.cz)

Adresa redakce: CEMC, ul. 28. pluku 25, 100 00 Praha 10, ČR, fax: +420/274 775 869

Šéfredaktor: Ing. Ondřej Procházka, CSc., tel.: +420/274 784 448, 723 950 237, e-mail: [prochazka@cemc.cz](mailto:prochazka@cemc.cz)

Redakční rada: Prof. Ing. Dagmar Juchelková, Ph.D., prof. Ing. František Kaštánek, CSc., prof. Ing. Mečislav Kuraš, CSc.,  
prof. Ing. Karel Obroučka, CSc., doc. RNDr. Jana Kotovicová, Ph.D., doc. Ing. Vladimír Čablík, CSc.,  
doc. Dr. Ing. Martin Kubal, doc. Ing. Lubomír Růžek, CSc., doc. Ing. Miroslav Škopán, CSc.,  
Ing. Vratislav Bednařík, CSc.

Web-master: Ing. Vladimír Študent

Redakční uzávěrka: 8. 1. 2013. Vychází: 19. 2. 2013

Patronem tohoto čísla je 8. ročník česko-slovenského symposia Výsledky výzkumu a vývoje pro odpadové hospodářství ODPADOVÉ FÓRUM 2013 (17. – 19. 4. 2013, Kouty nad Desnou)



## Úvodní slovo šéfredaktora

**Všechny čtenáře časopisu i autory příspěvků srdečně zveme na Týden vědy, výzkumu a inovací pro praxi, který se koná ve dnech 15. až 19. 4. 2013 v Koutech nad Desnou v Jeseníkách a jehož je WASTE FORUM mediálním partnerem a má osoba programovým garantem.**

**Týden... je zastřešující název pro triuvirát konferencí, mezi které patří v první řadě symposium ODPADOVÉ FÓRUM 2013 a dále chemicko-technologická konference APROCHEM 2013 (15. – 17. 4. 2013) a konference OZE 2013 (17. – 19. 4. 2013).**

**Přestože oficiální termín pro přihlášky účasti již uplynul, stále je možné příspěvky přihlašovat, a to až do naplnění kapacity. Předběžný program symposia ODPADOVÉ FÓRUM 2013 bude**

**vyvěšen na internetu v druhé polovině února a bude postupně aktualizován, jak budou přicházet další příspěvky. Termín pro zaslání textů do sborníku je 15. března. (Více na straně 40.)**

**Autoři článků ve WASTE FORUM (tomto i minulých číslech) mohou na symposium přihlásit příspěvek na stejné téma a naopak přednášející ze symposia smějí (samozřejmě po příslušné úpravě) nabídnout svůj příspěvek do tohoto časopisu.**

**Přihlašovací formuláře a vůbec informace ke všem třem akcím lze najít na internetovém portálu TRETIRUKA.CZ v sekci Konference nebo přímo na adrese [www.tretiruka.cz/konference](http://www.tretiruka.cz/konference). Vzhledem ke společnému organizátorovi se lze při přihlášení se na jednu z těchto konferencí v případě zájmu zúčastnit všech tří akcí.**

**V neposlední řadě je namístě zmínit, že byla vyhlášena významná sleva z konferenčního poplatku pro studenty.**

**Ondřej Procházka**

## Pro autory

České ekologické manažerské centrum (CEMC) na vydávání časopisu WASTE FORUM nedostává žádnou podporu z veřejných zdrojů. Proto je časopis vydáván pouze v elektronické podobě a čísla jsou zveřejňována na volně přístupných internetových stránkách [www.WasteForum.cz](http://www.WasteForum.cz).

Do redakce se příspěvky zasílají v kompletně zalomené podobě i se zabudovanými obrázky a tabulkami, tak zvané „**printer-ready**“. Pokyny k obsahovému členění a grafické úpravě příspěvků spolu s přímo použitelnou **šablonou grafické úpravy** ve WORDu jsou uvedeny na www-stránkách časopisu v sekci **Pro autory**. Ve snaze dále rozšiřovat okruh možných recenzentů žádáme autory, aby současně s příspěvkem napsali tři tipy na možné recenzenty, samozřejmě z jiných pracovišť než je autor či spoluautoři. Je vždy dobré mít rezervu.

Publikační jazyk je čeština, slovenština a angličtina, přičemž ve snaze, aby se časopis WASTE FORUM dostal do mezinárodních databází vědeckých časopisů, což je nezbytný předpoklad, aby mohl získat časem i impakt-faktor, je upřednostňována angličtina. V tomto případě však je nezbytnou součástí článku na konci název, kontakty a abstrakt v českém či slovenském jazyce, přičemž rozsah souhrnu není shora nijak omezen. U článků v českém či slovenském jazyce je samozřejmou součástí název, kontakty a souhrn v anglickém jazyce.

Uveřejnění příspěvků v časopisu WASTE FORUM je v zásadě bezplatné. Nicméně abychom příjmově pokryli alespoň nezbytné externí náklady spojené s vydáváním časopisu (poplatky za webhosting, softwarová podpora atd.), vybíráme symbolický poplatek za uveřejnění poděkování grantové agentuře či konstatování, že článek vznikl v rámci řešení určitého projektu. Tento poplatek činí 200 Kč za každou stránku u příspěvků v anglickém jazyce, u ostatních je 500 Kč za stránku.

**Uzávěrka dalšího čísla časopisu WASTE FORUM je 8. dubna 2013, dalších pak 8. července a 8. října.**

# Bark as potential source of chemical substances for industry: analysis of content of selected phenolic compounds

**Petr MARŠÍK, Jan KOTYZA, Jan REZEK, Tomáš VANĚK**

Laboratory of plant biotechnology, Institute of Experimental Botany AS CR, Rozvojová 263, 165 02, Prague 6 – Lysolaje

e-mail: [marsik@ueb.cas.cz](mailto:marsik@ueb.cas.cz), [kotyzaj@vscht.cz](mailto:kotyzaj@vscht.cz), [rezek@ueb.cas.cz](mailto:rezek@ueb.cas.cz),  
[vanek@ueb.cas.cz](mailto:vanek@ueb.cas.cz)

## Summary

*The bark of coniferous trees constitutes a considerable amounts of residue biomass generated during wood processing. The bark biomass is then partly used as a fuel (pellets), burned in furnace or recycled as mulching material. Despite its usage as an energy source, the bark also represents significant source of various chemical substances, which can be utilized by chemical, pharmaceutical or food industry and could add value to current utilization of this by-product. In our study, we monitored concentration of phenolic acids, selected flavonoids and maltol in water and methanolic extracts from young bark of two economically important coniferous trees harvested in Czech Republic: larch (*Larix decidua*) and scots pine (*Pinus silvestris*). The analysis of the extracts prepared by simple and inexpensive method confirmed the presence of several chemical compounds of industrial importance.*

**Keywords:** bark, extraction, phenolic compounds, maltol, larch, scots pine

## Introduction

By-products of wood processing such as bark or sawdust are usually utilized as a source of energy by combustion<sup>1</sup>, production of biofuel pellets<sup>2</sup> and raw material for mulch products<sup>3</sup>. Tree bark, which constitutes about 8 – 20 % of dry weight of stem wood in dependence on tree species<sup>3</sup>, could be also resource of number of chemicals potentially utilizable as pharmaceuticals, food additives and precursors for synthesis in chemical and cosmetic industry. In the recent time, the bark of economically important trees is intensively investigated for their utilization for these purposes.<sup>4, 5</sup> There are many publications focused on composition and biological activities of the extracts.<sup>6</sup> Number of them is devoted to anti-oxidative properties caused by high amount of phenolic compounds in bark, which are easily extracted with simple and cost-saving methods.<sup>6,7,8</sup> Several products (pine bark extract Pycnogenol, Wellness Larch Extract etc.) based on the bark extract of industrially exploited trees have been patented.<sup>9</sup>

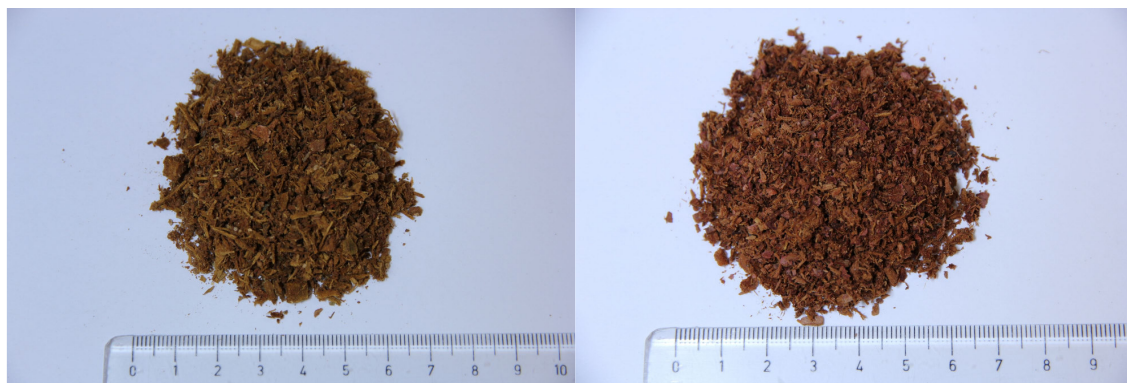
Scots pine and larch are important wood species from the economic point of view in the Czech Republic. Representatives of the both genera contain a wide scale of metabolites which have a potential of further applications in medicine, food and chemical industry such as antioxidants (predominantly phenolics), fragrant and flavoring compounds and immunostimulants (arabinogalactans).<sup>10,11</sup>

In our work, we focused on analysis of chemical compounds contained in by-products of wood manufacturing. Maceration extract of milled young bark of scots pine and larch was evaluated for content of extractable small phenolic molecules (phenolic acids, flavonoids) and maltol. Two common polar solvents, water and methanol were used for the extraction.

## Experimental part

Barks of 20 individual trees (10 larch trees and 10 scots pine trees) were explored in the study. Plant material (bark) was collected in several regions of central, southern and western Bohemia to involve biological and climatic variability of harvested trees.

**Picture 1: Grinded bark of *Pinus silvestris* (A) and *Larix decidua* (B) samples prepared for extraction**



**A: scots pine bark**

**B: larch bark**

Fresh bark (about a half kilogram) was taken from upper part of the trunk and branches of harvested trees, finely grinded using laboratory mill (see picture 1) and extracted (20 g) with deionized water or methanol (200 mL) by maceration for 24 hours on shaker. Filtered extracts were purified prior a HPLC analysis: water extract was acidified and subsequently extracted two times with aliquot of diethylether, organic fraction was evaporated and redissolved in mobile phase for analysis; methanolic extract was evaporated under vacuum, dissolved in deionized water, acidified and further purified like previous.

Purified samples were analyzed using HPLC with DAD detection with gradient elution (water:acetonitrile solvent system). Separation was performed on column Luna PFP, 250x4.6 mm, 5  $\mu$ m (Phenomenex, USA) tempered at 33 °C. Flow of the mobile phase was 1 mL/min.

Compounds were routinely identified by comparison of their UV absorption spectra and retention times with commercial standards. 5-fluorosalicyl acid was used as an internal standard. Identity of analyzed compounds was confirmed using LC/MS/MS Q-Trap system at the same chromatographic conditions and GC/MS<sup>n</sup> (maltol). Standards of all measured compounds were obtained from Sigma-Aldrich (Czech Republic) in analytical purity.

Content of moisture in bark material was computed as difference between weight of fresh and lyophilized grinded bark.

ANOVA with post-hoc Tukey test ( $p=0.05$ ) was used for statistical evaluation of differences in yields of compounds in water and methanolic extract.

## Results and Discussion

To avoid excessive economic costs during bark processing in real conditions only low cost solvents (water, methanol) were tested in our experiment. For the same reason, the unnecessary steps in treatment of the crude material (sorting, drying) were omitted. Nevertheless, for the manipulation with biomass and for the extraction process the content of moisture in fresh material is important. Water ratio in fresh samples is shown in **table 1**.

**Table 1: Percentage of moisture in young tree bark from branches and upper part of trunk of larch and scots pine**

| species                 | average [%] | STD |
|-------------------------|-------------|-----|
| <i>Pinus silvestris</i> | 25.3        | 7.7 |
| <i>Larix decidua</i>    | 19.4        | 2.6 |

STD – standard deviation



The content of extractable phenolic acids and other selected compounds is shown in **tables 2 and 3**. The larch bark was found to be a better source of the all measured compounds in comparison with the scots pine. All 13 monitored chemical compounds were identified in the larch bark samples in measurable concentration, whereas pine bark contained only some of them in several times lower concentrations than larch samples.

**Table 2: Content of phenolic acids, flavonoids and maltol in extracts of young bark of larch (*Larix decidua*) expressed as mg/kg of fresh weight**

| compound                | water              |     | MeOH               |     |
|-------------------------|--------------------|-----|--------------------|-----|
|                         | average<br>[mg/kg] | STD | average<br>[mg/kg] | STD |
| <b>phenolic acids</b>   |                    |     |                    |     |
| 3,4-dihydroxybenzoic a. | 65                 | 5   | 49                 | 8   |
| 4-hydroxybenzoic a.     | 81                 | 32  | 76                 | 27  |
| anisic a.               | tr.                | -   | 1                  | 0.4 |
| caffeic a.              | 4                  | 0.3 | 4                  | 0.3 |
| cinnamic a.             | tr.                | -   | tr.                | -   |
| ferulic a.              | 90                 | 8   | 101                | 12  |
| gallic a.               | 11                 | 8   | 18                 | 17  |
| syringic a.             | 13                 | 1   | 12                 | 3   |
| vanillic a.             | 50                 | 8   | 52                 | 4   |
| <b>other compounds</b>  |                    |     |                    |     |
| catechin                | 1083               | 597 | 866                | 605 |
| kaempferol              | tr.                | -   | tr.                | -   |
| quercetin               | tr.                | -   | tr.                | -   |
| maltol                  | 1427               | 68  | 1447               | 250 |

*tr.* – compound found only in traces

*STD* – standard deviation

Concentrations of most of monitored compounds did not strongly differ in water and methanolic extracts and statistical analysis did not confirm any significant differences (except 3,4-dihydroxybenzoic acid in larch samples). Nevertheless, the average concentrations of majority of substances were slightly higher in methanolic extracts.

**Maltol** was the most abundant chemical compound among monitored substances.<sup>12</sup> It occurred only in both larch extracts, where the amount of maltol reached almost 1.5 g per kg of fresh weight of grinded bark (table 2). After evaporation of purified extract (diethylether solution), the white needle-shape crystals of pure maltol used to be obtained. Due to the economical importance of maltol, several large scale extraction methods from plant material have been patented. Maltol is economically important compound widely used in medicinal, cosmetic and food industry. It is known food additive (E 636) with caramel odor commercially used previously as a flavor enhancer. It is also precursor for synthesis of other chemicals (e.g. food additive E 637 ethyl maltol).

**Table 3: Content of phenolic acids, flavonoids and maltol in extracts of young bark of scots pine (*Pinus silvestris*) expressed as mg/kg of fresh weight**

| compound                | water              |     | MeOH               |     |
|-------------------------|--------------------|-----|--------------------|-----|
|                         | average<br>[mg/kg] | STD | average<br>[mg/kg] | STD |
| <b>phenolic acids</b>   |                    |     |                    |     |
| 3,4-dihydroxybenzoic a. | 4                  | 1   | 4                  | 1   |
| 4-hydroxybenzoic a.     | 17                 | 13  | 11                 | 5   |
| anisic a.               | 0                  | 0   | tr.                | -   |
| caffeic a.              | 0                  | 0   | 0                  | 0   |
| cinnamic a.             | 0                  | 0   | 0                  | 0   |
| ferulic a.              | 6                  | 2   | 6                  | 2   |
| gallic a.               | tr.                | -   | tr.                | -   |
| syringic a.             | 1                  | 0.4 | 1                  | 0.7 |
| vanillic a.             | 26                 | 2   | 26                 | 2   |
| <b>other compounds</b>  |                    |     |                    |     |
| catechin                | 0                  | 0   | 0                  | 0   |
| kaempferol              | 0                  | 0   | tr.                | -   |
| quercetin               | 0                  | 0   | tr.                | -   |
| maltol                  | 0                  | 0   | 0                  | 0   |

tr. – compound found only in traces

STD – standard deviation

Biologically active flavanol **catechin** is naturally found in cocoa and tea.<sup>13</sup> Catechin was also found in larch bark samples in high concentrations reaching values of 1 g/kg fresh biomass. However, the content of catechin varied strongly among particular tree samples in our experiment (relative deviation about 70 %), which makes its extraction from this kind of material not very reliable and promising. Generally, the amount of anti-oxidative phenolic compounds is strongly dependent on material processing, thus the catechin yield could be affected by the modification of extraction method.<sup>14</sup>

**Ferulic acid** was the prevalent phenolic acid in larch bark. Concentration of this compound varied between 0.08 and 0.1 g/kg fresh weight. It is used as a main component of matrice in MALDI spectroscopic analysis and precursor for synthesis of other phenolic compounds.

**4-hydroxybenzoic acid** is used as antioxidant and also as crucial precursor for preparation of parabenes, widely used in cosmetic and pharmaceutical industry as a fungicides and bactericides. It was present in concentrations about 0.08 g/kg in the larch samples, its concentration in pine bark extracts was significantly lower, so profitability of its commercial extraction is questionable.

Further more abundant phenolic acids as **vanillic** and **3,4-dihydroxybenzoic acid** possess antioxidative properties, but usually they are used as precursors for further chemical syntheses.

Other compounds investigated in this work were present only in low concentrations or in traces, thus their exploitation from extracts prepared by the tested methods is not efficient.

## Conclusions

Content of extractable phenolic acids, flavonoids and maltol was analyzed in water and methanolic bark extracts of two economically important tree species – scots pine and larch. Extract of fresh samples collected in several localities of Czech Republic were prepared by simple maceration to simulate the processing with minimized input costs.

Larch bark was found to be better source of all measured extractives. It contains higher number of detected compounds, some of them in rather high concentrations (maltol, catechin), whereas concentrations of all found compounds (with exception of quercetin) in pine bark extracts were several times lower. There were no significant differences between water and methanolic extract; hence water seems to be more profitable for large scale processing due to its low input cost.

The most abundant compound was maltol (1.4 g/kg), which is widely used flavoring substance in food and cosmetic industry (E 636). Biologically active compound catechin was also found in rather high concentrations (about 1 g/kg), however, its content strongly varied among individual samples. Besides of mentioned compounds, only four phenolic acids reached concentrations higher than 50 mg per kg of fresh weight. All other analyzed compounds were not found in significant amounts.

## Acknowledgements

This work was supported by project of Ministry of Education, Youth and Sports CR No. OC10026 named "Biorafinerie jako zdroj 'green chemicals'".

## References

1. Ohecová, P., Tlustoš, P., Száková, J., Perná I., Hanzlíček T., Habart J.: Monitoring kvality popelů ze spalování biomasy (1. část – živiny). *Waste Forum* 4, 204 – 209 (2012) – in Czech
2. Samuelsson, R., Thyrell, M., Sjöström M., Lestander, L.A.: Effect of biomaterial characteristics on pelletizing properties and biofuel pellet quality. *Fuel Process Technol.* 90, 1129 – 1134 (2009)
3. So, C.L., Eberhardt, T.L.: Rapid analysis of inner and outer bark composition of Southern Yellow Pine bark from industrial sources. *Holz als Roh- und Werkstoff* 64: 463 – 467 (2006)
4. Yesil-Celiktas, O., Ganzera, M., Akgun, I., Sevimli, C., Korkmaza K.S., Bedira E.: Determination of polyphenolic constituents and biological activities of bark extracts from different Pinus species. *J. Sci. Food Agric.* 89, 1339–1345 (2009)
5. Aspe, E., Fernandez, K.: Comparison of phenolic extracts obtained of *Pinus radiata* bark from pulp and paper industry and sawmill industry. *Maderas. Ciencia y tecnología* 13, 243 – 252 (2011)
6. Bocalandro, C., Sanhueza, V., Gómez-Caravaca A-M., González-Álvarez, J., Fernández, K., Roeckel, M., Rodríguez-Estrada, M.T.: Comparison of the composition of *Pinus radiata* bark extracts obtained at bench- and pilot-scales. *Ind. Crop. Prod.* 38, 21 – 26 (2012)
7. Ivanova, S.Z., Gorshkov, A.G., Kuzmin, A.V., Gordienko, I.I., Babkin, V.A.: Phenolic Compounds of Siberian and Dahurian Larch Phloem. *Russ. J. Bioorg. Chem.* 38, 769 – 774 (2012)
8. Diouf, P.N., Stevanovic, T., Cloutier A.: Study on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Picea mariana* bark and its proanthocyanidin-rich fractions. *Food Chem.* 113, 897 – 902 (2009)
9. Ustun, O , Senol, FS , Kurkcuglu, M, Orhan, IE , Kartal, M , Baser, KHC. Investigation on chemical composition, anticholinesterase and antioxidant activities of extracts and essential oils of Turkish Pinus species and pycnogenol. *Ind. Crop Prod.* 38, 115 – 123 (2012)
10. Penas, D.V., Yusty, M.A.L., Linares, J.C.P.: Chemical-biotechnological processing of pine bark. *J. Chem. Technol. Biot.* 54, 63 – 74 (1992)
11. Udani, J.K., Singh, B.B., Barrett, M.L., Singh, V.J.: Proprietary arabinogalactan extract increases antibody response to the pneumonia vaccine: a randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot study in healthy volunteers. *Nutr. J.* 9, doi:10.1186/1475-2891-9-32 (2010)
12. Leblanc, D.T., Akers, H.A.: Maltol and ethyl maltol – from the larch tree to successful food additive. *Food Technol.* 43, 78 (1989)



13. Magi, E., Bono, L., Di Carro, M.: Characterization of cocoa liquors by GC-MS and LC-MS/MS: focus on alkylpyrazines and flavanols. *J. Mass Spectrom.* 47, 1191 – 1197 (2012)

14. Abbes, F., Kchaou, W., Blecker, C., Ongena, M., Lognay, G., Attia, H., Besbes, S.: Effect of processing conditions on phenolic compounds and antioxidant properties of date syrup. *Ind. Crop Prod.* (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.09.008>

## **Kůra jako potenciální zdroj průmyslově využitelných látek: analýza obsahu vybraných fenolických sloučenin**

**Petr MARŠÍK, Jan KOTYZA, Jan REZEK, Tomáš VANĚK**

Laboratoř rostlinných biotechnologií, Ústav experimentální botaniky AV ČR, Rozvojová 263, 165 02 Praha 6 – Lysolaje

e-mail: [marsik@ueb.cas.cz](mailto:marsik@ueb.cas.cz), [kotyzaj@vscht.cz](mailto:kotyzaj@vscht.cz), [rezek@ueb.cas.cz](mailto:rezek@ueb.cas.cz), [vanek@ueb.cas.cz](mailto:vanek@ueb.cas.cz)

### **Souhrn**

Kůra jehličnatých stromů tvoří značnou část odpadní biomasy vznikající při zpracování dřevní hmoty. Tato biomasa je částečně využita jako palivo (ve formě pelet) či přímo jako zdroj energie ve spalovnách, nebo je recyklována při výrobě mulčovacích materiálů. Nehledě na její využití jako energetického zdroje, představuje kůra významný potenciální zdroj různých chemických látek využitelných v chemickém, farmaceutickém a potravinářském průmyslu, což by mohlo zvýšit přidanou hodnotu tohoto vedlejšího produktu. V rámci této studie jsme sledovali koncentraci fenolických kyselin, vybraných flavonoidů a maltolu ve vodném a methanolovém extraktu mladé kůry dvou ekonomicky významných druhů jehličnanů těžených v České republice: modřínu opadavého (*Larix decidua*) a borovice lesní (*Pinus silvestris*). Analýzami obou extraktů připravených jednoduchým a finančně nenáročným postupem byla potvrzena přítomnost průmyslově využitelných látek v tomto materiálu.

**Klíčová slova:** kůra, extrakce, fenolické sloučeniny, maltol, modřín, borovice

## Mezofilné a termofilné anaeróbne spracovanie ovocných a zeleninových odpadov

Michal LAZOR<sup>a</sup>, Miroslav HUTŇAN<sup>a</sup>, Nina KOLESÁROVÁ<sup>a</sup>,  
Anna ORSÁGOVÁ<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Oddelenie environmentálneho inžinierstva,

<sup>b</sup> Oddelenie chemickej technológie dreva, celulózy a papiera,  
Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Radlinského 9, 812 37 Bratislava,  
Slovenská republika  
e-mail: miroslav.hutnan@stuba.sk

### Súhrn

Podstatnú časť biologicky rozložiteľných komunálnych odpadov (BRKO) tvoria ovocné a zeleninové odpady (OZO) a práve tieto druhy odpadov sa najviac podieľajú na tvorbe problematických skládkových plynov. Ich likvidácia skládkovaním je nielen nebezpečná, ale aj neúčelná, nakoľko v sebe obsahujú pomerne vysoké množstvo organických látok, ktoré by bolo možné efektívne využiť napr. anaeróbnym spracovaním. Ovocné a zeleninové odpady sú charakterizované vysokou stratou žíhaním alebo organickou sušinou (OS) a vysokým obsahom ľahko a rýchlo biologicky rozložiteľných zlúčenín (najmä sacharidov). To z nich robí ideálny substrát pre bioplynové stanice. Na druhej strane, pomer organického uhlíka k dusíku v týchto materiáloch (C:N), čo je kľúčový parameter vplyvajúci na stabilitu rozkladného procesu, je v porovnaní so všeobecne uznávanou optimálnou hodnotou 20 – 40 pomerne vysoký (cca 60). Taký vysoký pomer môže pri anaeróbnom rozklade spôsobiť akumuláciu nižších mastných kyselín (NMK) a následnú inhibíciu resp. kolaps anaeróbného procesu. V tejto práci sa skúmal vplyv teploty na anaeróbný rozklad ovocných a zeleninových odpadov počas 145 dní experimentu. Tento vplyv sa sledoval v dvoch semikontinuálnych zmiešavacích reaktoroch s objemom 1,8 l pri dvoch rôznych teplotách, v mezofilnej (37 °C) a termofilnej (55 °C) oblasti. Vyššie hodnoty najdôležitejších sledovaných parametrov (organické zaťaženie –  $B_v$ , špecifická produkcia bioplynu –  $Q_{spec}$ ) boli dosiahnuté v termofilnom reaktore (4,0 vs. 3,0 kg<sub>OS</sub> m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>, 670 vs. 592 l<sub>BP</sub> kg<sub>OS</sub><sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>), čím sa dokázal pozitívny vplyv vyššej teploty na anaeróbne spracovanie ovocných a zeleninových odpadov. Priemerný obsah metánu v produkovanom bioplyne u oboch študovaných systémov bol približne rovnaký a pohyboval sa na úrovni okolo 55 % hmot.

**Kľúčové slová:** bioplyn, mezofilný a termofilný proces, ovocné a zeleninové odpady

### Úvod

Ovocné a zeleninové odpady (OZO) z domácnosti, obchodných centier, trhovísk a iných zdrojov sú významnou zložkou biologicky rozložiteľných komunálnych odpadov. Podieľajú sa veľkou mierou na tvorbe bioplynu na komunálnych skládkach<sup>1</sup>. Štandardne sa tieto druhy odpadov likvidujú spaľovaním, resp. sa materiálovo zhodnocujú aeróbnym spracovaním – kompostovaním. Efektívnou alternatívou ich spracovania je ich zhodnotenie anaeróbnou fermentáciou<sup>2</sup>, výsledkom čoho je bioplyn vhodný na následné energetické využitie<sup>4</sup>. Druhým cenným produktom anaeróbného spracovania ovocných a zeleninových odpadov je fermentačný zvyšok, ktorý po menšej úprave môže byť použitý ako vynikajúce hnojivo pre poľnohospodárske pôdy<sup>3</sup>. Úspešná aplikácia anaeróbnej fermentácie na tieto druhy biologicky rozložiteľných odpadov značne závisí od vývoja a použitia vysokozaťažovaných anaeróbných reaktorov<sup>6,7</sup>. Ovocné a zeleninové odpady sú charakterizované vysokým obsahom vlhkosti (nad 80 %), vysokou stratou žíhaním (SŽ > 95 %) a ľahkou biologickou rozložiteľnosťou<sup>8</sup>. Pred vlastným anaeróbnym spracovaním je potrebná ich predúprava, najmä zníženie veľkosti častíc mletím, teplotné predspracovanie<sup>4</sup> a často aj zriedenie<sup>8</sup>. Gunaseelan<sup>9,10</sup> vo svojich rozsiahlych prácach, v ktorých sa venoval metánovým výťažkom z rôznych druhov biomasy (odpadovej i cielene pestovanej) dospel k záveru, že špecifické metánové výťažky z ovocných a zeleninových odpadov sú veľmi podobné tým

z anaeróbného spracovania biologicky rozložiteľných komunálnych odpadov. Anaeróbna fermentácia zeleninových a ovocných odpadov je však spojená s istými problémami a obmedzeniami.

Organická sušina v týchto substrátoch obsahuje priemerne 75 % cukrov a hemicelulózu, 9 % celulózu a 5 % lignínu<sup>8</sup>. Ako je známe, zvýšenie rýchlosti a hĺbky hydrolýzy, najmä u partikulárnych (heterogénnych) substrátov, je možné dosiahnuť zvýšením teploty anaeróbnej fermentácie. Napríklad rýchlosť hydrolýzy celulózy je v termofilnej oblasti 5 – 6krát vyššia ako v mezofilnej<sup>11</sup>. Všeobecne sa uznáva, že rýchlosť určujúcim krokom, t.j. najpomalším krokom v anaeróbnom rozklade partikulárnych organických materiálov, je hydrolýza<sup>12</sup>.

V prípade organických substrátov s nízkym obsahom pomaly hydrolyzujúcich látok (napr. celulóza), akými ovocné a zeleninové odpady sú, je však rýchlosť určujúcim stupňom poväčšine metanogenéza<sup>13</sup>. To znamená, že častým dôvodom inhibície, či dokonca kolapsu anaeróbnej fermentácie OZO, je nedostatočná metabolická rýchlosť acetogénnych a metanogénnych baktérii pri rozklade naakumulovaných nižších mastných kyselín, čím dochádza k prudkému poklesu pH a poklesu produkcie bioplynu. Platí to najmä pre mezofilné metánové baktérie.

Termofilné metanogénne baktérie rastú približne 2 – 3krát rýchlejšie<sup>14</sup>, čo umožňuje dosiahnuť vyššie organické zaťaženie. Vplyvu teploty na anaeróbne spracovanie OZO sa venovali vo svojej práci aj Bouallagui<sup>9</sup>. Porovnávali prevádzkové parametre (pH, produkciu bioplynu, jeho zloženie a stupeň degradácie organickej sušiny) v troch teplotných režimoch, v psychrofilnej (20 °C), mezofilnej (35 °C) a termofilnej (55 °C) oblasti, pričom obsah celkovej sušiny vo vstupujúcom substráte bol 4, 6, 8 a 10 %. Hydraulická zdržná doba sa menila v rozsahu 10 – 20 dní. Produkcia bioplynu v termofilnom reaktore pri zdržnej dobe 20 dní bola vyššia priemerne o 41 % v porovnaní s mezofilným a priemerne o 144 % so psychrofilným. Rovnako bol v termofilnom reaktore zaznamenaný aj najvyšší stupeň odstránenia organickej sušiny (87 %), v mezofilnom (76 %) a psychrofilnom (66 %). Pri zdržnej dobe 10 dní, mezofilný a psychrofilný systém pracovali iba prvý týždeň, zatiaľ čo termofilný systém pracoval dlhodobo stabilne.

Na základe predchádzajúcich úvah a spomenutých prác sa dá predpokladať, že aplikácia mezofilného režimu v anaeróbnom spracovaní OZO môže viesť k postupnému kolapsu rozkladného procesu kvôli akumulácii nižších mastných kyselín. Dôvodom je nízky obsah dusíka v týchto druhoch odpadov, čo vedie k nedostatočnej (amoniakálnej) tlmivej kapacite systému. Riešením môže byť prídavok organického substrátu s vysokým obsahom dusíka (kofermentácia), čím sa optimalizuje pomer C:N a zvyšuje tlmivá kapacita systému<sup>15</sup> (Garcia-Pena, 2011). Druhou možnosťou ako sa vyhnúť problémom anaeróbného rozkladu OZO v mezofilných podmienkach bez použitia externého vysokodusíkatého substrátu je prídavok bázických činidiel (NaOH, NaHCO<sub>3</sub>), avšak aj po ich aplikácii bolo zaznamenané maximálne organické zaťaženie približne 3 kg<sub>OS</sub> m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup><sup>16</sup>. Hlavným cieľom tejto prezentovanej práce bolo porovnanie anaeróbného rozkladu ovocných a zeleninových odpadov ako súčasti BRKO, v mezofilných a termofilných podmienkach

## Experimentálna časť

Ovocné a zeleninové odpady z domácnosti použité v tejto práci pozostávali zo zeleninových a ovocných šupiek resp. odšťavenej drene z odšťavovača. Pred samotným anaeróbnym spracovaním boli pomixované a zanalyzované (CS, OS, CHSK a elementárna analýza, **tabuľka 1**). Na základe obsahu organickej sušiny a hodnoty aktuálneho organického zaťaženia boli tieto pomixované odpady navážené a naporcované do mikroténových vrecúšok a následne uložené v mrazničke pri teplote -18 °C. Pred každým nadávkovaním do reaktora bol pripravený substrát rozmrazený a ohriaty na laboratórnu teplotu (cca 20 – 25 °C). Samotná semikontinuálna mezofilná a termofilná anaeróbna fermentácia ovocných a zeleninových odpadov sa uskutočnila v 1,8l zmiešavacích reaktoroch s efektívnym objemom (objem kalu) 1,5 l. Práve na tento objem, čiže na objem kalovej zmesi bolo vzťahované organické zaťaženie. Miešanie reaktorov bolo nepretržité-kontinuálne, avšak pri minimálnych možných otáčkach (do 60 min<sup>-1</sup>). Ako inokulum, mezofilné aj termofilné, bol použitý anaeróbne stabilizovaný kal z anaeróbného spracovania zmesi surového čistiarenskeho kalu a jedálenského odpadu (zvyšky jedál) (**tabuľka 2**). Dávkovanie substrátov do reaktorov bolo raz denne. Produkcia bioplynu (vzťahnutá na štandardné podmienky, t.j. 25 °C a 101 325 Pa, vlhký bioplyn) a hodnota pH v kalovej zmesi boli zaznamenávané, resp. merané každodenne, hodnoty ostatných parametrov – CS, OS, CHSK, NMK

a  $\text{NH}_4\text{-N}$  raz do týždňa. Zloženie bioplynu sa určovalo mobilným plynovým analyzátorom GA 2000 Plus firmy Geotechnical Instruments, UK.

**Tabuľka 1: Základné charakteristické parametre OZO**

| Substrát | CHSK <sub>spec</sub> [g g <sub>CS</sub> <sup>-1</sup> ] | CS [%] | OS [%] | C:N |
|----------|---------------------------------------------------------|--------|--------|-----|
| OZO      | 1,16                                                    | 15,4   | 14,8   | 60  |

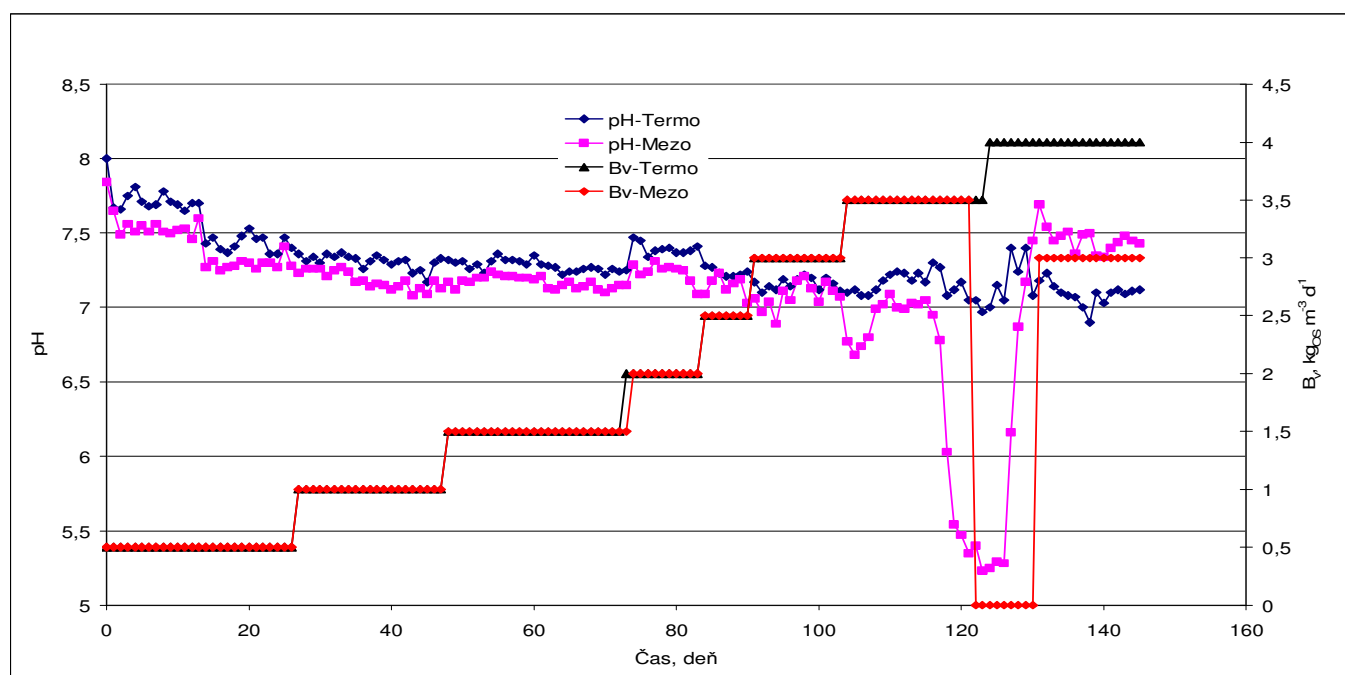
**Tabuľka 2: Charakteristika použitého mezofilného (M) a termofilného (T) inokula<sup>17</sup>**

|                  | pH   | CS [g l <sup>-1</sup> ] | OS [g l <sup>-1</sup> ] | CHSK [mg l <sup>-1</sup> ] | NMK [mg l <sup>-1</sup> ] | NH <sub>3,TAN</sub> [mg l <sup>-1</sup> ] |
|------------------|------|-------------------------|-------------------------|----------------------------|---------------------------|-------------------------------------------|
| Mezo – inokulum  | 7,84 | 20,1                    | 12,3                    | 610                        | 256                       | 1210                                      |
| Termo – inokulum | 8,00 | 17                      | 10,3                    | 547                        | 234                       | 1091                                      |

Obsah uhlíka a dusíka v použitých ovocných a zeleninových odpadoch bol meraný na elementárnom analyzátoe vario MACRO cube (firmy ELEMENTAR, Germany), ktorý ako nosný plyn používal hélium.

## Výsledky a diskusia

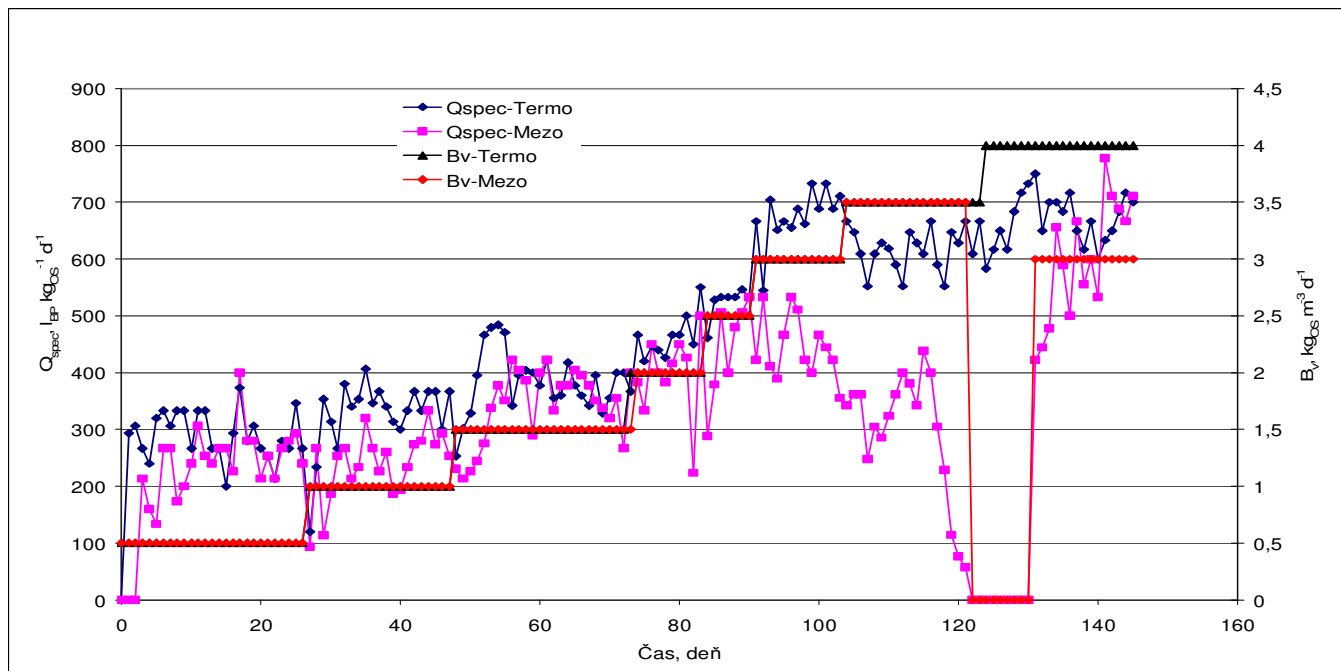
Časový priebeh pH v oboch systémoch, v mezofilnom aj termofilnom, bol až do približne 103. dňa pomerne vyrovnaný, čo mohlo indikovať stabilitu rozkladného procesu (**obrázok 1**). Na konci tohto obdobia bola v oboch reaktorových systémoch hodnota organického zaťaženia  $3 \text{ kg}_{\text{OS}} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ . Hodnoty pH v mezofilnom aj termofilnom reaktore sa pohybovali v intervale 7 – 7,4, čo sú optimálne hodnoty pre činnosti metánových baktérií.



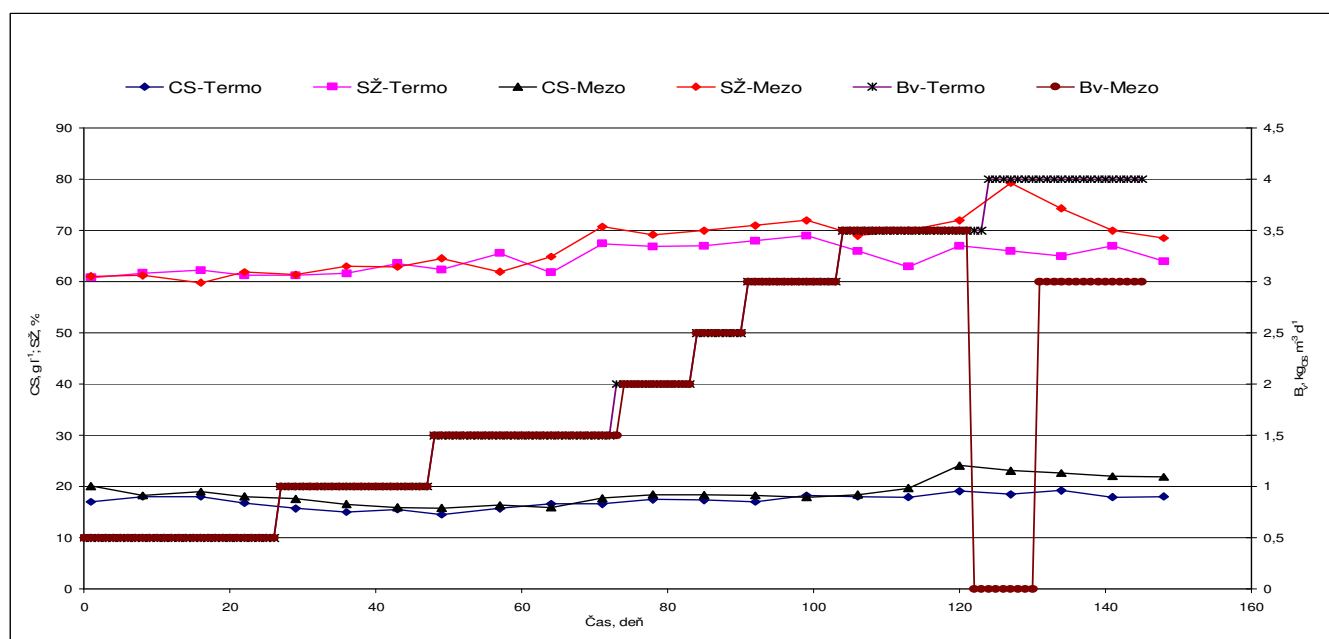
**Obrázok 1: Priebeh pH počas mezofilného a termofilného anaeróbného spracovania OZO**

Postupnú adaptáciu anaeróbnej mikrobiálnej biomasy na rastúce organické zaťaženie v tomto období v oboch študovaných systémoch potvrdila aj špecifická produkcia bioplynu, ktorá pozvoľne stúpala z počiatočných priemerných hodnôt  $220 \text{ l}_{\text{BP}} \text{ kg}_{\text{OS}}^{-1} \text{ d}^{-1}$  až na  $444 \text{ l}_{\text{BP}} \text{ kg}_{\text{OS}}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , čo predstavovalo nárast približne o 100 % v mezofilnom systéme, v termofilnom reaktore bol nárast ešte vyšší, z 280 na  $677 \text{ l}_{\text{BP}} \text{ kg}_{\text{OS}}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , priemerný nárast o 140 %. Z porovnania oboch systémov vyplýva lepšia činnosť termofilnej fermentácie, ktorá sa prejavila vyššou priemernou produkciou bioplynu – o 27 % (**obrázok 2**). Zaujímavé informácie poskytuje priebeh celkovej sušiny a straty žíhaním v kalovej zmesi (**obrázok 3**). Od začiatku až do 103. dňa fermentácie ( $B_v = 0,5 - 3,0 \text{ kg}_{\text{OS}} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ ) bol priebeh koncentrácie celkovej

sušiny v mezofilnom aj termofilnom reaktore takmer identický a v podstate nemenný. Začiatková koncentrácia CS v mezofilnom systéme  $18,9 \text{ g l}^{-1}$  sa menila iba nepatrne a v celom bilancovanom období (do 103. dňa) bola priemerná hodnota CS  $17,8 \text{ g l}^{-1}$ .



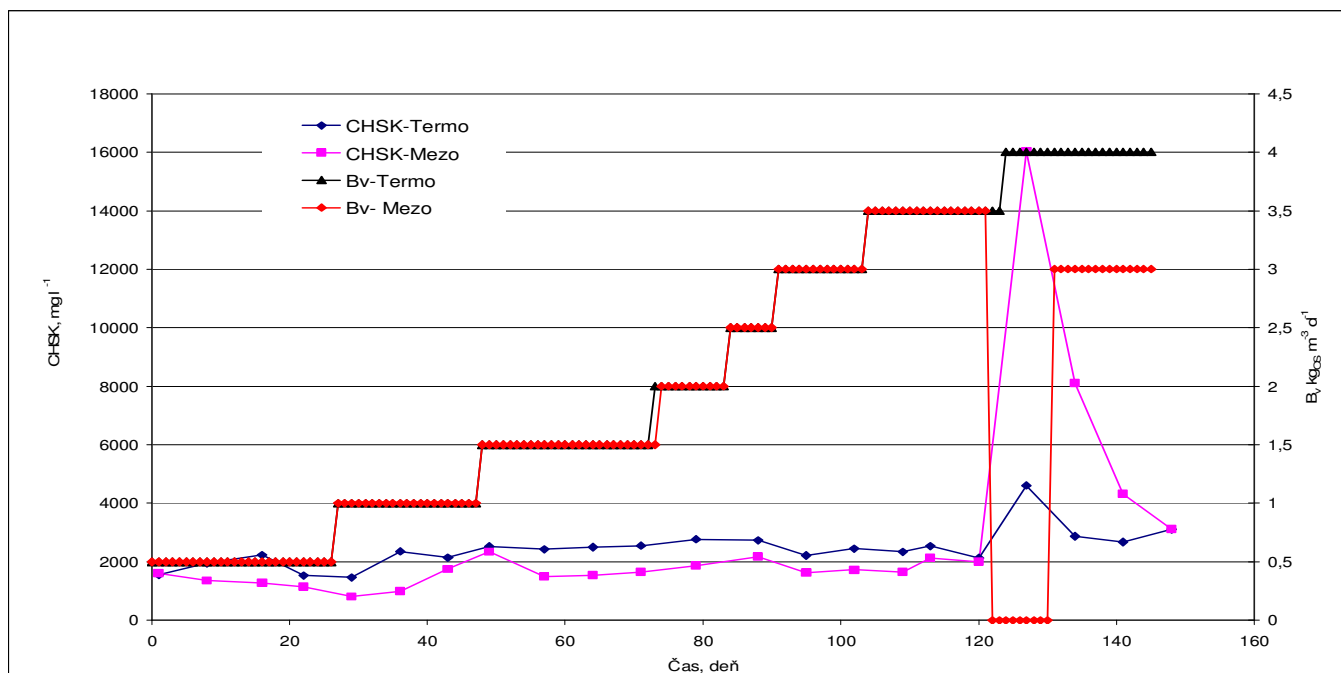
**Obrázok 2: Pribeh špecifickej produkcie bioplynu počas mezofilného a termofilného anaeróbného spracovania OZO**



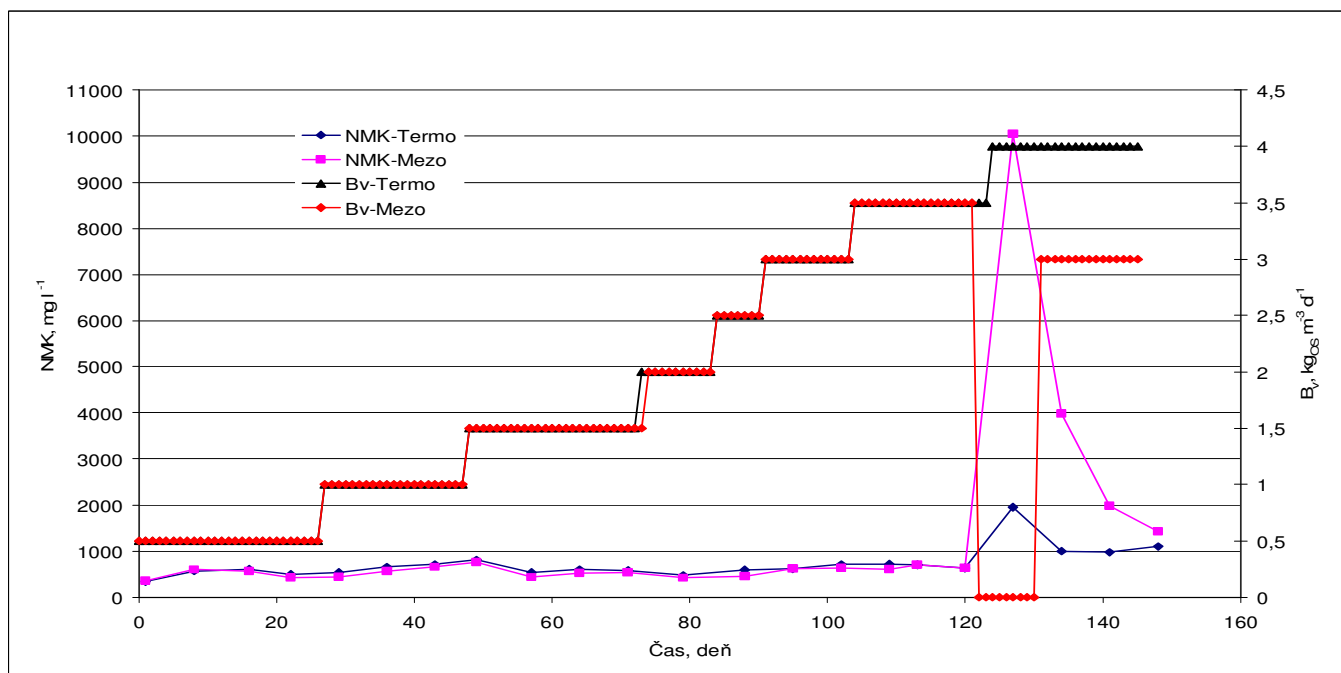
**Obrázok 3: Pribeh celkovej sušiny a straty žíhaním kalovej zmesi počas mezofilného a termofilného anaeróbného spracovania BRKO**

V termofilnom systéme bol priebeh koncentrácie CS ešte vyrovnanejší, začiatková hodnota bola  $17,5 \text{ g l}^{-1}$ , priemerná za sledované obdobie  $16,9 \text{ g l}^{-1}$ . Väčšie rozdiely sú zrejmé z priebehu straty žíhaním v danom časovom období. Zatiaľ čo v mezofilnom reaktore bol nárast tohto parametra približne o 17,5 % ( $60,9 - 71,5 \%$ ), v termofilnom to bolo priemerne iba o 11,4 % ( $61,5 - 68,5 \%$ ). Tento rozdiel vysvetľuje vyššiu špecifickú produkciu bioplynu v termofilnom systéme v porovnaní s mezofilným v danom časovom období (do 103. dňa). Termofilná mikrobiálna biomasa degradovala organické látky

obsiahnuté vo vstupujúcom substráte (ovocné a zeleninové odpady) s vyššou účinnosťou ako mezofilná biomasa, výsledkom čoho bola aj vyššia produkcia bioplynu.



**Obrázok 4: Pribeh CHSK kalovej vody počas mezofilného a termofilného anaeróbného spracovania OZO**



**Obrázok 5: Pribeh NMK v kalovej vode počas mezofilného a termofilného anaeróbného spracovania BRKO**

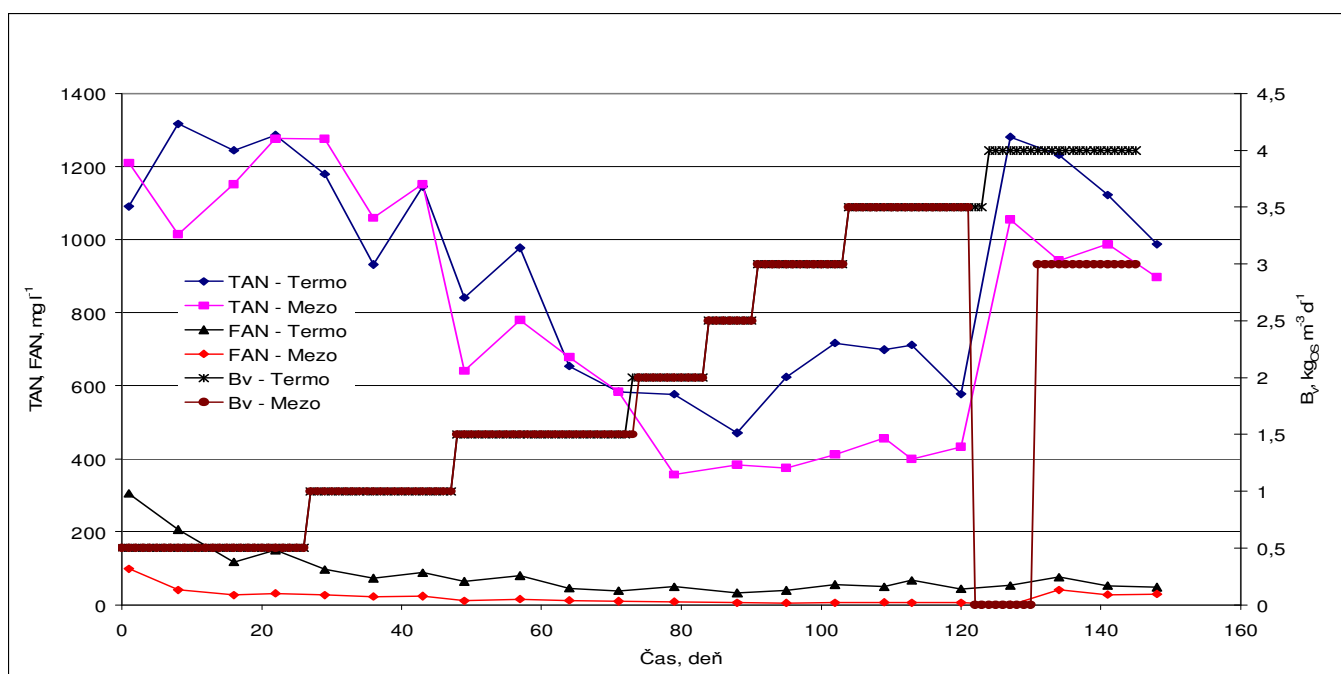
Pribeh hodnôt CHSK a koncentrácií NMK v kalovej vode v oboch reaktoroch (**obrázok 4 a 5**) mal mierne vzrastajúcu tendenciu. Nárast CHSK a NMK v mezofilnom reaktore bol v uvažovanom časovom období (do 103. dňa) približne 24 % (1347 – 1673 mg l<sup>-1</sup>), resp. 32 % (489 – 649 mg l<sup>-1</sup>). V termofilnom reaktore CHSK a NMK v kalovej vode vzrástli priemerne o 29 % (1815 – 2338 mg l<sup>-1</sup>), resp. o 36 % (504 – 686 mg l<sup>-1</sup>). Posledným sledovaným parametrom bol amoniakálny dusík. Ovocné a zeleninové odpady sú substráty s nízkym obsahom dusíka (C:N cca 60). Preto aj množstvo amoniakálneho dusíka, ktoré sa uvoľní pri ich anaeróbnom rozklade je nízke.



To je na jednej strane výhodné, lebo sa tým minimalizuje alebo dokonca eliminuje riziko nebezpečnej amoniakovej inhibície, na druhej strane je amoniak kľúčový pre dobre fungujúci tlmivý kapacitný systém, ktorý reguluje pH a výrazne ovplyvňuje stabilitu anaeróbnych procesov. Na **obrázku 6** je koncentračný priebeh celkového amoniakálneho dusíka-TAN a dusíka voľného amoniaku-FAN (v tejto práci je označenie oboch foriem amoniakálneho dusíka korešpondujúce s anglickým označením, t.j. TAN-total ammonia nitrogen, FAN-free ammonia nitrogen).

V mezofilnom reaktore bol pokles TAN v sledovanom období (do 103. dňa) približne 66 %, v termofilnom reaktore to bolo vyšie 45 %. Tento pokles je len logickým dôsledkom nízkeho obsahu dusíka vo vstupujúcom substráte. Počas daného obdobia prišlo k postupnému spotrebovaniu a vyplaveniu amoniakálneho dusíka, ktorý bol do systému dodaný spolu s kalom na inokuláciu. Zároveň tento takmer 1,5 násobne vyšší úbytok TAN v mezofilnom systéme v porovnaní s termofilným, si možno vysvetliť pravdepodobne rýchlejšou a „hlbšou“ hydrolýzou v termofilnom reaktore, ktorej dôsledkom je rýchlejšia produkcia amoniakálneho dusíka a teda jeho pomalšie odstraňovanie zo systému.

Dôležitá je taktiež informácia o koncentrácii voľného amoniaku, ktorý pôsobí inhibične hlavne na metánové baktérie. Všeobecne sa však uznáva jeho toxický vplyv až nad koncentráciou 200 mg l<sup>-1</sup>. Ako je však vidieť z **obrázku 6**, v uvažovanom období (okrem začiatkových cca 18 dní v termofilnom reaktore) bola jeho koncentrácia v bezpečných úrovniach, t.j. hlboko pod kritických 200 mg l<sup>-1</sup>.



**Obrázok:6 Priebeh celkového a voľného amoniaku v kalovej vode počas mezofilného a termofilného anaeróbneho spracovania OZO**

Prelomový okamih v anaeróbnej fermentácii ovocných a zeleninových odpadov nastal po 104. dni, kedy bolo v oboch reaktoroch zvýšené organické zaťaženie z 3,0 na 3,5 kg<sub>OS</sub> m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>. V mezofilnom reaktore prakticky po 1. dni od zvýšenia zaťaženia došlo k zníženiu pH z hodnoty 7,07 na 6,77, po dvoch dňoch pH pokleslo ešte nižšie, na 6,88, avšak v nasledujúcich dňoch jeho hodnota postupne vzrastala a ustálila sa na približne neutrálnej úrovni t.j. 7,0 (**obrázok 1**).

Táto stabilizácia a vyrovnanie pH však trvala iba krátko (106 – 115. deň), pretože v období medzi 116. a 121. dňom pH prudko pokleslo až hodnotu 5,35, čo bol jasný signál preťaženia anaeróbneho reaktora v mezofilných podmienkach. Tento pokles bol spôsobený akumuláciou NMK (**obrázok 5**), čo sa prejavilo aj prudkým zvýšením hodnôt rozpustenej CHSK, až na cca 15 000 mg l<sup>-1</sup> (**obrázok 4**). Rovnako v tomto období (116. – 121. deň) došlo aj k poklesu špecifickej produkcie bioplynu, z pôvodných 400 na 57 l<sub>BP</sub> kg<sub>OS</sub><sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> (**obrázok 2**). Odstránenie problému, t.j. inhibície metánových baktérií bolo možné riešiť v podstate dvoma cestami. Prvý spôsob by spočíval v prerušení dávkovania čerstvého substrátu, čím by sa naakumulované nižšie masné kyseliny postupne degradovali silne inhibovanými metánovými baktériami, aj keď zníženou rýchlosťou. Avšak pokles pH do kyslej oblasti vytvoril optimálne podmienky

pre hydrolytické a acidifikačné baktérie, čím sa zrýchlila rýchlosť hydrolýzy a acidifikácie ešte nerozloženej organickej sušiny. Preto i napriek prerušenému dávkovaniu OZO do mezofilného reaktora (od 122. dňa) sa koncentrácie NMK aj hodnoty CHSK nielenže neznížili, ale došlo dokonca k ich zvýšeniu. Logicky, hodnoty pH sa udržiavali v kyslých oblastiach.

Preto na odstránenie inhibície spôsobenej akumuláciou NMK, bol aplikovaný druhý spôsob, a to prídavok bázeckého činidla ( $5 \text{ g NaHCO}_3$ ) priamo do reaktora (od 126. dňa) pri zachovaní nulového organického zaťaženia. Po 5dňovej aplikácii  $\text{NaHCO}_3$  (126. – 130. deň) došlo k zvýšeniu pH (z 5,28 na 7,5), k poklesu NMK a teda aj CHSK. Po dosiahnutí neutrálnych hodnôt pH, bol do mezofilného reaktora opäť dávkovaný substrát (od 131. dňa), avšak už pri zníženom organickom zaťažení vzhľadom na obdobie pred 122. dňom –  $3 \text{ kg}_{\text{OS}} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ . Pri tomto zaťažení, avšak už bez prídavku  $\text{NaHCO}_3$ , sa hodnoty pH resp. špecifickej produkcie bioplynu opäť zvýšili a stabilizovali a dosiahli priemerné hodnoty (počas posledných 13 dní fermentácie) 7,46, resp.  $600 \text{ l}_{\text{BP}} \text{ kg}_{\text{OS}}^{-1} \text{ d}^{-1}$ .

Stabilizácia anaeróbného rozkladu OZO v mezofilnom reaktore sa prejavila aj poklesom hodnôt CHSK a NMK, ktoré sa znížili z inhibičných  $16\,000 \text{ mg l}^{-1}$ , resp.  $10\,000 \text{ mg l}^{-1}$  na približne polovičné hodnoty po opätovnom dávkovaní substrátu a znížení organického zaťaženia. Koncentrácia celkového amoniakálneho dusíka sa počas obdobia bez dávkovania substrátu zvýšila z pôvodnej koncentrácie pred inhibíciou –  $432 \text{ mg l}^{-1}$  na  $1055 \text{ mg l}^{-1}$ . Toto zvýšenie je možné vysvetliť pokračujúcou a navyše zrýchlenu hydrolýzou substrátu. Koncentrácia voľného amoniaku, ktorý by mohol mať inhibičné účinky, bola vďaka nízkemu pH hlboko pod kritickou koncentráciou  $200 \text{ mg l}^{-1}$ . Po opätovnom dávkovaní substrátu došlo k opätovnému vymývaniu a spotrebe amoniakálneho dusíka zo systému, čím sa jeho koncentrácia začala postupne znižovať (z  $1055$  na  $897 \text{ mg l}^{-1}$ ). Úplne iná situácia bola v termofilnom reaktore, kde sa hodnoty meraných parametrov významne nezmenili ani po zvýšení organického zaťaženia z 3 na  $3,5 \text{ kg}_{\text{OS}} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  (104. – 123. deň).

Priemerné hodnoty parametrov v termofilnom reaktore počas organického zaťaženia  $3,5 \text{ kg}_{\text{OS}} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  boli nasledovné: pH – 7,15,  $Q_{\text{spec}} - 620 \text{ l}_{\text{BP}} \text{ kg}_{\text{OS}}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , CS –  $18,4 \text{ g l}^{-1}$ , SŽ – 65,3 %, CHSK –  $2340 \text{ mg l}^{-1}$ , NMK –  $686 \text{ mg l}^{-1}$ , TAN –  $663 \text{ mg l}^{-1}$  a FAN –  $54 \text{ mg l}^{-1}$ . Po zvýšení  $B_v$  na  $4,0 \text{ kg}_{\text{OS}} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  (124. – 145. deň) sa hodnoty CHSK, NMK a TAN síce mierne zvýšili, avšak po krátkej dobe, po cca 10 dňoch od zmeny zaťaženia nabral ich trend klesajúci charakter. Pravdepodobne to bolo spôsobené aklimatizáciou metánových baktérií na zvýšené organické zaťaženie, ktorému sa dokázali podľa všetkého úspešne prispôbiť. Hodnoty pH a špecifickej produkcie bioplynu sa výrazne nezmenili, čo je ďalší dôkaz stabilného anaeróbného rozkladu ovocných a zeleninových odpadov v termofilných podmienkach i pri organickom zaťažení  $4,0 \text{ kg}_{\text{OS}} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ . Pokiaľ ide o zloženie bioplynu, t.j. obsahu kľúčovej zložky – metánu, nebol zaznamenaný výrazný rozdiel v jeho hodnotách v oboch študovaných systémoch a pohyboval sa približne na úrovni 55 % hmot.

Porovnanie vybraných parametrov z anaeróbného spracovania ovocných a zeleninových odpadov analyzovaných v tejto práci s inými prácami sú prezentované v **tabuľke 3**.

**Tabuľka 3: Porovnanie vybraných parametrov z anaeróbného spracovania OZO**

| CS <sub>vstup</sub> [%] | t [°C] | HZD [d] | $Q_{\text{spec}}$ [ $\text{l}_{\text{BP}} \text{ kg}_{\text{OS}}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ] | Zdroj      |
|-------------------------|--------|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 4                       | 20     | 20      | 386                                                                                     | 8          |
|                         | 35     |         | 695                                                                                     |            |
|                         | 55     |         | 954                                                                                     |            |
| 6                       | 20     | 20      | 625                                                                                     |            |
|                         | 35     |         | 706                                                                                     |            |
|                         | 55     |         | 997                                                                                     |            |
| 8                       | 35     | 20      | 638                                                                                     |            |
|                         | 55     |         | 841                                                                                     |            |
| 10                      | 35     | 20      | 183                                                                                     |            |
|                         | 55     |         | 734                                                                                     |            |
| 15,4                    | 37     | 42      | 592                                                                                     | Táto práca |
|                         | 55     | 37      | 670                                                                                     |            |

Ako je vidieť z **tabuľky 3**, najvyššia špecifická produkcia z anaeróbného spracovania OZO bola dosiahnutá v práci Bouallaguiho<sup>8</sup>, a to  $997 \text{ l}_{\text{BP}} \text{ kg}_{\text{OS}}^{-1} \text{ d}^{-1}$  pri zdržnej dobe 20 dní, teplote  $55^\circ\text{C}$  a obsahu celkovej sušiny vo vstupujúcom substráte 6 %. V tejto práci to bolo  $670 \text{ l}_{\text{BP}} \text{ kg}_{\text{OS}}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , pri zdržnej dobe 37 dní a obsahu 15,4 % obsahu CS vo vstupujúcom substráte. V oboch prípadoch to bolo dosiahnuté v termofilnom prevedení rozkladného procesu. Vyššiu špecifickú produkciu bioplynu v štúdiu Bouallaguiho<sup>8</sup> oproti tejto práci si s najväčšou pravdepodobnosťou možno vysvetliť lepším C:N pomerom v OZO (cca 25 oproti 60) a teda lepšou tlmivou kapacitou systému, čo sa prejaví lepšou stabilitou a účinnosťou celého anaeróbného procesu.

## Záver

- Ovocné a zeleninové odpady ako hlavná časť biologicky rozložiteľných komunálnych odpadov boli anaeróbne spracovávané v mezofilných a termofilných podmienkach.
- Použité OZO s priemerným obsahom celkovej sušiny 15,4 % a stratou žíhaním 96,3 % boli do oboch reaktorov dávkované v neriedenom stave.
- Kľúčový parameter C:N bol v použitých OZO stanovený elementárnou analýzou s hodnotou cca 60, čo je pre stabilný chod anaeróbných rozkladov vysoké číslo. Potvrdila to aj prevádzka mezofilného reaktora pri spracovaní OZO. Dôvodom nestabilného chodu tohto reaktora bola nedostatočná acido – bázická tlmivá kapacita systému v dôsledku nízkeho obsahu dusíka vo vstupujúcom substráte.
- Pri zvýšení organického zaťaženia z  $3,0$  na  $3,5 \text{ kg}_{\text{OS}} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  nastala v mezofilnom reaktore silná inhibícia spôsobená akumuláciou nižších mastných kyselín. Výsledkom bolo prudké zníženie pH (z približne neutrálnej hodnoty na 5,25) a produkcie bioplynu.
- Táto inhibícia metánových baktérií bola úspešne odstránená prerušením dávkovania substrátu, následným pridaním  $\text{NaHCO}_3$  a znížením organického zaťaženia späť na  $3,0 \text{ kg}_{\text{OS}} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ . Práve toto  $B_v$  bolo stanovené ako maximálne zaťaženie pre anaeróbne mezofilné spracovanie OZO.
- V termofilnom reaktore po 145 dňoch fermentácie bolo dosiahnuté organické zaťaženie na úrovni  $4,0 \text{ kg}_{\text{OS}} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ , pričom hodnoty meraných parametrov poukazovali na stabilitu anaeróbného rozkladu.
- Priemerná špecifická produkcia v mezofilnom reaktore po dosiahnutí maximálneho organického zaťaženia a stabilizácii rozkladného procesu bola  $592 \text{ l}_{\text{BP}} \text{ kg}_{\text{OS}}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , v termofilnom reaktore to bolo  $670 \text{ l}_{\text{BP}} \text{ kg}_{\text{OS}}^{-1} \text{ d}^{-1}$ .
- Na základe 145dňovej anaeróbnej fermentácie zmesi ovocných a zeleninových odpadov možno teda konštatovať, že termofilný spôsob spracovania týchto odpadov je v porovnaní s mezofilným účinnejší a vhodnejší. Možno to tvrdiť na základe porovnania špecifickej produkcie bioplynu, dosiahnutého organického zaťaženia a stability rozkladného procesu.

## Zoznam symbolov

| <b>Symbol</b>     | <b>Význam</b>                 | <b>Jednotka</b>                                       |
|-------------------|-------------------------------|-------------------------------------------------------|
| $B_v$             | Objemové organické zaťaženie  | $\text{kg}_{\text{OS}} \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ |
| CHSK              | Chemická spotreba kyslíka     | $\text{mg l}^{-1}$                                    |
| CS                | Celková sušina                | $\text{g l}^{-1}$                                     |
| FAN               | Dusík voľného amoniaku        | $\text{mg l}^{-1}$                                    |
| HZD               | Hydraulická zdržná doba       | d                                                     |
| NMK               | Nižšie mastné kyseliny        | $\text{mg l}^{-1}$                                    |
| Mezo              | Mezofilný                     |                                                       |
| OS                | Organická sušina              | $\text{g l}^{-1}$                                     |
| OZO               | Ovocné a zeleninové odpady    |                                                       |
| SŽ                | Strata žíhaním                | %                                                     |
| $Q_{\text{spec}}$ | Špecifická produkcia bioplynu | $\text{l}_{\text{BP}} \text{ kg}_{\text{OS}}^{-1}$    |

|                     |                           |                    |
|---------------------|---------------------------|--------------------|
| t                   | Teplota                   | °C                 |
| TAN                 | Celkový amoniakálny dusík | mg l <sup>-1</sup> |
| Termo               | Termofilný                |                    |
| <i>Dolné indexy</i> |                           |                    |
| spec                | Špecifický                |                    |
| BP                  | Bioplyn                   |                    |
| OS                  | Organická sušina          |                    |

## Použitá literatúra

1. Misi S. N, Forster C. F.: Semi-continuous anaerobic co-digestion of agro-waste. *Environ. Technol.*, 23, 445 – 451, (2002).
2. Bouallagui H., Lahdheb H., Ben Romdan E., Rachdi B., Hamdi M.: Improvement of fruit and vegetable waste anaerobic digestion performance and stability with co-substrates addition, *Journal of Environmental Management*, 90(5), 1844 – 9, (2009).
3. Ahring B.K, Mladenovska Z., Iranpour R., Westermann P.: State of the art and future perspectives of thermophilic anaerobic digestion. *Water Sci. Technol.*, 45, 298–308, (2002).
4. Converti A., DelBorghi A., Zilli M., Arni S., DelBorghi M.: Anaerobic digestion of the vegetable fraction of municipal refuses: mesophilic versus thermophilic conditions. *Bioprocess Eng.*, 21, 371 – 376, (1999).
5. Weiland P.: One and two-step anaerobic digestion from the organic fraction of municipal solid waste. *Water Sci. Technol.*, 27, 145 – 151, (1993).
6. Lissens G., Vandevivere P., De Baere L., Biey E.M., Verstrae W.: Solid waste digesters: process performance and practice for municipal solid waste digestion. *Water Sci. Technol.*, 44, 91 – 102, (2001).
7. Ruynal J., Delgenes J.P., Moletta R.: Tow phase anaerobic digestion of solid waste by a multiple liquefaction reactors process. *Bioresour. Technol.*, 65, 97 – 103, (1998).
8. Bouallagui H., Haouari O., Touhami Y., Ben Cheikh R., Marouani L., Hamdi M.: Effect of temperature on the performance of an anaerobic tubular reactor treating fruit and vegetable waste. *Process Biochemistry*, 39, 2143 – 2148, (2004).
9. Gunaseelan V.N.: Anaerobic digestion of biomass for methane production: a review. *Biomass and Bioenergy*, 1997;13(1e2):83e114.
10. Gunaseelan V.N.: Regression models of ultimate methane yields of fruits and vegetable solid wastes, sorghum and napiergrass on chemical composition. *Bioresource Technology*, 98(6), 1270 – 1277, (2007).
11. Elmashad H.M, Zeeman G., Lettinga G.: Thermophilic Anaerobic digestion of cow manure. Effect of temperature on hydrolysis. In: *Proceedings of the 9th World Congress Anaerobic Digestion*. Belgium: IWA Antwerpen; 2–6 September 2001.
12. Veeken B.A, Hamelers B.: Effect of temperature on hydrolysis rate of selected biowise components. *Bioresour. Technol.*, 69, 249 – 54, (1999).
13. Mata-Alvarez J., Cecchi F., Llabrés P., Pavan P.: Performance of digesters treating the organic fraction of municipal solid waste differently sorted. *Biol. Wastes*, 33, 181 – 99, (1990).
14. van Lier J.B.: *Thermophilic Anaerobic Wastewater Treatment; Temperature Aspects and Process Stability*. PhD. Thesis. Agricultural University, Wageningen, The Netherlands, (1995)
15. Garcia-Pena E.I., Parameswaran P., Kang D.W., Canul-Chan M., Krajmalnik-Brown R.: Anaerobic digestion and co – digestion processes of vegetable and fruit residues: *Process and Microbial Ecology Bioresource Technology*, 102, 9447 – 9455, (2011).
16. Mata-Alvarez J., Llabrés P., Cecchi F., Pavan P.: Anaerobic digestion of the Barcelona central food market organic wastes: experimental study. *Bioresource Technology*, 39(1), 39 – 48, (1992).
17. Kubaská M., Sedláček S., Bodík I., Drtil M.: One year of anaerobic digestion of food waste and sewage sludge in mesophilic and thermophilic conditions. In: *Proceedings of the 39th International Conference of Slovak Society of Chemical Engineering, Tatranské Matliare, Slovakia, May 21 – 25, 2012*, Book of Abstracts (Markoš J., ed.), str. 218

## Anaerobic treatment of fruit and vegetable wastes at mesophilic and thermophilic conditions

Michal LAZOR<sup>a</sup>, Miroslav HUTŇAN<sup>a</sup>, Nina KOLESÁROVÁ<sup>a</sup>, Anna ORSÁGOVÁ<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Department of Environmental Engineering,

<sup>b</sup> Department of Chemical Technology of Wood, Pulp and Paper,

Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovak Republic

E-mail: miroslav.hutnan@stuba.sk

### Abstract

A substantial part of biodegradable municipal wastes are fruit and vegetable wastes. These types of wastes are most involved in the formation of landfill gas problem. Their disposal in landfill is not only dangerous but also ineffective, because in themselves contain relatively high amounts of organic matter that could be effectively used, for example in anaerobic processes for biogas production. Fruit and vegetable wastes are characterized by high portion of organic matter (volatile solids) and by high content quickly and easily biodegradable compounds (especially carbohydrates). This makes them an ideal substrate for biogas plants. On the other hand, the ratio of organic carbon and nitrogen in these materials (C: N) is relatively high (60). This ratio is the key parameter influencing the stability of the anaerobic degradation and its optimum value is in the range 20 – 40. Such a high ratio C:N can cause accumulation of volatile fatty acids and subsequent inhibition and collapse of the anaerobic process respectively. In this work the effect of temperature on the anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes was studied. This effect was investigated in the period of 145 days in the two stirred semicontinuous reactors with volume of 1.8 L at the mesophilic (37 °C) and thermophilic (55 °C) conditions. Higher values of the most important monitored parameters (organic loading rate and specific biogas production) were achieved in the thermophilic reactor (4.0 vs. 3.0 kg m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup> of volatile solids or 670 vs. 592 L of biogas per kg of volatile solids). In this work the positive effect of higher temperature on the anaerobic digestion of fruit and vegetable waste was proved.

**Key words:** biogas, fruit and vegetable wastes, mesophilic process, thermophilic process

## Vliv přídavku kompostu na únik minerálního dusíku a produkci biomasy

**Lukáš PLOŠEK, Jakub ELBL, Antonín KINTL, Jaroslav ZÁHORA, Jaroslav HYNŠT**

*Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1/1665, 613 00 Brno  
e-mail: lukas.plosek@mendelu.cz*

### Souhrn

Únik minerálních forem dusíku z orných půd je hlavním zdrojem znečištění nitráty v ložiscích podzemní pitné vody v lokalitě Březová nad Svitavou. Předchozí výzkumy prokázaly přímou souvislost mezi používáním dusíkatých minerálních hnojiv, únikem minerálního dusíku ( $N_{min}$ ) a kvalitou podzemní vody. Tato studie je zaměřena na posouzení použití kompostů, jako alternativního organického hnojiva, za účelem snížení úniku  $N_{min}$  při zachování či zvýšení produkce rostlinné biomasy.

V nádobovém laboratorním pokusu bylo prokázáno, že přídavek kompostu má průkazný vliv na snížení úniku  $N_{min}$  a zvýšení produkce rostlinné biomasy.

**Klíčová slova:** dusík, kompost, vyplavování dusíku, produkce biomasy

### Úvod

Jímací území vodního zdroje Březová nad Svitavou je zdrojem pitné vody pro brněnskou oblast a okolí. Jedná se o velmi kvalitní podzemní vodu, v níž však, bohužel, dochází k mírnému, ale stálému nárůstu koncentrace nitrátů, a to i přes radikální omezení aplikace průmyslových hnojiv v druhé polovině 90. let<sup>1,2</sup>.

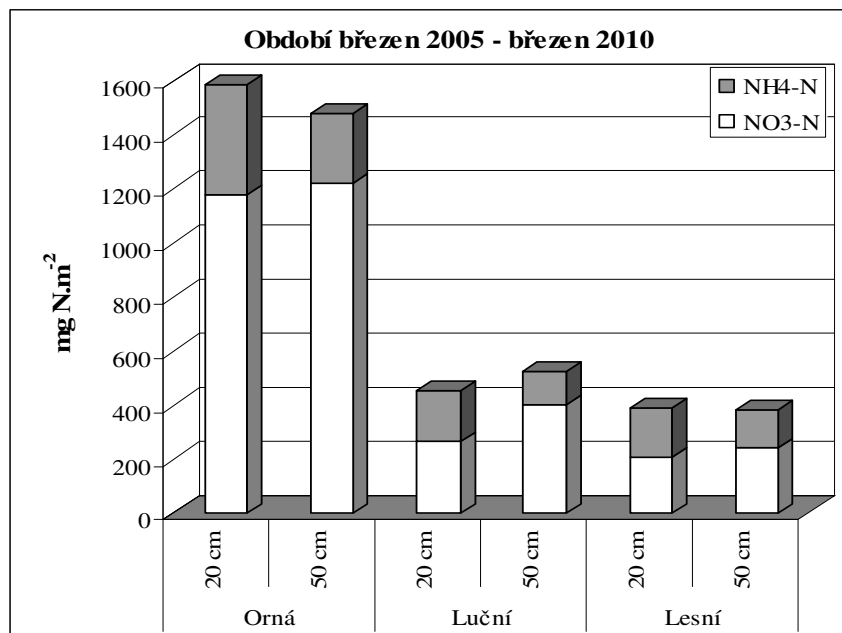
Galloway *et al.* (2003)<sup>3</sup> ve své práci uvádí, že dvě třetiny „celosvětového dusíkového znečištění“ má původ nikoliv v podobě spalování fosilních paliv, ale v zemědělské činnosti. A to zejména v případě nesprávného využívání minerálních dusíkatých hnojiv. Nadměrné využívání dusíkatých hnojiv v posledních 50 letech sice zpočátku přineslo zvýšení výnosů zemědělské produkce, ale později se ukázalo, že dusíkatá hnojiva způsobují degradaci půdy, znečištění podzemních vod a životního prostředí<sup>4</sup>.

Než se dá, obrazně řečeno, první atom N v podobě dusičnanu do pohybu, dochází k pozvolnému nasycení akumulační kapacity daného ekosystému. Následuje snížení odolnosti vegetace vůči negativním vlivům (choroby, škůdci, sucho, mráz, ...). V prosakující půdní vodě se začínají nahodile objevovat první zvýšená množství dusičnanů. Pokud dusíkatá zátěž trvá, zvýšené hladiny dusičnanů se stávají trvale přítomnými za současně zvýšené aktivity denitrifikace. Dusíkatá zátěž vrcholí kolapsem stávajícího ekosystému<sup>1,2</sup>.

Tamm (1991)<sup>5</sup> uvádí, že i kdyby byla dusíkatá zátěž ze dne na den rovna nule, setrvačnost biologických procesů bude řídit snižování množství uvolněného dusičnanového dusíku zhruba v tom časovém horizontu, během kterého docházelo k akumulaci dusíku v ekosystému.

Výsledky předešlých výzkumů sledování úniku minerálních forem dusíku v lokalitách OPVZ Březová nad Svitavou potvrzují (**graf 1**), že z orných půd se v daném území vyplavuje přibližně třikrát více dusičnanů než z půd lučních a lesních. Sledované území má vysoký podíl orné půdy, v povodí Radiměřského potoka jsou to přibližně čtyři pětiny<sup>1</sup>.

**Graf 1: Kumulativní záchyt minerálního N v iontoměničových pouzdrech vložených do půd různých typů ekosystémů (do 20 cm a 50 cm) v lokalitách OPVZ II. stupně za pětileté období sledování<sup>2</sup>**



Úlehlová (1989)<sup>6</sup>, Aber *et al.* (1989)<sup>7</sup>, Galloway a Cowling (2002)<sup>8</sup>, Sutton (2011)<sup>9</sup>, Erisman (2011)<sup>10</sup>, Elbl *et al.* (2012)<sup>11</sup> a další upozorňují na riziko, které představuje saturace půdního prostředí dusíkatými látkami. Přesněji stav, kdy je dostupnost amonného a dusičnanového dusíku větší, než je celková kombinovaná rostlinná a mikrobiální nutriční poptávka. Pokud vezmeme v úvahu minimální afinitu půdního sorpčního komplexu k záporně nabitým částicím, tak při saturaci půdního prostředí vzniká předpoklad pro značný únik nitrátů například do podzemních vod.

Tato studie má za cíl posoudit vliv přidavku kompostů, jež jsou zdrojem pomalu působících forem organického dusíku ( $N_{org}$ ), organického uhlíku ( $C_{org}$ ) a mikrobiální mikroflóry, na únik minerálních forem dusíku a produkci rostlinné biomasy u zemědělské půdy dotčené aplikací minerálních dusíkatých hnojiv.

## Experimentální část

### Zájmová oblast

Zájmová oblast – OPVZ II. stupně Březová nad Svitavou leží v Pardubickém kraji v okrese Svitavy. Všechny lokality náleží do zranitelných oblastí (dle tzv. Nitrátové směrnice, prováděcí předpis NV č. 103/2003 Sb, v platném znění).

Území je pedologicky velmi rozmanité, je tvořeno mozaikou více než 30 různých BPEJ, z nichž většina nepokrývá více než 2 % plochy území. Na vybrané lokalitě jsou zastoupeny půdní typy: HPJ 25 – hnědé půdy, hnědé půdy kyselé a jejich slabě oglejené formy na opukách a tvrdých slínovcích; HPJ 31 – hnědé půdy, hnědé půdy kyselé a jejich slabě oglejené formy na permokarbonských horninách a pískovcích.

Katastrální území Radiměř, klimatický region MT4, mírně teplý vlhký, 6 – 7 °C se srážkovým úhrnem 650 – 750 mm/rok.

### Odběr a příprava vzorků

Porušený půdní vzorek orniční vrstvy byl odebrán v zájmovém území Ochranného pásma vodního zdroje (OPVZ II. stupně) Březová nad Svitavou na orné půdě v lokalitě Radiměř. Vybrané území je zařazeno mezi zranitelné oblasti dle nařízení vlády č. 103/2003 Sb, v platném znění. Odběr vzorků půdy byl proveden 8. listopadu 2011. Vzorky kompostů byly odebrány z Centrální kompostárny Brno (kompost Černý drak – ČD a Zelený drak – ZD) dne 11. listopadu 2011, kompostárny v Náměšti nad



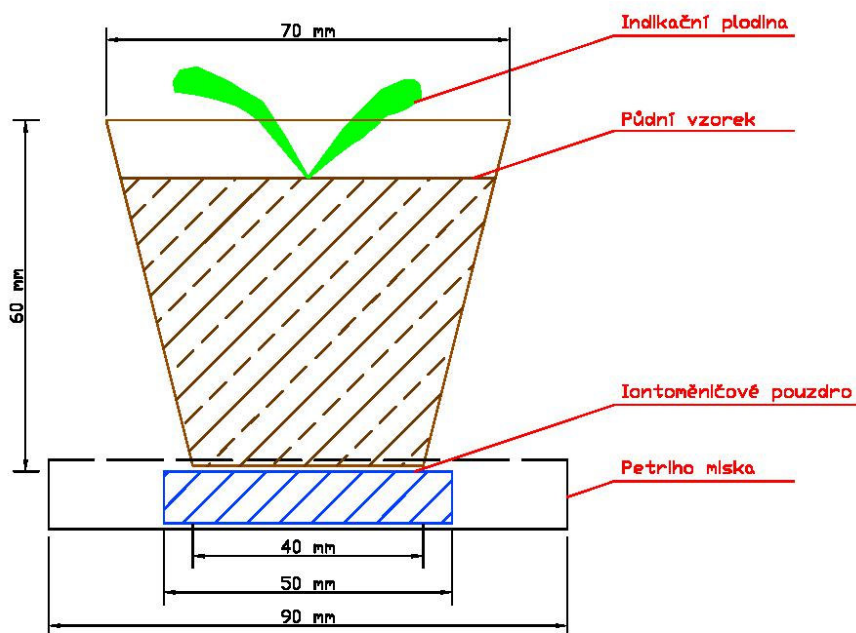
Oslavou (kompost CMC) dne 25. března 2012 a kompostárně ve Slavkově u Brna (kompost Slavkov – Sla) dne 12. dubna 2012. Odběr vzorků půdy byl proveden dle ČSN ISO 10381-6 a vzorků kompostů dle ČSN EN 46 5735.

Odebrané vzorky půdy a kompostů byly po převozu homogenizovány a prosety na sítu o velikosti ok 2 mm. Takto upravené vzorky byly uloženy v označených vzorkovnicích ve skříňovém termostatu při teplotě  $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Před založením pokusu byly vzorky půdy a kompostů preinkubovány při laboratorní teplotě po dobu 30 dnů.

Po uplynutí doby preinkubace byla půda s komposty promísena a naplněna do nádob o objemu 125 ml. Varianty pokusu: kontrolní variantou byla zemina odebraná z orniční vrstvy v Radiměři (Zemina), 4 varianty s přídavkem kompostů v množství odpovídajícím 50 t/ha zapravené do 15 cm půdy (ČD 50, ZD 50, CMC 50, Sla 50) a 4 varianty se zvýšenou dávkou kompostů v množství odpovídajícím 200 t/ha zapravené do 15 cm půdy (ČD 200, ZD 200, CMC 200, Sla 200). Pro každou variantu byly založeny 3 opakování ( $n = 3$ ). Dávky kompostů byly přepočítány na zvolenou pokusnou nádobu. Všechny nádoby byly osety modelovou plodinou salátem setým (*Lactuca sativa* L.). Schéma pokusu je naznačeno na **obrázku 1**.

Následujících 35 dní probíhala kultivace ve fytotronu při konstantní teplotě ( $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) a vlhkosti prostředí. Na počátku byly nádoby promyty 50 ml destilované vody a v následujících dnech bylo přidáváno 20 ml destilované vody.

**Obrázek 1: Schéma laboratorního experimentu**



### Stanovení úniku minerálních forem dusíku

Pro měření unikajících minerálních forem dusíku byla použita a upravena metodika dle Binkley a Matson (1983)<sup>12</sup>. Plochá válcovitá pouzdra (disky) o vnitřním průměru 50 mm a výšce 10 mm, zhotovená z novoduru a uzavřená z obou stran polyamidovou síťovinou UHELON byla naplněna směsnými iontoměniči – Ion Exchange Resin = IER (katex:anex = 1:1, katex – PUROLITE C100E, anex – PUROLITE A520E). Naplněné novodurové prstence jsou dále označovány jako IER disky podle Novosádová, Záhora a Ruiz-Sinoga (2011)<sup>13</sup>. Iontoměniče byly třikrát opakovaně kondicionovány v 10% roztoku NaCl a mnohonásobně vymývány v destilované vodě. Disky byly umístěny pod pokusné nádoby takovým způsobem, aby všechna voda unikající z pokusné nádoby musela protéci přes disk, a tím byla zaručena výměna iontů mezi vodou a iontoměniči. Po ukončení pokusu byly disky vysušeny na vzduchu a byla zjištěna jejich hmotnost. Obsah disků byl nasypán do předem připravených polyetylenových

lahviček. Podle hmotnosti ionexů bylo ke směsi přidáno 8 – 10 ml destilované vody. Následně se obsah lahviček doplnil na obsah 100 ml 10% roztokem NaCl. Přidaný roztok NaCl způsobil vytěsnění nasorbovaných amonných a nitrátových iontů z nitra ionexů. Uzavřené lahvičky se nechaly třepat, a po uplynutí doby 45 minut byly tyto vzorky připraveny k analýze. Roztok 10% NaCl byl použit k resorpci zachycených iontů  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{NO}_3^-$ . Amonné ionty byly v extrakčním roztoku stanoveny destilačně titrační metodou v alkalickém prostředí s MgO dle Peoples *et al.* (1989)<sup>14</sup>. Pomocí indikátoru s  $\text{H}_3\text{BO}_3$  byl amonný dusík jímán a následnou titrací HCl bylo zjištěno množství  $\text{NH}_4^+$ .  $\text{NO}_3^-$  ionty jsou stanoveny stejným způsobem po redukci Devardovou slitinou. Pro lepší interpretaci výsledků byly naměřené hodnoty úniku minerálních forem dusíku přepočítány na srovnatelné objemové množství zeminy v  $\text{mg/dm}^3$  zeminy.

### Stanovení produkce nadzemní a podzemní biomasy

Z každé pokusné nádoby byl odebrán vzorek nadzemní a podzemní biomasy indikační plodiny *Lactuca sativa* L. Byla stanovena sušina rostlinné biomasy podle Valenta, Urban a Pulkrábek (2008)<sup>15</sup>. Parametr sušiny pro účely předkládané práce představuje hodnotu produkce nadzemní a podzemní rostlinné biomasy.

### Statistické vyhodnocení dat

Získané hodnoty byly statisticky vyhodnoceny za využití metody jedno-faktorové analýzy variance (ANOVA), dále byl proveden výpočet LSD (Least Significant Difference) na 5% hladině významnosti ( $p < 0,05$ ) s Post-Hoc Tuckey's HSD testem.

## Výsledky a diskuse

Cílem výzkumu bylo zjištění vlivu přidavku různých druhů kompostů na vyplavování minerálního dusíku ( $N_{\min}$ ) z orné půdy. Podle Šimka (2003)<sup>16</sup> je  $N_{\min}$  v půdě tvořen amonným ( $\text{N-NH}_4^+$ ) a dusičnanovým dusíkem ( $\text{N-NO}_3^-$ ), proto jsou v práci rovněž uvedeny úniky jednotlivých forem minerálního dusíku (**tabulka 1**). Hodnoty zachytu jsou doplněny o produkci nadzemní a podzemní rostlinné biomasy.

### Záchyt minerálních forem dusíku

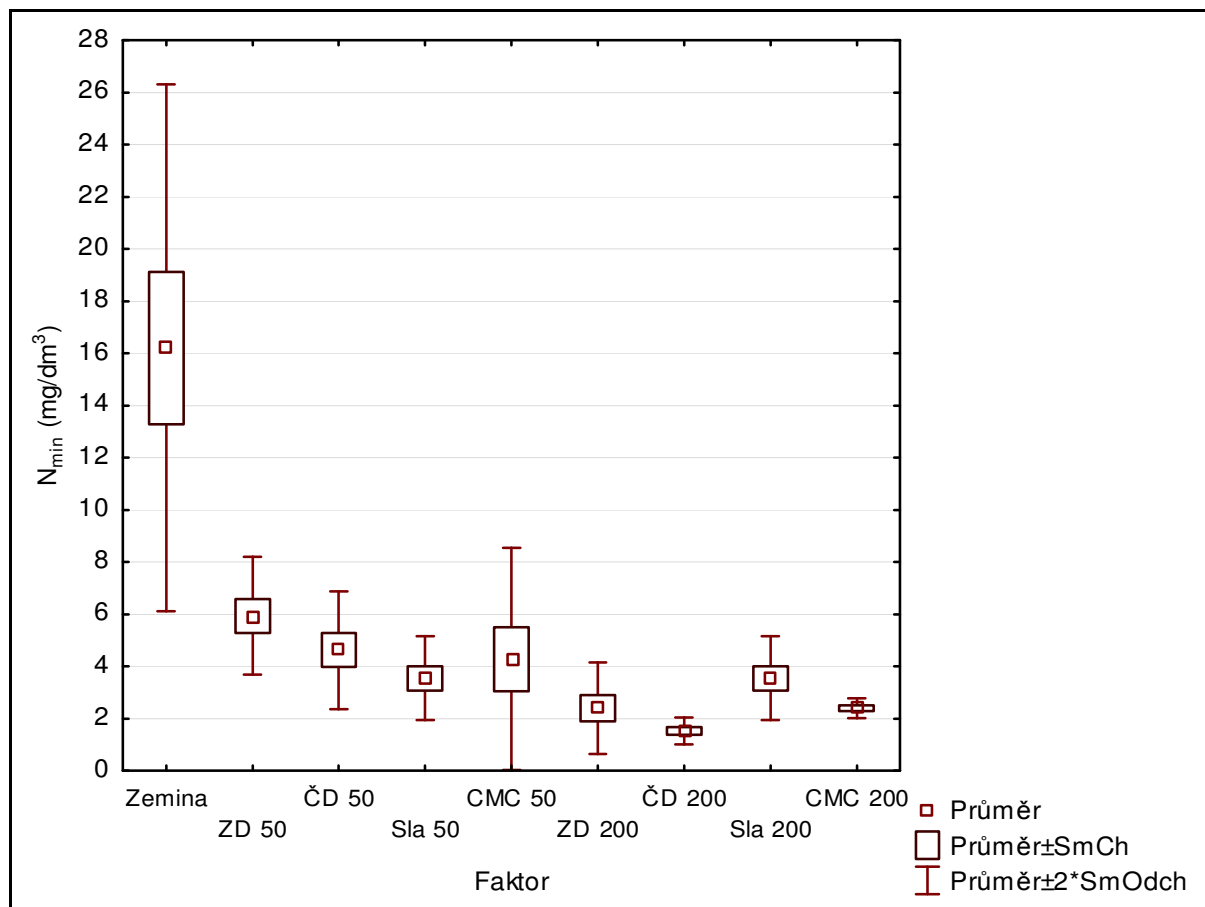
Měření zachytu  $\text{N-NH}_4^+$ ,  $\text{N-NO}_3^-$  a  $N_{\min}$  probíhalo po dobu 35 dnů za využití IER disků, které byly umístěny pod výtokovými otvory experimentálních nádob. V **grafu 2** jsou znázorněny zjištěné zachyty  $N_{\min}$ , který je zde vyjádřen jako součet váženého průměru zachytu amonného a nitrátového dusíku jednotlivých variant experimentu. Vážený průměr byl zjištěn ze tří opakování v každé variantě.

**Tabulka 1: Úniků minerálních forem dusíku u jednotlivých variant (amonný dusík –  $\text{NH}_4^+$ , dusičnanový dusík –  $\text{NO}_3^-$  a celkový minerální dusík –  $N_{\min}$ )**

| Faktor         | $\text{NH}_4^+$<br>$\text{mg/dm}^3$ | $\text{NO}_3^-$<br>$\text{mg/dm}^3$ | $N_{\min}$<br>$\text{mg/dm}^3$ | $\sigma \text{NH}_4^+$<br>$\text{mg/dm}^3$ | $\sigma \text{NO}_3^-$<br>$\text{mg/dm}^3$ | $\sigma N_{\min}$<br>$\text{mg/dm}^3$ |
|----------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------|
| <b>Zemina</b>  | 1,81                                | 14,40                               | <b>16,21</b>                   | 0,29                                       | 2,95                                       | <b>2,91</b>                           |
| <b>ZD 50</b>   | 1,48                                | 4,46                                | <b>5,94</b>                    | 0,04                                       | 0,62                                       | <b>0,65</b>                           |
| <b>ČD 50</b>   | 1,32                                | 3,30                                | <b>4,63</b>                    | 0,07                                       | 0,70                                       | <b>0,65</b>                           |
| <b>Sla 50</b>  | 0,57                                | 2,97                                | <b>3,55</b>                    | 0,05                                       | 0,43                                       | <b>0,47</b>                           |
| <b>CMC 50</b>  | 0,45                                | 3,83                                | <b>4,28</b>                    | 0,09                                       | 1,14                                       | <b>1,23</b>                           |
| <b>ZD 200</b>  | 0,25                                | 2,16                                | <b>2,40</b>                    | 0,04                                       | 0,48                                       | <b>0,50</b>                           |
| <b>ČD 200</b>  | 0,23                                | 1,28                                | <b>1,52</b>                    | 0,02                                       | 0,13                                       | <b>0,15</b>                           |
| <b>CMC 200</b> | 0,33                                | 2,07                                | <b>2,40</b>                    | 0,04                                       | 0,15                                       | <b>0,11</b>                           |
| <b>Sla 200</b> | 0,57                                | 2,97                                | <b>3,55</b>                    | 0,05                                       | 0,43                                       | <b>0,47</b>                           |

$\sigma$ ...směrodatná odchylka

**Graf 2: Porovnání hodnot ( $\bar{x}$  z každé varianty,  $n = 3$ ) záchytu minerálního dusíku mezi rozdílnými variantami experimentu.**



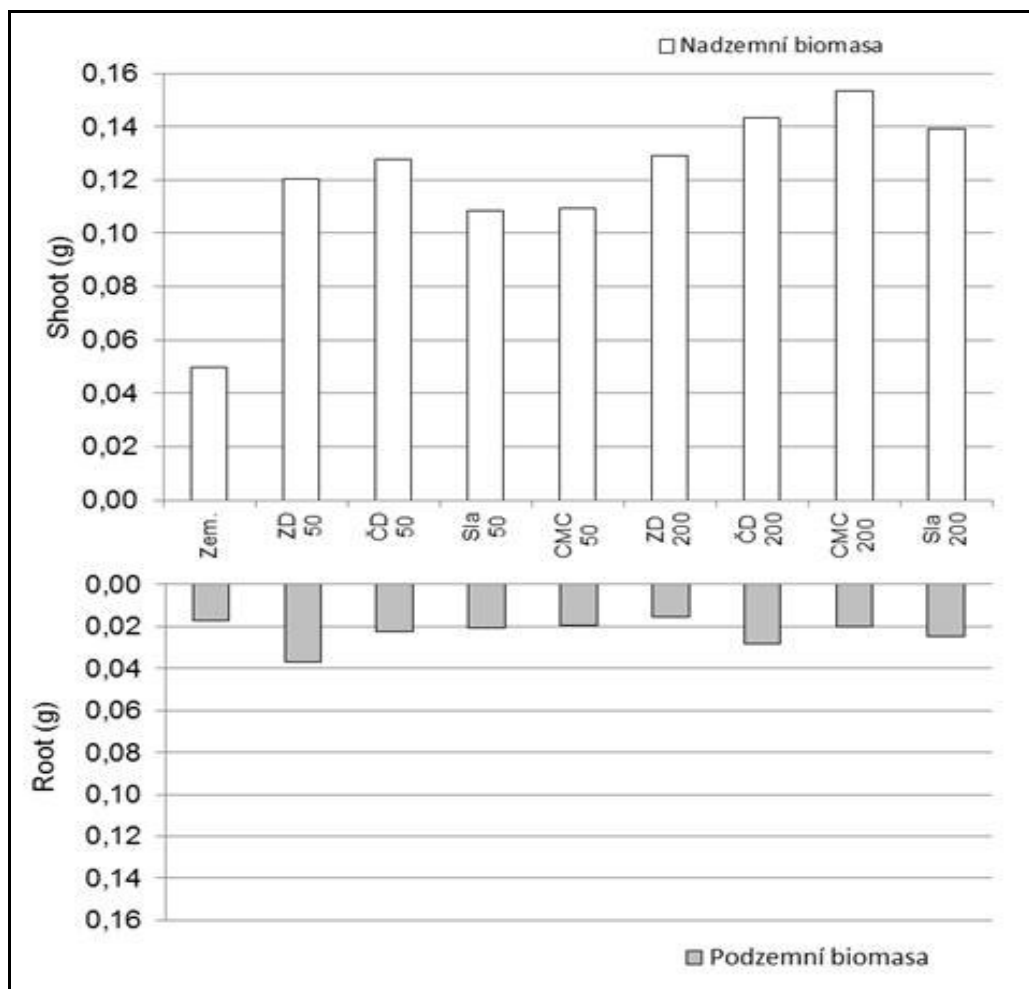
Z hodnot uvedených v **grafu 2** vyplývá, že nejvyššího záchytu  $N_{\min}$  bylo dosaženo u varianty pouze se zeminou ( $Zemina = 16,20 \text{ mg/dm}^3$ ), nejnižší hodnoty záchytu  $N_{\min}$  bylo dosaženo u varianty kompostu Černý drak se zvýšenou dávkou 200 t/ha ( $\check{C}D 200 = 1,52 \text{ mg/dm}^3$ ). Z **grafu 2** je patrný pozitivní vliv přídavku kompostu na únik  $N_{\min}$ , kdy vlivem přídavku organických látek obsažených v kompostech došlo k statisticky prokazatelnému snížení úniku  $N_{\min}$ . Vliv zvýšené dávky (z 50 t/ha na 200 t/ha) přídavku jednotlivých druhů kompostů není statisticky průkazný.

Snížení úniku minerálního dusíku u variant s přídavkem kompostů lze vysvětlit přídavkem dostupného organického uhlíku ( $C_{org}$ ) v aplikovaném kompostu. Výsledky výzkumu Barretta a Burka (2000)<sup>17</sup>, Wolfa a Snydera (2003)<sup>18</sup>, Suttona (2011)<sup>9</sup> a Elbla (2012)<sup>11</sup> potvrzují vliv  $C_{org}$  na mikrobiální aktivitu. Lze tedy předpokládat, že v přítomnosti dostupného  $C_{org}$  zvyšují mikroorganismy svoji činnost a tím i zapracování  $N_{\min}$  do své buněčné stavby, což ve své práci potvrzují Nevens a Reheul (2009)<sup>19</sup>. Dochází tak ke zvyšování kapacity půdního prostředí pro dusíkaté sloučeniny, a to nejenom pro minerální formy dusíku. Vytváření zásob organických dusíkatých látek je pro půdu absolutně nezbytné. Důvod je jednoduchý, popisuje ho například Sutton (2011)<sup>9</sup> a Elbl (2012)<sup>11</sup>, kteří uvádějí, že organické formy N jsou minimálně pohyblivé a mohou tak zůstat v půdním prostředí i při zvýšených dávkách závlahy (nedochází k vyplavování). Následně pak v příhodných podmínkách může dojít k depolymeraci těchto organických (makromolekulárních) sloučenin a posléze k mineralizaci na jednotlivé minerální formy dusíku.

### **Produkce nadzemní a podzemní biomasy**

Produkce nadzemní (shoot) a podzemní (root) biomasy byla zvolena jako hlavní indikátor vlivu přídavku různých druhů kompostů na půdní úrodnost. Hodnoty produkce nadzemní a podzemní biomasy jsou uvedeny v **grafu 3**, kde jsou vyjádřeny v g sušiny.

**Graf 3: Porovnání průměrných hodnot produkce nadzemní a podzemní biomasy mezi rozdílnými variantami pokusu**



Z grafu 3 je patrná nejnižší produkce celkové rostlinné biomasy pro kontrolní variantu pouze se zeminou (0,067 g), naopak varianty hnojené různými druhy kompostů vykázaly často i více než dvojnásobnou produkci rostlinné biomasy, nejvyšších hodnot produkce biomasy byly pro variantu dávky kompostu 50 t/ha zaznamenány u kompostu ZD 50 (0,157 g) a pro variantu dávky kompostu 200 t/ha u kompostu CMC 200 (0,173 g). U produkce nadzemní biomasy byly zaznamenány statisticky významné rozdíly u všech variant s kompostem oproti kontrolní variantě pouze se zeminou, produkce podzemní biomasy je statisticky průkazná pouze ve variantě ZD 50. Mezi různými dávkami kompostu opět nejsou statisticky významné rozdíly.

Podle Rychnovské *et al.* (1987)<sup>20</sup> byl určen hmotnostní poměr produkce podzemní a nadzemní biomasy R/S, tzv. poměr „root and shoot“, který se běžně používá pro studium travinných ekosystémů. Vzhledem ke konstantním podmínkám v laboratorním fytotronu jsme jej použili i pro zvolenou indikační plodinu *Lactuca sativa* L., jako ukazatel distribuce živin u jednotlivých variant. Vypočtené hodnoty jsou uvedeny v **tabulce 2**.

**Tabulka 2: Hmotnostní poměr nadzemních a podzemních částí rostlin R/S**

| zemina | ZD 50  | ČD 50  | Sla 50 | CMC 50 | ZD 200 | ČD 200 | CMC 200 | Sla 200 |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|
| 0,3447 | 0,3070 | 0,1767 | 0,1924 | 0,1769 | 0,1183 | 0,1986 | 0,1323  | 0,1765  |

Při porovnání jednotlivých variant nejvyššího poměru R/S dosáhly varianty kontrolní se zeminou a ZD 50, což je možné interpretovat sníženou dostupností  $N_{\min}$ . Podle Richtera a Hluška (2006)<sup>21</sup> obsah  $N_{\min}$  v půdě rozhoduje o intenzitě růstu rostlin a rozhodující měrou se uplatňuje N z půdní zásoby. Lze se ovšem také domnívat, že rostlina u těchto variant „investovala“ (distribuovala) živiny rovnoměrně mezi nadzemní a podzemní biomasu (toto zdůvodnění se nabízí spíše pro variantu ZD 50, kde byla naměřena nejvyšší celková produkce rostlinné biomasy).

Nízký poměr R/S (u variant s komposty v dávkách 200 t/ha) lze vysvětlit zvýšenou dávkou  $C_{\text{org}}$  (obsažený v kompostu) v kombinaci s dusíkem již obsaženým v zemině. Podle Elbla *et al.* (2012)<sup>11</sup> zvýšená dávka  $C_{\text{org}}$  iniciuje mikrobiální aktivitu, která má za následek kumulaci většího množství živin dostupných v rhizosféře, které tak rostlina může využít bez větší nutnosti rozvoje kořenového systému.

## Závěr

Ze získaných hodnot úniku  $N_{\min}$  prokazatelně vyplývá, že přídavek kompostu výrazně snižuje vyplavování  $N_{\min}$  z půdy (snížení o 68,1 % u ZD 50 – 90,6 % u ČD 200 oproti kontrolní variantě se zeminou). Statisticky průkazného snížení bylo dosaženo téměř u všech variant s kompostem oproti kontrolní variantě se zeminou ve sledovaných parametrech  $N_{\min}$ ,  $N\text{-NO}_3^-$ ,  $N\text{-NH}_4^+$  (u úniku amonného dusíku nebyly statisticky průkazné rozdíly pouze u variant ZD 50 a ČD 50). Vliv zvýšené dávky kompostu (200 t/ha) na snížení úniku  $N_{\min}$  se nepodařilo potvrdit, ačkoli vážené průměry úniku  $N_{\min}$  byly nižší pro varianty se zvýšenou dávkou kompostu.

Vliv přídavku kompostu na produkci rostlinné biomasy je zřejmý zejména u nadzemní části rostliny, kdy bylo dosaženo výrazného zvýšení produkce nadzemní biomasy u všech variant s kompostem oproti kontrolní variantě se zeminou. Vliv zvýšené dávky kompostu (200 t/ha) na produkci nadzemní biomasy není i přes nárůst vážených průměrů statisticky průkazný. V produkci podzemní biomasy nebyly průkazné rozdíly, nelze ani říci, že přídavkem kompostu došlo ke zvýšení produkce u podzemní biomasy (u varianty ZD 200 došlo k poklesu produkce podzemní biomasy oproti kontrole se zeminou).

Výsledky laboratorního pokusu budou následně ověřeny v terénních podmínkách v lyzimetrických nádobách a na maloplošných pokusných polích. V případě, že dojde k potvrzení laboratorních výsledků, bude třeba zvážit výrazné omezení používání minerálních hnojiv na plochách OPVZ na úkor organických hnojiv, mezi které se komposty řadí.

## Seznam symbolů a zkratek

$C_{\text{org}}$  – organický uhlík  
CMC – kompost CMC z kompostárny v Náměšti nad Oslavou  
ČD – kompost Černý drak z Centrální kompostárny Brno  
IER – Ion Exchange Resin (směsné iontoměniče)  
 $N_{\min}$  – celkový minerální dusík  
 $N_{\text{org}}$  – organický dusík  
 $N\text{-NH}_4^+$  – amonný dusík  
 $N\text{-NO}_3^-$  – dusičnanový (nitrátový) dusík  
OPVZ – ochranné pásmo vodního zdroje  
Sla – kompost z kompostárny ve Slavkově u Brna  
ZD – kompost Zelený drak z Centrální kompostárny Brno

## Literatura

1. Nohel P., Záhora J., Mejzlík L.: *Sledování úniku minerálního dusíku z půd různých ekosystémů v OPVZ II. st. Březová nad Svitavou*. SOVAK, 7-8, 2008: 48 – 51.
2. Záhora J., Nohel P., Kintl A.: Vyplavování minerálního dusíku z orných, lučních a lesních půd v OPVZ II. st. Březová nad Svitavou. In *Voda Zlín 2011*. 1. vyd. Zlín: Moravská vodárenská, a. s., 2011, s. 49 – 54.
3. Galloway, J.N., Aber, J.D., Erisman, J.W., Seitzinger, S.P., Howarth, R.W., Cowling, E.B., Cosby, B.J.: The nitrogen cascade. *Bioscience* 53, 4: 341 – 356, (2003).

4. Ravusaheb M., Babalad H.B., Prasana Kumara B.H., Pushpa W.: Effect of organics and fermented organics on Šeld, soil available N,  $P_2O_5$ ,  $K_2O$  Kg/Ha and microbial count in sesame. *An Asian Journal of Soil Science* 5(2): 379 – 385, (2010).
5. Tamm C.O.: *Nitrogen in terrestrial ecosystems: Questions of produktivity, vegetational ganges, and ecosystem stability*. Springer-Verlag, Berlin 1991.
6. Úlehlová B.: *Koloběh dusíku v travních ekosystémech*. Academia, Praha 1989.
7. Aber J.D., Knute J., Nadelhoffer P.S., Melillo J.M.: Nitrogen Saturation in Northern Forest Ecosystem: Excess nitrogen from fofil fuel combustion may steress the biospher. *BioScience* 39, 6 (1989).
8. Galloway J., Cowling E.: Reactive Nitrogen and The World: 200 Years of chase. *AMBIO* 31, 2 (2002).
9. Sutton M.A.: *The European nitrogen assesment:sources, effects, and policy perspectives*. Cambridge University Press, New York 2011.
10. Erisman J.W., v knize: *The European nitrogen assesment: sources, effects, and police perspectives* (Sutton M.A., ed.), s. 9 – 31. Cambridge University Press, New York 2011.
11. Elbl J., Kintl A., Záhora J.: Vyplavování minerálního dusíku z orné půdy v závislosti na kvantitě a kvalitě předchozích dávek živin. In *MendelNet 2012 - Proceedings of International Ph.D. Students Conference*. 1. vyd. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2012: 392 – 400.
12. Binkley D., Matson P.: Ion Exchange Resin Bag Method for Assessing Forest Soil Nitrogen Availability. *SSSAJ* 47, 5 (1983).
13. Novosádová I., Záhora J., Ruiz-Sinoga D.: Vliv trsnaté trávy *Stipa tenacissima* L. na mikrobiální transformaci půdního uhlíku a dusíku v aridních podmínkách středozevního klimatu. *Úroda* LIX, 10 (2011).
14. Peoples M.B., Faizah A.W., Rerkasem B., Herridge D.F.: *Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field*. Australian Centre for International Agricultural Research (1989).
15. Valenta J., Urban J., Pulkrábek J., v knize: *Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin* (Bláha L., ed.), s. 117 – 122. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha 2007.
16. Šimek M.: *Základy nauky o půdě: 3. Biologické procesy a cykly prvků*. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, České Budějovice 2003.
17. Barret J.E., Burke I.C.: Potential nitrogen immobilization in grassland soils across a soil organic matter gradient. *Soil Biology & Biochemistry* 32, 11 – 12 (2000).
18. Wolf B., Snyder G.H.: *Sustainable soils: the place of organic matter in sustaining soils and their productivity*. Food Products Press, New York 2003.
19. Nevens F., Reheul D.: The application of vegetable, fruit and garden waste (VFG) compost in addition to cattle slurry in a silage maize monoculture: nitrogen availability and use. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 41, no. 3, pp. 530 – 543, 2009.
20. Rychnovská, M. et al.: *Metody studia travinných ekosystémů*. Academia, nakladatelství Československé akademie věd, Praha 1987.
21. Richter R., Hlušek J.: Využití dusíku rostlinami z aplikovaných hnojiv. In: *Nové trendy v používání dusíkatých hnojiv: sborník vědeckých a odborných prací z konference: 25. října 2006 Brno MZLU, 26. října 2006 VÚRV Praha – Ruzyně*. (Růžek P., Pišánová J. eds.), s. 5 – 14.

## **Influence of added compost on leakage of mineral nitrogen and biomass production**

**Lukáš PLOŠEK, Jakub ELBL Antonín KINTL Jaroslav ZÁHORA Jaroslav HYNŠT**

*Department of Agrochemistry, Soil Science, Microbiology and Plant Nutrition, Faculty of agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1/1665, 613 00 Brno  
e-mail: lukas.plosek@mendelu.cz*

### **Summary**

*The leakage of mineral forms of nitrogen from arable land is the main source of nitrate contamination of underground drinking water deposits in the locality Březová nad Svitavou. Previous research studies have shown a direct link between the use of mineral nitrogen fertilizers, leakage of mineral nitrogen ( $N_{min}$ ) and the quality of underground water. This study is aimed at assessing using of composts, as alternative organic fertilizers to reduce leakage  $N_{min}$  while maintaining or increasing the production of plant biomass.*

*In laboratory pot experiment was shown that the addition of compost has a significant effect on the reduction of leakage  $N_{min}$  and on increasing of plant biomass production.*

**Keywords:** *nitrogen, compost, nitrogen leaching, biomass production*



# Využití odpadních materiálů pro přípravu brusných nástrojů na bázi anorganických polymerů

**Ivana Perná, Tomáš Hanzlíček**

*Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v. v. i., Oddělení struktury a vlastností materiálů, V Holešovičkách 41, 182 09 Praha 8, e-mail: perna@irms.cas.cz*

## Souhrn

V současné době se stále zvyšuje tlak na snižování výrobních nákladů ve všech průmyslových závodech, a to i ve výrobě brusných nástrojů. Tento příspěvek popisuje výzkum a vývoj brusných nástrojů na bázi anorganických polymerů s využitím vysokopecní strusky. Použitá technologie a možnost využití odpadních materiálů snižuje výrobní náklady a z tohoto důvodu by mohla být cena brusných nástrojů na bázi anorganických polymerů nižší. Vyrobené brousicí segmenty byly testovány v provozních podmínkách a výsledky prokázaly, že brusné nástroje připravené z jílovo-struskové matrice s korundovým brusným zrnem jsou zásadně srovnatelné s materiály s keramickou vazbou.

**Klíčová slova:** využití odpadů, geopolymery, brusné nástroje

## Úvod

Broušení je technologie, která provází lidstvo již od doby kamenné. Používá se k opracování kamene, skla, keramiky, kovů, plastů a mnoha dalších materiálů<sup>1,2</sup>. Nejprve se využívala k broušení volná brusná zrna, později i různé typy přírodních brousků, např. jemnozrnné pískovce nebo pemza. Dnes jsou nejčastěji využívány umělé brusné nástroje (ruční brousky, brusné kotouče, atd.). Stávající matricí pro uchycení brusných zrn je především keramická vazba a pro specifické účely i různé druhy hmot z organických polymerů (pryskyřice fenol/formaldehydové, epoxidové, akrylát-uretanové a jiné)<sup>1</sup>.

Materiály pojené keramickou vazbou mají vynikající mechanické vlastnosti, jsou velmi pevné a odolné, také vykazují vysokou pevnost při broušení. Hlavní nevýhoda keramické vazby spočívá v tom, že výrobek vyžaduje výpal na teploty přesahující 1200 °C. Výpalem se dosahuje vytvoření vazby mezi brusnými zrny a keramickou matricí. Při zvyšujících se cenách za energie je výpal významnou položkou v nákladech výrobního procesu.

Použití materiálů s polymerní organickou vazbou je limitováno teplotou vznikající při broušení, protože při vyšších teplotách dochází ke ztrátě pevnosti materiálu. Oproti tomu je výroba epoxidových brusných nástrojů relativně rychlá, protože nevyžaduje výpal. Všechny typy matric uzavírají brusná zrna korundová, karbidu křemíku a případně diamantová v různých frakcích<sup>1,3</sup>.

Při hledání možnosti úspor výrobních nákladů při zachování užitečných vlastností výrobků byl v rámci projektu Ministerstva průmyslu a obchodu ČR (FR-TI2/390, Program TIP) vypsán grant na nová, nekeramická pojiva s názvem "Výzkum a vývoj nových brusných nástrojů fixovaných hybridním pojivem na bázi anorganických polymerů".

Hlavním úkolem bylo využít předchozí zkušenosti v oblasti syntéz anorganických polymerů (geopolymerů) a najít odpovídající matrici pro různé typy brusných segmentů.

Metoda přípravy anorganických polymerů byla poprvé popsána prof. Gluchovským na Ukrajině v roce 1959<sup>4</sup>. Od roku 1979, po rozpracování teorie anorganické polymerace, jsou tyto hmoty známy díky prof. J. Davidovitsovi jako geopolymery<sup>5</sup>. Geopolymery vznikají hydratací tepelně aktivovaných jílových (převážně dvojvrstvých) surovin alkalickými roztoky ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  nebo  $\text{Ca}^{2+}$ ) za normální teploty a tlaku. Podmínky této reakce byly popsány mnoha autory<sup>6-11</sup>. Bylo zjištěno, že hydratace hliníkového iontu je možná pouze tehdy, je-li přirozeně hexa-koordinovaný iont  $\text{Al}^{3+}$  v jílech tepelnou expozicí transformován na penta, resp. tetra-koordinovaný<sup>12</sup>. Pouze v tomto „aktivovaném“, meta-stabilním stavu se může hliníkový iont hydratovat a propojovat se s tetraedry křemíku za vzniku  $-\text{Si}-\text{O}-\text{Al}^{(+)}-\text{O}-$  vazeb při současném vyvážení negativního náboje hliníkového iontu pozitivním nábojem alkalického kovu (kovu alkalických zemin)<sup>5</sup>. Vazby mezi tetraedry vytvářejí 3D prostorovou síť – polymerace vytvoří během 10 – 12 hodin pevný a odolný materiál.

Vlastnosti výsledného geopolymery jsou ovlivněny zejména použitým jílovým materiálem, parametry jeho tepelné aktivace, typem alkalického aktivátoru ( $\text{Na}^+$  nebo  $\text{K}^+$ ), množstvím a druhem plniva, případně pórovitostí vzniklého materiálu<sup>9,11,13</sup>. Geopolymery mají výborné fyzikální a chemické vlastnosti – vysoká pevnost, hutná mikrostruktura, nízká vyluhovatelnost a vysoká odolnost vůči agresivnímu prostředí. Tyto materiály odolávají i vysokým teplotám (až 1200 °C). Nejvýznamnější výhodou těchto materiálů je jejich schopnost uzavírat do sebe velké množství agregátů (např. písek, kalcit, slída, drcený kámen aj.). Poslední jmenovaná vlastnost byla využita při přípravě brusných nástrojů, kdy uzavíraným agregátem bylo brusné zrna (hnědý nebo bílý korund) v různých frakcích. Bylo vytvořeno několik typů brusných nástrojů s ohledem na typ broušeného materiálu a na technologii broušení. Tyto varianty jsou popsány v tomto příspěvku.

## Experimentální část

### Materiály

Pro přípravu matrice byl zvolen průmyslově vyráběný materiál „Mefisto L05“ (ČLUZ, Nové Strašecí), který zajistí standardní zdroj tepelně aktivovaného jílového materiálu. Jedná se o průmyslově vyráběný produkt na bázi metakaolinu. Dále byla použita vysokopecní struska z kladenské haldy, u které bylo prokázáno, že se jedná o stejnorodý a chemicky stálý materiál. Struska byla namleta na velikost částic 0 – 1 mm.

Pro úpravu výsledných pevností byl vybrán přírodní lupek (Zbůch u Plzně, ČR) ve frakcích 0 – 2 mm. Tento materiál je původem jílovec (vysokým tlakem zpevněný jílový materiál), který nabyl charakter lupku tím, že po odtěžení z nadloží uhelné pánve byl ukládán společně s proplásky a zbytky těžného uhlí na skládky (výše dosahovala až 40 m nad terén), kde tlakem došlo k samovznícení zbytků uhlí a jílovec byl pomalu transformován na přírodní lupek. Rentgenová difrakční analýza tohoto přírodního lupku potvrdila jako majoritní fázi křemen ( $\text{SiO}_2$ ) a minoritní obsahy cristobalitu ( $\text{SiO}_2$ ) a mullitu ( $3\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2$ ). Ve stopách lze nalézt muskovit ( $\text{KAl}_2(\text{AlSi}_3\text{O}_{10})(\text{OH})_2$ ), hematit ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) a dickit ( $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ ). Chemické složení všech použitých materiálů je uvedeno v **tabulce 1**.

Brusným zrnem byl komerčně dodávaný hnědý nebo bílý korund (firma Koltex, s. r. o., Mnichovo Hradiště) ve frakcích F36 (0,355 – 0,850 mm) a F 500 (0,005 – 0,025 mm).

**Tabulka 1: Chemické složení zvolených surovin v hm. % (ZŽ – ztráta žíháním)**

| Materiál/Oxid | $\text{SiO}_2$ | $\text{Al}_2\text{O}_3$ | $\text{CaO}$ | $\text{MgO}$ | $\text{Fe}_2\text{O}_3$ | $\text{K}_2\text{O}$ | $\text{SO}_3$ | ZŽ    |
|---------------|----------------|-------------------------|--------------|--------------|-------------------------|----------------------|---------------|-------|
| Mefisto L05   | 50,28          | 41,99                   | 0,14         | <0,02        | 1,03                    | 0,59                 | 0,21          | 3,65  |
| Struska       | 22,38          | 8,09                    | 37,44        | 3,51         | 2,31                    | 1,26                 | 7,46          | 14,70 |
| Lupek         | 54,69          | 28,63                   | 0,59         | 0,62         | 7,07                    | 3,72                 | 0,73          | 1,60  |

### Příprava vzorků

Jílový materiál Mefisto L05 byl aktivován roztokem alkalických křemičitanů. Směs byla míchána po dobu 10 minut a poté byla přidána vysokopecní struska v poměru 1 : 1,8 (jíl : struska). Po 10 minutách míchání bylo k této jílovo-struskové matrici přidáno brusné zrna a směs byla homogenizována dalších 5 minut. Množství brusného zrna se lišilo podle jednotlivých typů brusných segmentů. Vzniklý materiál byl nalit do forem, jejichž povrch byl zakryt tak, aby se zabránilo vysychání směsi.

Obohacení směsi lupkem mělo za následek snížení pevnosti povrchu získané matrice. Lupek byl smíchán s jílovým materiálem (Mefisto L05) před aplikací alkalického roztoku. Další postup přípravy byl identický jako u směsí, které lupek neobsahovaly.

### Použité metody

#### Rentgenová fluorescenční analýza (XRF)

Chemické analýzy byly naměřeny pomocí rentgen-fluorescenčního analyzátoru Spectro IQ (Kleve, Německo), který umožňuje analýzu hlavních a stopových prvků pevných materiálů. Tento přístroj má terčik vyrobený z palladia, úhel terčíku je 90° od centrálního paprsku a ohnisko má velikost 1 mm x 1 mm. Měření

probíhá v inertní heliové atmosféře. Získaná data byla vyhodnocena pomocí počítačového programu XLabPro. Tento program umožňuje automatické přepočítání prvkového zastoupení ve vzorku na oxidickou formu.

### Rentgenová difrakční analýza (XRD)

Mineralogické složení bylo zkoumáno pomocí rentgenové difrakční analýzy (XRD) na přístroji Philips Source Data digitálním záznamem naměřených intenzit (krok  $0.050^\circ$ , v úhlech od  $3.000$  do  $65.000$ , s využitím Cu-lampy). Naměřená difrakční spektra byla zpracována pomocí programu X'Pert High Score. Bylo provedeno vyhlazení spekter, odečtení pozadí a zjištěny intenzity jednotlivých píků. Pomocí databáze byl zjištěn výskyt jednotlivých typů krystalických fází.

### Rastrovací elektronová mikroskopie (SEM)

Pro analýzu vzorků byl použit elektronový rastrovací mikroskop Quanta 450 a Everhardt-Thornleyův detektor. Měření probíhalo za vysokého vakua ( $4 \cdot 10^{-4}$  Pa).

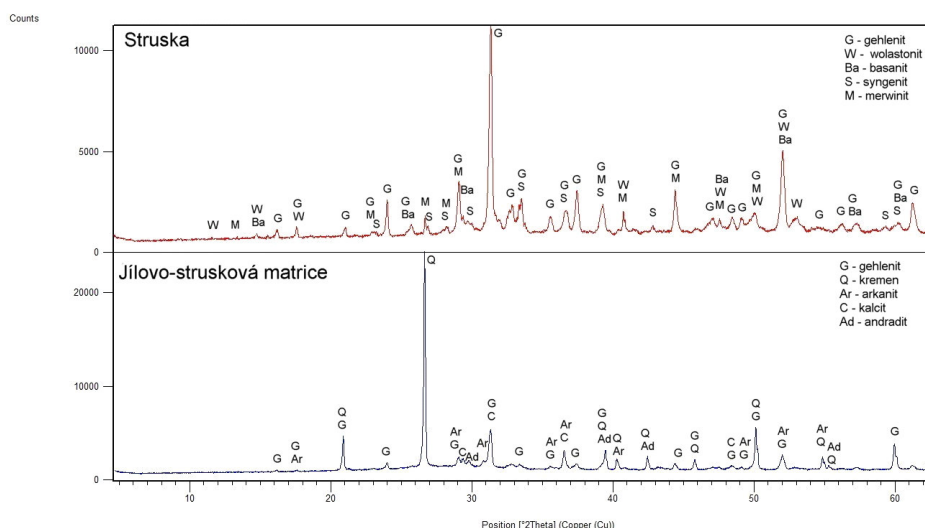
## Výsledky a diskuse

Pro přípravu brusných segmentů bylo nutné, aby brusná zrna korundu byla homogenně zapouzdřena, dále aby hmota byla stabilní a pevná, nikoliv však křehká, a na druhé straně, aby odpovídajícím způsobem uvolňovala zrna brusiva ve chvíli, kdy ztrácejí ostré hrany. Z tohoto důvodu byla věnovaná velká pozornost jílovo-struskové matici, jejíž vlastnosti zásadně ovlivňují výsledné parametry brusných nástrojů.

Základní polymerní hmota vzniklá kombinací jílové složky a strusky byla velmi pevná, tvrdá a ve vodě nerozpustná. Pro přípravu byly použity dvě zásadně se lišící látky – jedna je jílová složka a druhá je odpadní látkou vznikající při výrobě železa (vysokopecní struska) s výrazným podílem gehlenitu. Ten je obecně definován vzorcem  $(\text{Ca}_2\text{Al}(\text{Si}_2\text{O}_7))$ , ale vždy obsahuje jistý podíl Fe a Mg, a část křemíku bývá nahrazena hliníkem. Z tohoto důvodu bylo třeba zjistit stav solidifikátu, tj. vznik nových fází za předpokladu, že gehlenit vstoupí, alespoň částečně, do reakce s alkalizovanou jílovou složkou.

Rentgenová analýza strusky potvrdila (**obrázek 1, horní graf**), že rozhodující složkou vysokopecní strusky je gehlenit ( $\text{Ca}_2\text{Al}(\text{Si}_2\text{O}_7)$ ). Struska dále obsahuje v minoritním zastoupení merwinít ( $\text{Ca}_3\text{Mg}(\text{SiO}_4)_2$ ), basanit ( $\text{CaSO}_4 \cdot 0,5 \text{H}_2\text{O}$ ), syngenit ( $(\text{K}_2\text{Ca}(\text{SO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O})$ ) a wolastonit ( $\text{CaSiO}_3$ ).

**Obrázek 1: Rentgenové analýzy strusky a jílovo-struskové matrice**



Při porovnání analýzy strusky a jílovo-struskové matrice (**obrázek 1, spodní graf**) bylo zjištěno, že původní mineralogické složení vysokopecní strusky se zásadně mění. Struska přímo vstupuje do reakce s alkalizovaným podílem tepelně upraveného jílu. Obsah gehlenitu je výrazně snížen, objevuje se nová fáze arkanit ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) a výrazně vystupuje podíl křemene ( $\text{SiO}_2$ ), dále je přítomen v malé míře kalcit ( $\text{CaCO}_3$ ) a andradit ( $\text{Ca}_3\text{Fe}_2(\text{SiO}_4)_3$ ).

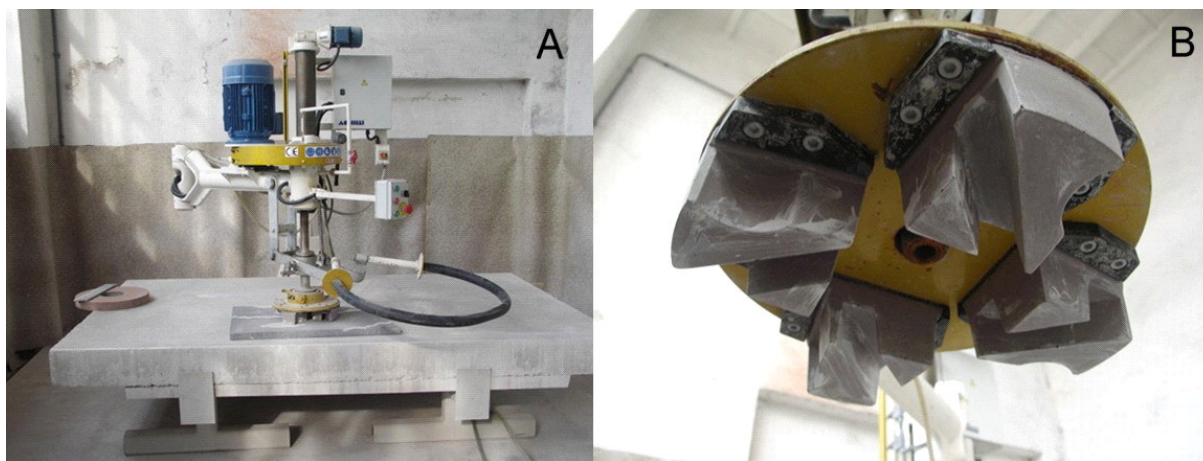
Tato jílovo-strusková matrice byla použita k přípravě brusných segmentů pro broušení a leštění kamene a pro broušení kovů.

### **Poloprovozní broušení kamene**

Broušení kamene probíhá na provozním stroji (**obrázek 2A**), kde jsou čtyři brusné segmenty umístěny do brousící hlavy (**obrázek 2B**). Broušení probíhá za mokra rychle rotující hlavou, kdy voda je přiváděna otvorem uprostřed brousící hlavy. Rychlost se pohybuje od 400 do 500 otáček za minutu v závislosti na tvrdosti broušeného materiálu (čím tvrdší materiál, tím rychlejší otáčky). Při použití segmentů s větší velikostí brusných zrn dochází k hrubému obrušování kamene. V případě malých frakcí je možné toto zařízení využít k finálnímu jemnému broušení nebo leštění kamene.

Z jílovo-struskové matrice byly vytvořeny brusné segmenty s obsahem 36 hm. % hnědého korundu F36. Počáteční testy ukázaly, že toto složení je příliš tvrdé a nedochází k uvolňování otupených brusných zrn. Proto byla pevnost jílovo-struskové matrice snížena přidáním 5 hm. % přírodního lupku. Obsah hnědého korundu zůstal stejný (36 hm.%). Broušení takto připravenými brusnými segmenty bylo efektivnější a docházelo k uvolňování brusných zrn.

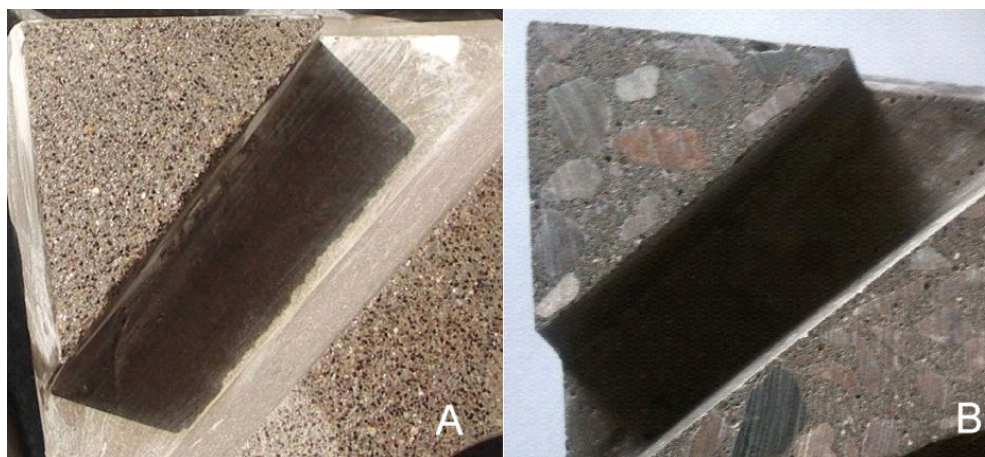
**Obrázek 2: Brousící zařízení a detail brousící hlavy**



Po konzultacích s kameníky jsme využili jejich mnohaleté zkušenosti, a proto byly na základě těchto konzultací připraveny zvláštní geopolymerní kompozity. U těchto kompozitů je část korundového zrna nahrazena hrubozrnným kamenem (žula nebo vápenec). Brusný segment je tak složen z matrice a brusného zrna, přičemž brusný, případně leštící efekt je umocněn složkou hrubě mletých kamínků. **Obrázek 3** ukazuje brusné segmenty po broušení (A – směs s hnědým korundem, B – směs s hnědým korundem obohacená o hrubozrnný vápenec). Na fotografiích jsou jasně viditelná brusná zrna a jejich rovnoměrné umístění v geopolymerní jílovo-struskové matrici.



**Obrázek 3: Brusné segmenty po broušení**



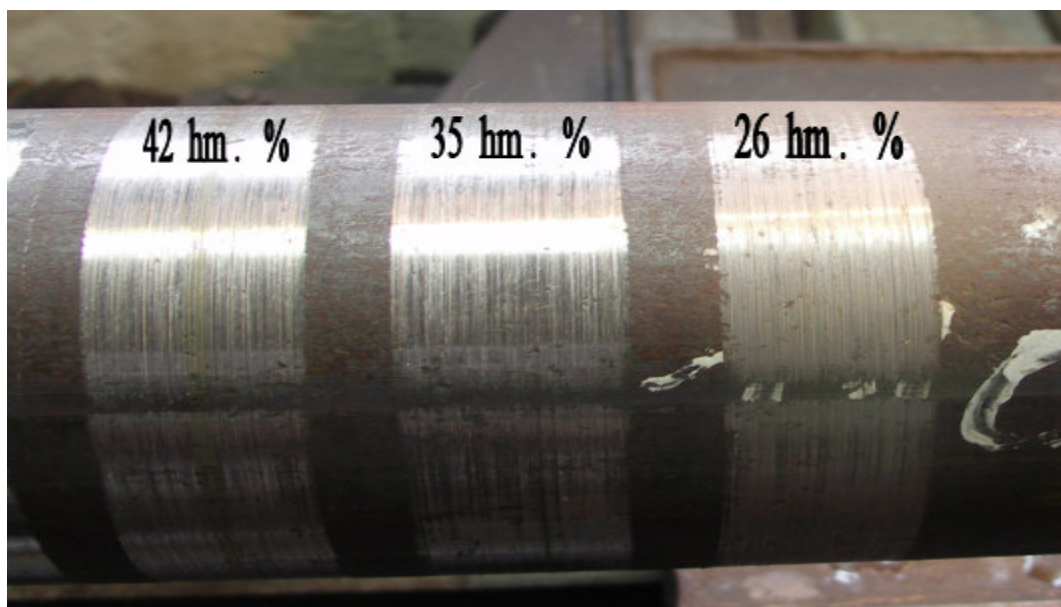
### **Broušení kovu na soustruhu**

Testování probíhalo na univerzálním hrotovém soustruhu na běžné železné trubce o průměru 12 cm. Železná trubka nebyla před použitím ošetřena a vykazovala značně zrezivělý povrch. Brusné segmenty o rozměrech 2,5 x 1 x 10 cm byly upnuté do suportu přístroje. Otáčky soustruhu byly 224 ot/min. Úbytek brusného segmentu byl u všech vzorků konstantní (2,1 mm). Povrch broušené plochy i brusný element byly chlazený vodou.

Pro tento způsob broušení byly připraveny segmenty z jílovo-struskové matrice s přidavkem hnědého nebo bílého korundu (frakce F36 a F500).

**Obrázek 4** dokumentuje brusné stopy způsobené brusnými segmenty s hnědým korundem s obsahem zrn 26 hm. %, 35 hm. % a 42 hm. % (frakce F36). Je patrné, že nejnižší obsah brusných zrn (26 hm. %) není dostatečný pro brousící efekt. Při porovnání brusných stop materiálů s obsahem zrn 35 hm. % a 42 hm. % bylo zjištěno, že obsah brusného zrna 42 hm. % je zbytečně vysoký a prakticky stejného efektu bylo dosaženo při plnění 35 hm. %.

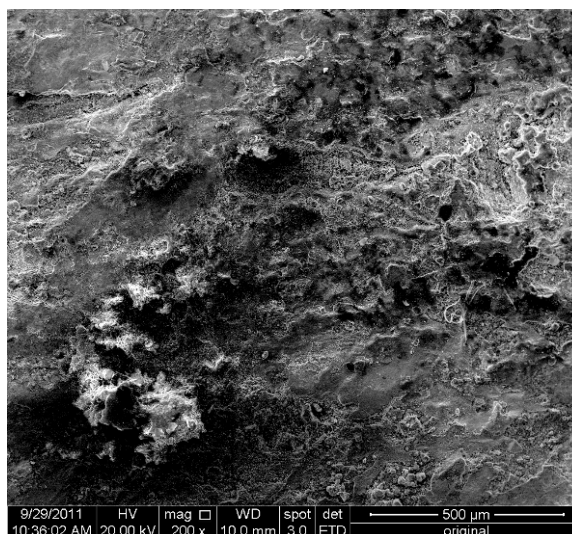
**Obrázek 4: Test broušení na soustruhu**



Další fázi zkoumání brusných plošek probíhalo na elektronovém mikroskopu ve vysokém vakuu ( $4 \cdot 10^{-4}$  Pa). Pro tyto účely byly vyříznuty z trubky kotoučky o síle 2,5 cm a z nich pak byly připraveny vzorky o velikosti 2,5 x 2,5 x 1,2 cm. Pro srovnání je uvedena analýza originálního nebroušeného

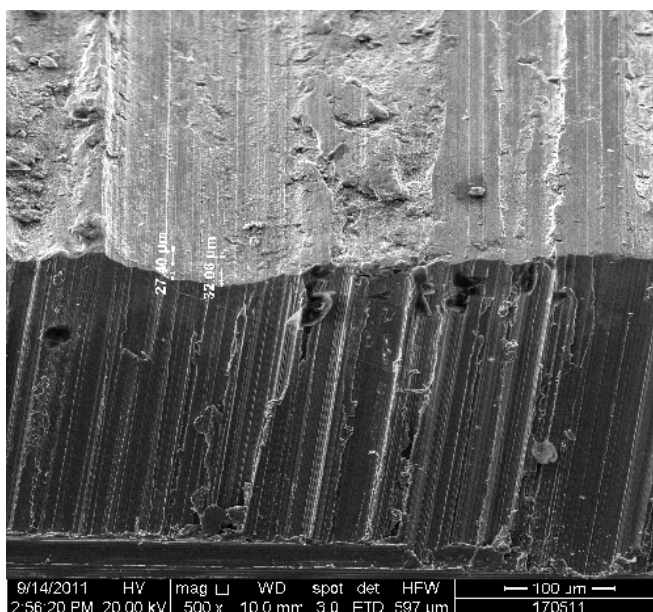
povrchu. Na **obrázku 5** je povrch železné trubky ve stavu před broušením pořízený elektronovým mikroskopem, kde je viditelný především vysoce narušený a zkorodovaný povrch.

**Obrázek 5: Detail povrchu železné trubky před broušením (zvětšeno 200 x)**



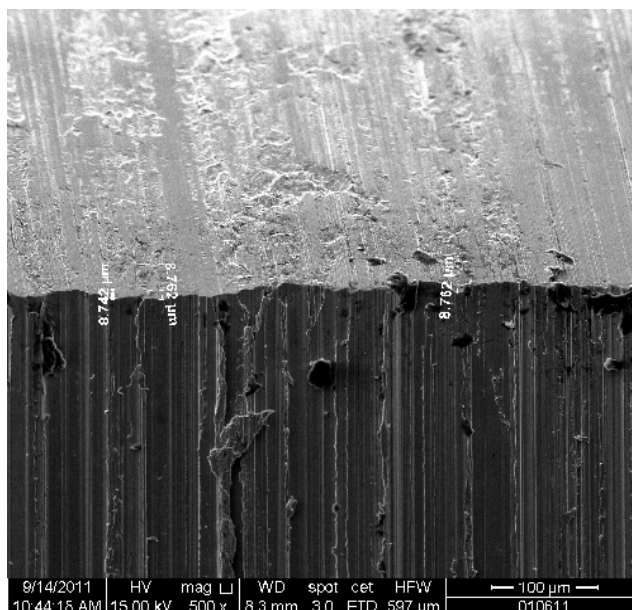
Následující **obrázek 6** ukazuje povrch železné trubky po broušení segmentem s obsahem 35 hm. % hnědého korundu F36. Na snímcích z mikroskopu byly zachyceny i výšky vrypu, resp. účinek brusného zrna na železném neupraveném povrchu. Výšky vrypů se pohybují od 27,4 μm do 32 μm.

**Obrázek 6: Povrch železné trubky broušené hnědým korundem F36 (zvětšeno 500 x)**



Pro porovnání je zde uveden i **obrázek 7**, který dokumentuje účinek brusného segmentu vytvořeného z jílovo-struskové matrice s přidavkem 24 hm. % jemného bílého korundu (frakce F500). Stopy po broušení jsou velmi rovnoměrné a bílý korund zanechává velmi jemný vryp na materiálu. Výšky vrypů jsou od 8,4 μm do 8,6 μm.

**Obrázek 7: Povrch železné trubky broušené bílým korundem F500 (zvětšeno 500 x)**



Z **obrázků 5, 6 a 7** vyplývá, že pro počáteční broušení je vhodné použít brusné segmenty s hrubším zrnem a pro superfinišování frakce jemné. Experimentální testy potvrdily brousící vlastnosti připravených materiálů.

## Závěr

Provedené experimenty potvrdily, že lze využít odpadní materiály k přípravě geopolymerních matic, kde se použitá vysokopecní struska přímo zapojí do reakce za vytvoření pevného a odolného produktu.

Dobře připravená a vyztužená geopolymerní matrice v kombinaci s rovnoměrně distribuovanými brusnými zrny vytváří efektivní brusné segmenty, kdy matrice během broušení uvolňuje otupená brusná zrna a nahrazuje je novými. Pevnost matrice může být snadno upravena přidávkou dalších látek podle požadavků jednotlivých brousících technologií, např. nižší pevnost pro broušení kamene. Druh, množství a obsah brusných zrn závisí na zvolené technologii broušení a typu broušeného materiálu.

Bylo dokázáno, že brusné nástroje připravené z jílovo-struskové matrice v kombinaci s brusným zrnem jsou srovnatelné s materiály s keramickou vazbou. Cena brusných nástrojů na bázi anorganických polymerů by mohla být výrazně nižší, protože pevná matrice vzniká bez výpalu.

## Poděkování

*Příspěvek vznikl v rámci řešení projektu Ministerstva průmyslu a obchodu ČR FR–TI2/390/TIP.*

## Literatura

1. Klocke F.: *Manufacturing Processes: Grinding, Honing, Lapping*. Springer-Verlag, Berlin 2009.
2. Zhang B., Zheng X.L., Tokura H., Yoshikawa M.: *J. Mater. Process. Technol.* 132, 353 (2003).
3. Mamalis A. G., Horvath M., Grabchenko A. I.: *J. Mater. Process. Technol.* 97, 120 (2000).
4. Glukhovskii V. et al.: *Russ. J. Concr. Reinf. Concr.* 3, 12 (1975).
5. Davidovits J.: *J. Therm. Anal. Calorim.* 37, 1633 (1991).
6. Palomo A., Grutzeck M., Blanco M. T.: *Cem. Concr. Res.* 29, 1323 (1999).
7. Roy D. M.: *Cem. Concr. Res.* 29, 249 (1999).
8. Palomo A., Blanco-Varela M.T., Granizo M.L., Puertas F., Vazquez T., Grutzeck M.W.: *Cem. Concr. Res.* 29, 997 (1999).
9. Xu H., Van Deventer J.S.J.: *Int. J. Miner. Process.* 59, 247 (2000)

10. Fernández-Jiménez A., Palomo A.: *Cem. Concr. Res.* 35, 1984 (2005).
11. Lee W.K.W., Van Deventer J.S.J.: *Langmuir* 19, 8723 (2003)
12. Sanz J., Madani A., Serratoza J. M.: *J. Am. Ceram. Soc.* 71, C418 (1988).
13. Perná, I., Hanzlíček, T., Steinerová, M., Straka, P.: *Ceram.-Silik.* 53, 48 (2009).

## **Utilization of waste materials for preparation of abrasive tools on base of inorganic polymers**

***Ivana Perná, Tomáš Hanzlíček***

*Institute of Rock Structure and Mechanics of the Czech Academy of Sciences, v.v.i.*

### **Summary**

*Nowadays the lowering of manufacturing costs is essential in all industrial companies and even in the abrasive tool production. This paper describes the research and development of new abrasive tools on base of inorganic polymers using waste blast furnace slag. Used technology and possibility of utilization of waste materials decrease manufacturing costs and for that reason the price of abrasive tools fixed by inorganic polymer is considerably lower. Produced abrasive segments were tested in semi-industrial condition and the results proved that abrasive tools prepared from clay-slag matrix are comparable with ceramic-bonded materials.*

**Keywords:** *waste material utilization, geopolymers, abrasive tools*



## Produkční proces lipofilních kvasinek v rámci vývoje biologického surfaktantu

**Kristina TURNVALDOVÁ<sup>a</sup>, Marek ŠÍR<sup>b</sup>, Zuzana Honzajková<sup>b</sup>, Jiří MIKEŠ<sup>a</sup>,  
Juraj GRÍGEL<sup>a</sup>, Miroslav MINAŘÍK<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>EPS, s. r. o., V Pastouškách 205, 686 04 Kunovice

E-mail: eps@epssro.cz

<sup>b</sup>VŠCHT Praha, Fakulta technologie ochrany prostředí, Technická 5, Praha 6, 166 28

E-mail: sirm@vscht.cz

### Souhrn

Povrchově aktivní látky produkované biologickým činitelem představují potenciálně velmi užitečný směr inovace dekontaminační technologie označované jako sanační promývání. Vedle dnes již technologicky uchopených bakteriálních produktů (rhamnolipidy) se ukazuje, že obdobně významné mohou být povrchově aktivní produkty syntetizované tzv. lipofilními kvasinkami. Tato práce představuje úsek řešení projektu, na jehož konci bude biologicky produkovaný preparát aplikovatelný v rámci promývání matric kontaminovaných nepolárními látkami. Byla provedena studie schopností vybraného souboru lipofilních kvasinek metabolicky využívat a extracelulárně emulzifikovat modelový typ nepolární látky. Dále byly testovány a optimalizovány jednotlivé fáze procesu, které v rámci produkce biologického surfaktantu touto cestou hrají důležitou roli.

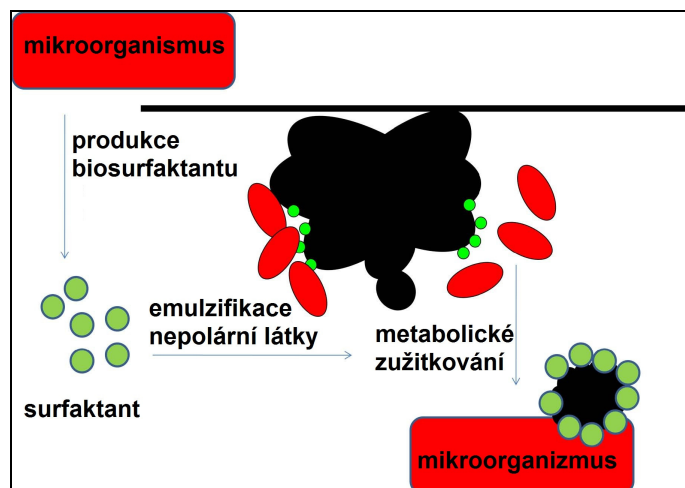
**Klíčová slova:** lipofilní kvasinky, biologický surfaktant, sanační promývání, zdroj uhlíku

### Úvod

Kontaminace různých matric životního prostředí nepolárními látkami je závažný problém nejenom ekologický, ale také technický. Důvodem je tvorba fázových rozhraní, zejména v systému kapalina-kapalina na pozadí značně heterogenních prostředí, jakým prostředí horninové ve vazbě na podzemní vodu bezesporu je. Nicméně týká se to i jiných typů odpadů, např. vytěžených sedimentů nebo půdy, popř. znečištěných sanačních sutí. Konkrétní odpovědi na překlenutí uvedených problémů je aplikace povrchově aktivních látek. Nejšířeji používané jsou synteticky vyráběné surfaktanty, avšak v poslední době stále více sílí důraz na minimalizaci vedlejšího zatížení životního prostředí, jimž jsou v mnoha případech neúměrně velké dávky těchto detergentů. Za důvod lze na prvním místě označit negativní vliv surfaktantů na biologické membrány, což může mít za následek poškození nebo i smrt mnoha organismů.

### Lipofilní kvasinky

Kvasinky jsou heterotrofní eukaryotní organismy, řadící se do říše hub (*Fungi*). Průmyslově využívány jsou zejména pro svou schopnost zkvašovat sacharidy na etanol a oxid uhličitý. Některé druhy kvasinek jsou schopny využívat jako zdroj uhlíku také látky nepolárního charakteru, jako například ropu nebo oleje rostlinného původu. Dostupnost nepolárních hydrofobních substrátů pro mikroorganismy žijící ve vodném prostředí je však omezená, proto některé druhy kvasinek produkují povrchově aktivní látky, které jim umožňují překonat fázové rozhraní mezi prostředím a nepolárním substrátem a tento substrát metabolizovat (**oObrázek 1**).



**Obrázek 1: Zjednodušené schéma procesů spojených s využitím nepolární látky za pomoci mikrobiálních biosurfaktantů**

Známými producenty biologických povrchově aktivních látek jsou rody *Candida* sp., *Yarrowia* sp., *Debaryomyces* sp., *Rhodotorula* sp. a další. Striktně aerobní kvasinka *Yarrowia lipolytica* (původně anamorfní druh *Candida lipolytica*) ochotně odbourává ropné produkty, n-alkany a rostlinné oleje. *Candida bombicola* má dle všech dostupných pramenů obrovský potenciál v tvorbě sophorolipidů<sup>1,2</sup>. Modelová kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*, využívaná v potravinářském průmyslu, je také schopna metabolizovat hydrofobní substráty za pomoci svých povrchově aktivních látek<sup>3</sup>.

### Kvasinkové surfaktanty

Surfaktanty jsou látky, které vykazují jak hydrofilní, tak hydrofobní charakter. Mezi jejich nejvýznamnější vlastnosti patří schopnost snižovat povrchové napětí akumulací na fázové rozhraní dvou navzájem nemísitelných kapalin, dále pak stabilizace emulzí a v neposlední řadě zvyšování rozpustnosti hydrofobních, nerozpustných organických látek ve vodném prostředí.

Známější jsou tyto látky produkovány synteticky, ale mnoho mikroorganismů je schopných produkovat tyto látky za účelem překonání fázového rozhraní mezi nepolárním zdrojem uhlíku a vodným prostředím, ve kterém žijí. Výhodou biologicky produkováných surfaktantů je jejich nižší toxicita, vyšší biodegradabilita, lepší slučitelnost s prostředím, vyšší selektivita a specifická aktivita při extrémních podmínkách (teplota, pH a salinita)<sup>4</sup>. Atraktivní je také možnost produkce těchto látek z obnovitelných surovin (odpadní rostlinné oleje apod.)<sup>5</sup>.

V literatuře je popsáno mnoho biologických povrchově aktivních látek zejména bakteriálního původu, nicméně tuto schopnost mají i eukaryotní organismy – vláknité houby a lipofilní kvasinky. Nespornou výhodou kvasinek oproti bakteriím je jejich statut netoxických a nepatogenních organismů (GRAS = generally regarded as safe), což umožňuje jejich využití v mnoha odvětvích (potravinářství, farmaceutický průmysl, environmentální technologie)<sup>6</sup>.

Biosurfaktanty se na rozdíl od synteticky vyráběných surfaktantů, tříděných podle povahy svých hydrofilních skupin, třídí podle chemického složení a mikrobiálního původu. Hydrofilní část se obecně skládá z aminokyselin nebo peptidových aniontů či kationtů, mono-, di- nebo polysacharidů. Hydrofobní část je tvořena nasycenými, nenasycenými nebo mastnými kyselinami. Hlavní skupiny biosurfaktantů jsou glykolipidy, lipopeptidy a lipoproteiny, fosfolipidy a mastné kyseliny a polymerní surfaktanty.

Glykolipidy se skládají z dlouhého řetězce mastné kyseliny a mono-, di- a tetra sacharidů (glukóza, manóza, galaktóza, kyselina glukuronová, rhamnosa, sophorosa a sulfát galaktózy). Nejznámějšími glykolipidy jsou rhamnolipidy (*Pseudomonas aeruginosa*), trehalolipidy (*Rhodococcus erythropolis*) a sophorolipidy (*Candida bombicola*, *C. apicola*)<sup>7,8</sup>.

Lipopeptidy a lipoproteiny jsou cyklické formy surfaktantů s antibiotickými účinky – gramicidiny (*Bacillus brevis*). Do této skupiny patří např. viscosin (*Pseudomonas fluorescens*).

Polymerní surfaktanty mají svou hydrofilní část složenou z heteropolysacharidů. Nejlépe prozkoumanými surfaktanty této skupiny jsou emulsan (*Acinetobacter* sp.), liposan (tvořený z 83 %

sacharid + 17 % protein, *Y.lipolytica*), sacharid-protein-lipidové komplexy (*Pseudomonas fluorescens*, *P.aeruginosa*, *Debaryomyces polymorphus*) nebo mannoprotein, tvořený z 44 % manózou a z 17 % proteinem a produkovaný *Saccharomyces cerevisiae*<sup>7,8</sup>.

### Podmínky pro produkci biosurfaktantů

Mezi faktory ovlivňující produkci biosurfaktantu patří zdroj uhlíku, dusíku a přítomnost biogenních prvků<sup>8</sup>. Produkci ovlivňují ve svém důsledku i environmentální faktory působící na růst buněk a jejich aktivitu jako je pH, teplota, míchání a dostupnost kyslíku. V případě zdroje uhlíku jsou obvykle sledovány sloučeniny rozpustné ve vodě (glycerol, glukosa, mannitol, ethanol) a sloučeniny ve vodě nerozpustné jako n-alkany, olivový olej, parafín atd. Studie, prováděné za účelem sledování parametrů zvyšování produkce sophorolipidů, uvádějí výhodnost použití dvou různých zdrojů uhlíku v médiu, jeden hydrofilní a druhý hydrofobní povahy<sup>9</sup>.

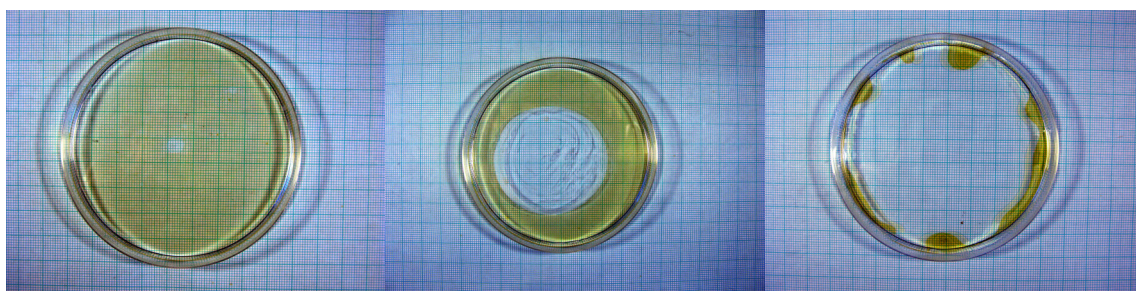
### Aplikace biosurfaktantů

Surfaktanty produkované biologickou cestou jsou atraktivními látkami s širokým spektrem potenciálních aplikací. Největší potenciál mají biosurfaktanty pravděpodobně v bioremediačních technologiích a jako pokročilá technologie zvýšení těžby ropy. Široké pole možností se otvírá i v oblasti výroby detergentů a využití emulzifikačních možností v potravinářství, farmaceutickém a kosmetickém průmyslu.

## Experimentální část

Za účelem zvýšení dostupnosti nopolárního zdroje uhlíku pro své metabolické zpracování produkují mikroorganismy své vlastní povrchově aktivní látky. Míru produkce těchto látek lze do značné míry kvantifikovat právě jednoduchým způsobem, který umožňuje technika „oil spreading“, která spočívá v pozorování porušení fázového rozhraní mezi povrchem vody a ropy v případě, že je v testovaném vzorku biosurfaktant přítomen<sup>10</sup>.

Pro metodu je klíčové rozptýření ropné fáze po povrchu demineralizované vody (30 ml) v Petriho misce. Ropa (15  $\mu$ l) byla dávkována pipetou do středu misky a následně bylo do středu nadávkováno malé množství (5  $\mu$ l) vzorku (roztoku kultivačního média zbaveného buněk kvasinek). Následně byla kvantifikována zóna vyjasnění změřením průměru čiré zóny reprezentující míru emulzifikace a částečně i degradace ropy (**Obrázek 2**). Pomocí získaných výsledků pak byly porovnávány kvasinky z původně poměrně obsáhlého souboru a následně byla tato metoda využita i pro sledování vývoje tvorby biosurfaktantu v produkčních kultivacích u vybraných kvasinek.



**Obrázek 2: Možnosti tvorby čirých zón na rozhraní ropa – demineralizovaná voda.**

### Soubor mikroorganismů

Soubor testovaných mikroorganismů představoval celkem devět lipofilních kvasinek. Jednalo se o tři zástupce rodu *Candida* (*C.bombicola*, *C.maltosa*, *C.utilis*), dále pak *Debaryomyces hansenii*, *Geotrichum candidum*, *Lipomyces starkeyi* a *Yarrowia lipolytica*. Tyto kvasinky využívají při kultivaci v kapalném médiu rostlinný olej jako jediný – lipofilní – zdroj uhlíku bez větších problémů. Nároky kvasinek *Rhodotorula mucilaginosa* a *Saccharomyces cerevisiae* jsou o něco vyšší, k jejich rozvoji

a růstu je potřeba ještě druhý zdroj uhlíku v podobě glukózy. Na základě předběžných testů (Oil spreading test) a výtěžků extrakcí byla jako vhodný producent biosurfaktantu zvolena kvasinka *Yarrowia lipolytica*. a výsledky prezentované v této studii se tak vztahují k této kvasince.

### Kultivace a příprava experimentu

Kvasinky byly kultivovány v Erlenmeyerových baňkách (500 ml) v pracovním objemu 300 ml minerálního média (BSM = Basal Salt Medium, složení viz **Tabulka 1**).

**Tabulka 1: Složení minerálního média BSM**

|                      |                        |                         |                         |
|----------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| $K_2HPO_4$           | 0,17 g.l <sup>-1</sup> | stopové prvky:          | 1,00 ml.l <sup>-1</sup> |
| $KH_2PO_4$           | 0,13 g.l <sup>-1</sup> | $MnCl_2 \cdot 4H_2O$    | 1,00 g.l <sup>-1</sup>  |
| $(NH_4)_2SO_4$       | 0,71 g.l <sup>-1</sup> | $CaCl_2 \cdot 2H_2O$    | 0,26 g.l <sup>-1</sup>  |
| $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ | 0,34 g.l <sup>-1</sup> | $FeSO_4 \cdot 7H_2O$    | 0,60 g.l <sup>-1</sup>  |
| pH                   | 6,5                    | $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ | 2,00 g.l <sup>-1</sup>  |

Zdrojem uhlíku byl buď slunečnicový olej, ropa nebo letecký petrolej. Testy byly nejprve prováděny v médiu s jedním – lipofilním – zdrojem uhlíku BSM (složení viz **Tabulka 1**) s jedním – lipofilním – zdrojem uhlíku, pro srovnání pak aplikována kombinace lipofilního a hydrofilního zdroje uhlíku, kdy byla spolu s olejem v médiu použita i glukóza (složení médií viz **Tabulka 2**).

**Tabulka 2: Složení médií s BSM – lipofilní zdroje uhlíku**

| Médium | Glukóza              | Olej                 | Ropa                 | Letecký petrolej     |
|--------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| BSM 1C | -                    | 10 g.l <sup>-1</sup> | -                    | -                    |
| BSM 2C | 10 g.l <sup>-1</sup> | 10 g.l <sup>-1</sup> | -                    | -                    |
| BSM R  | -                    | -                    | 10 g.l <sup>-1</sup> | -                    |
| BSM LP | -                    | -                    | -                    | 10 g.l <sup>-1</sup> |

Na základě sledování růstových faktorů (OD a CFU), měření čirých zón a následných získaných výtěžků biosurfaktantu pomocí extrakce byla u kvasinky *Yarrowia lipolytica* zjištěna jednoznačná preference rostlinného oleje. Testovaná kultivační média byla doplněna o další varianty, jako médium YEPG (YE = kvasničný extrakt (z angl. yeast extract), P = pepton, G = glukóza) s rostlinným olejem a jeho modifikace YEGO (O = olej) nebo YEGR (R = ropa). Složení těchto médií je uvedeno v **tabulce 3**.

**Tabulka 3: Složení médií s kvasničným extraktem**

| Médium  | Kvasničný extrakt   | Pepton                | Glukóza               | Lipofilní zdroj C          |
|---------|---------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------|
| YEPG    | 1 g.l <sup>-1</sup> | 2,5 g.l <sup>-1</sup> | 10 g.l <sup>-1</sup>  | olej 10 g.l <sup>-1</sup>  |
| YEGO    | 1 g.l <sup>-1</sup> | -                     | 10 g.l <sup>-1</sup>  | olej 10 g.l <sup>-1</sup>  |
| YEGR    | 1 g.l <sup>-1</sup> | -                     | 10 g.l <sup>-1</sup>  | ropa 10 g.l <sup>-1</sup>  |
| YEGO100 | 1 g.l <sup>-1</sup> | -                     | 100 g.l <sup>-1</sup> | olej 100 g.l <sup>-1</sup> |

Zajištění podmínek stimulujících produkci biosurfaktantů je důležitým prvkem určujícím každou kultivaci. Sledovanými parametry byly teplota, pH a potřeba kyslíku.

Z Erlenmayerových baněk s kultivačním médiem a testovanou kulturou byl pipetou odebrán 1 ml buněčné suspenze do mikrozkuumavek typu Eppendorf. Mikrozkuumavky byly centrifugovány po dobu 15 minut při 10 000 RPM.

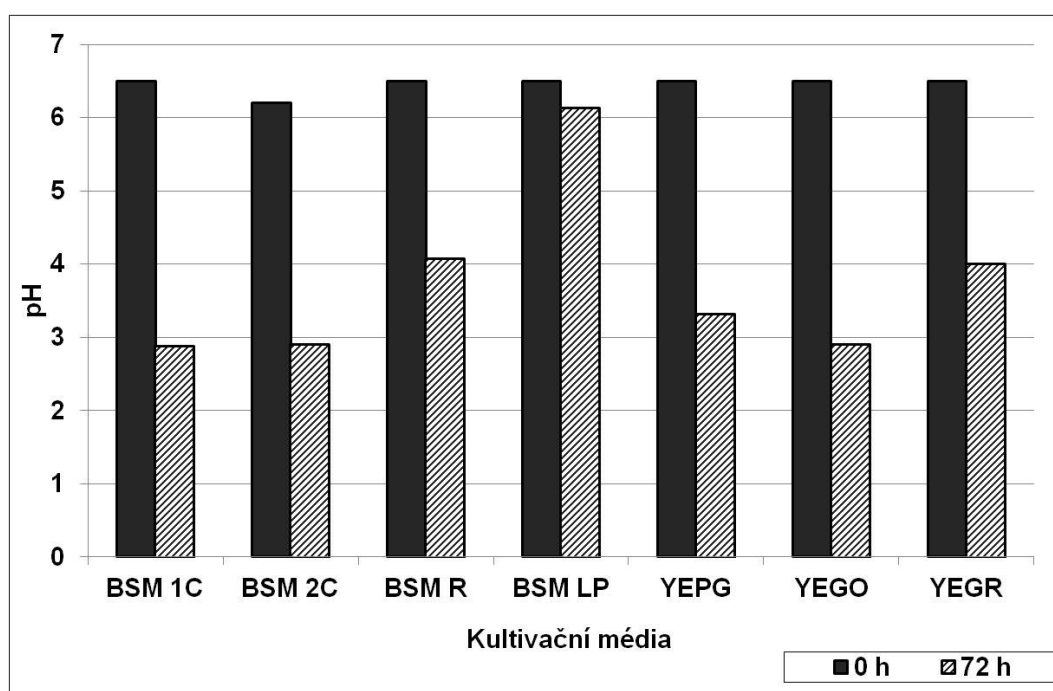
Měření čiré zóny probíhalo vždy ve třech paralelních miskách pro každý roztok biosurfaktantu získaný z devíti taxonů ve stejné růstové fázi, což bylo ověřeno měřením optické denzity při 550 nm a počítáním kolonií (kontrolní metoda). Byla pozorována tvorba čiré zóny, měřen její průměr a byla pořízena fotodokumentace misek v režimu makro.

## Výsledky a diskuse

Ze souboru kvasinek byla po sérii testů metodou Oil spreading a také na základě výtěžků prvních provedených extrakcí vybrána kvasinka *Yarrowia lipolytica*. Výtěžky extrakcí u ostatních kvasinek byly velmi nízké (stopová množství pod  $50 \text{ mg.l}^{-1}$ ) a zatím se nepodařilo vyvinout účinnější metodu extrakce pro tyto typy biosurfaktantů.

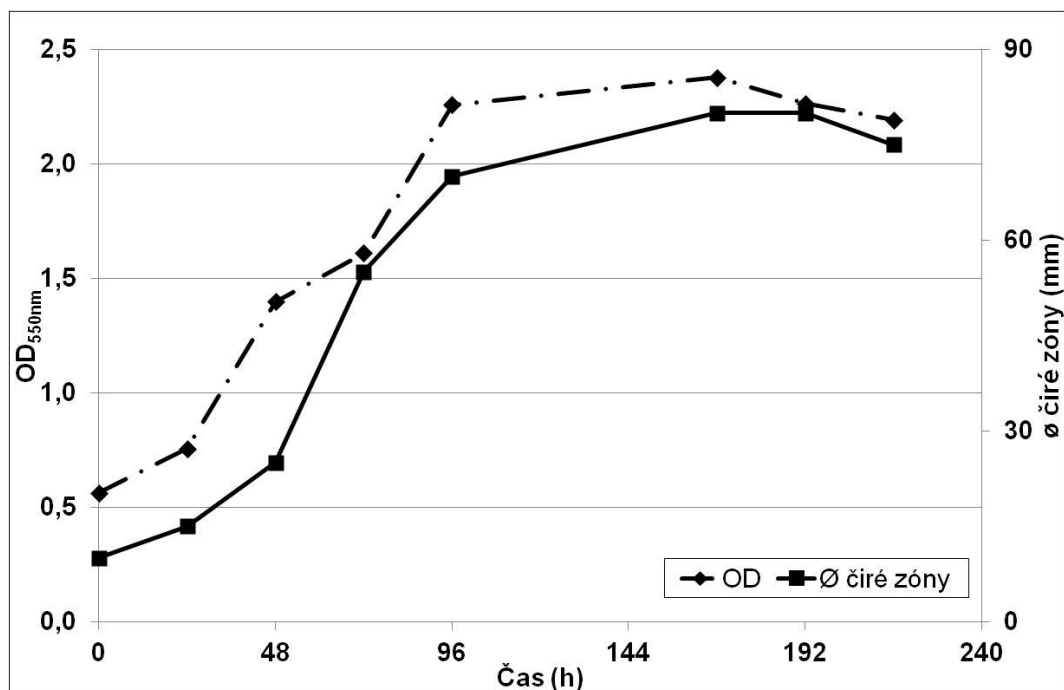
Kultivační podmínky (teplota, pH a potřeba kyslíku) byly ověřovány vsádkovými experimenty. Kvasinky jsou fakultativně anaerobní mikroorganismy, proto je třeba zajistit maximální vzdušnění produkčního média. Z prvních vsádkových experimentů byla určena teplota kultivace  $20 - 25^\circ\text{C}$ . Za této teploty jsou tvořeny biosurfaktanty a zároveň je zohledněn ekonomický aspekt – vyšší teploty by samozřejmě znamenaly vyšší náklady.

U kvasinek obecně dochází v průběhu kultivace k okyselování prostředí, typický průběh pH je pokles z 6,5 na hodnotu 3 během 72 hodin (**Obrázek 3**). V literatuře se přístupy liší, některé prameny uvádí vhodnost regulace pH na hodnotu 6,5<sup>1</sup> a naopak jiné nechávají kultivaci volný průběh<sup>8</sup>. Během experimentů s udržováním pH na hodnotě 6,5 došlo v našem případě opakovaně ke kontaminaci kultivace, výtěžky extrakcí byly minimální.



**Obrázek 3: Pokles pH v kultivačním médiu – *Yarrowia lipolytica***

Tvorba čirých zón v čase byla sledována spolu s vývojem růstových fází. Z experimentů, které probíhaly v bioreaktoru po dobu 9 dní, vyplývá, že přítomnost povrchových látek lze indikovat jednoduchým Oil spreading testem a že jejich obsah v produkčním médiu stoupá zejména na konci exponenciální růstové fáze a ve fázi stacionární (**Obrázek 4**). Ke zvýšené produkci ve stacionární fázi růstu jsou kvasinky zřejmě donuceny z důvodu limitace zdrojem uhlíku, dusíku a mikroelementy. Tvorba povrchově aktivních látek za účelem získání co nejvíce substrátu pak může znamenat konkurenční výhodu.

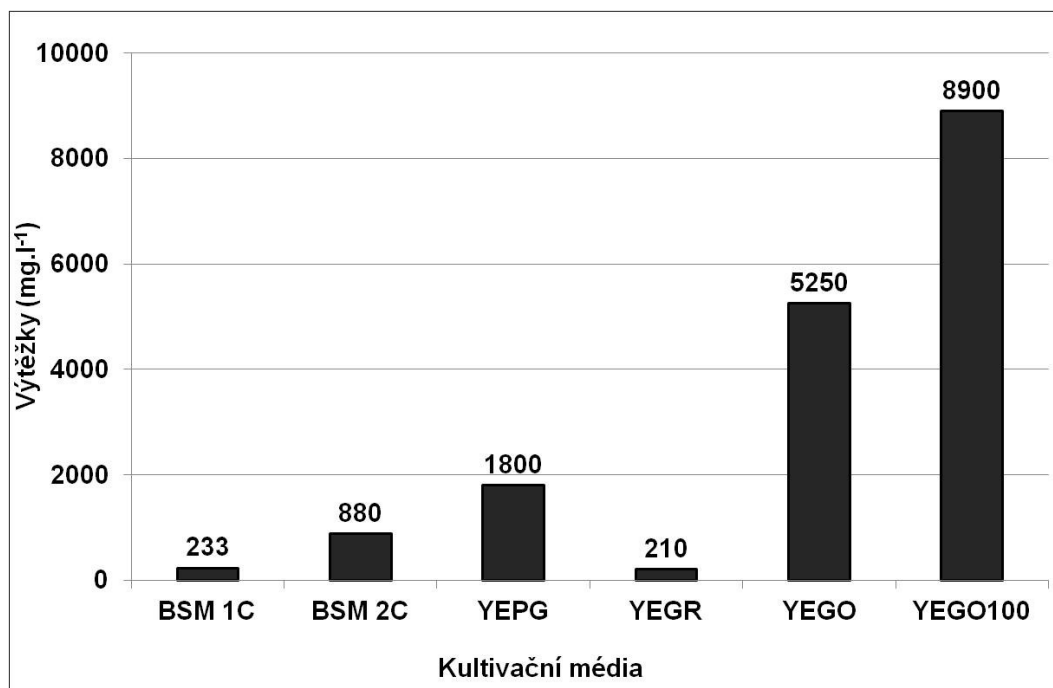


**Obrázek 4: Tvorba čirých zón a růstové fáze v čase – *Yarrowia lipolytica***

Po ukončení kultivace postupuje kultivační médium do procesu separace buněk centrifugací. Cílem centrifugace je odstranění biomasy, popřípadě získání dalších povrchově aktivních látek obsažených v buňkách kvasinek. Proto je vhodné zvolit vysokou rychlost otáček po delší dobu (10 000 RPM po dobu 15 minut). Biomasa je oddělena a zlikvidována, získaný supernatant je odlit do sběrné nádoby a vstupuje do dalšího kroku, kterým je extrakce.

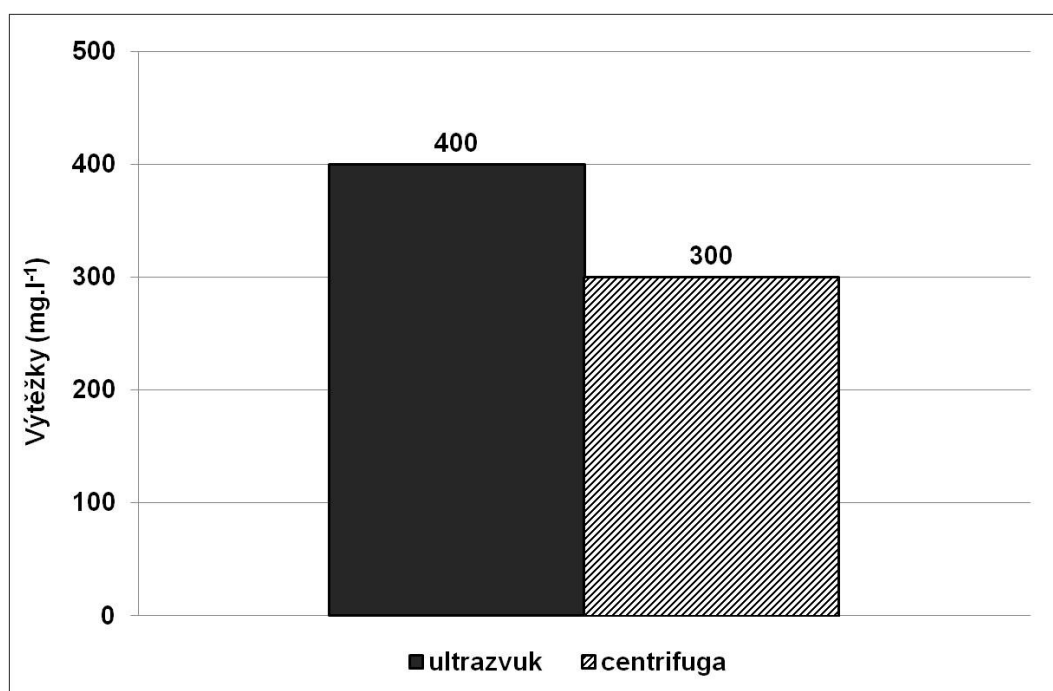
Pro získání čistého produktu je nutné provést extrakci roztoku, který prošel úpravou na centrifuze či ultrazvuku. Extrakce byly prováděny s organickými rozpouštědly (ethylacetát, chloroform) nebo směsnými rozpouštědly (ethylacetát + isopropanol, chloroform + methanol) s následným purifikačním krokem. Alternativou byla kyselá extrakce s následným vymrazováním. Největších výtěžků bylo dosaženo třístupňovou extrakcí ethylacetátem s následným pětinasobným promýváním hexanem a odpařením na rotační vakuové odparce.

Na **obrázku 5** jsou znázorněny rozdíly ve výtěžcích biosurfaktantu získaného extrakcí do ethylacetátu podle složení kultivačního média, popř. použitého lipofilního zdroje uhlíku. Z porovnání vyplývá, že produkce biosurfaktantu je stimulována v médiích se dvěma zdroji uhlíku (BSM 2C, YEPG, YEGO). Při použití kultivačního média s pouze jedním – lipofilním zdrojem uhlíku (BSM 1C) bylo dosaženo malých výtěžků. Použitý lipofilní zdroj uhlíku je také do značné míry faktorem určujícím konečný výtěžek izolovaného biosurfaktantu, z tohoto hlediska se ropa se ukázala být nejméně vhodná jako substrát pro tvorbu biosurfaktantu i při použití v médiu se dvěma zdroji uhlíku (YEGR). Nejvyšší výtěžek byl podle očekávání dosažen při použití nejvyšší dávky obou zdrojů uhlíku (YEGO100).



**Obrázek 5: Porovnání výtěžků biosurfaktantu podle složení kultivačního média a zdroje uhlíku – *Yarrowia lipolytica***

Pro ověření funkčnosti centrifugace při získávání produktu byl proveden srovnávací experiment. Polovina objemu kultivační směsi byla centrifugována výše uvedeným postupem a druhá polovina byla ošetřena ultrazvukem (15 minut) a dále byla extrahována i s biomasou. Výtěžek extrakce biosurfaktantu, získaného produkcí *Yarrowia lipolytica*, byl vyšší při použití extrakce produkčního média s biomasou, ošetřeného ultrazvukem (**Obrázek 6**).



**Obrázek 6: Porovnání separačních technik pro izolaci biosurfaktantu z hlediska výtěžku**



Získané produkty byly porovnány s popisem v literatuře. Biosurfaktanty mohou být semikrystalické nebo viskózní látky různých barev od bílé po hnědou. Povrchově aktivní látka produkovaná kvasinkou *Yarrowia lipolytica* je bílá látka semikrystalického charakteru.

## Závěr

Kvasinka *Yarrowia lipolytica* vykazuje dobrou produkci vlastních povrchově aktivních látek při použití média s kombinací lipofilního a hydrofilního zdroje uhlíku (slunečnicovým olejem a glukózou) a zároveň pro ně byla vyvinuta uspokojivá metoda izolace a purifikace biosurfaktantu z produkčního média extrakcí do ethylacetátu s výtěžky až 9 g.l<sup>-1</sup>. Tvorbu biosurfaktantu je v průběhu kultivace možné sledovat testem Oil Spreading, založeným na tvorbě čiré zóny na rozhraní ropné fáze a vody. Biosurfaktant produkovaný touto kvasinkou může mít potenciál při odstraňování kontaminací nepolárními polutanty.

## Poděkování

Tyto výsledky byly realizovány za finanční podpory prostředků státního rozpočtu České republiky v rámci projektu č. TA01020482 programu ALFA Technologické agentury České republiky.

## Literatura

- <sup>1</sup> Daverey A., Pakshirajan K. Production, Characterization, and Properties of Sophorolipids from the Yeast *Candida bombicola* using a Low-cost Fermentative Medium. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 158, 2009, 663 – 674.
- <sup>2</sup> Daverey A., Pakshirajan K. Sophorolipids from *Candida bombicola* using mixed hydrophilic substrates: Production, purification and characterization. *Colloids Surf., B* 79, 2010, 246 – 253.
- <sup>3</sup> Amaral P. F. F., Coelho M. A. Z., Marrucho I. M., Coutinho J. A. P. Biosurfactants from Yeasts: Characteristics, Production and Application. In: Ramkrishna Sen (ed.). *Biosurfactants*, Springer, 2008. 236 – 249.
- <sup>4</sup> Pacwa-Plociniczak M., Plaza G.A, Piotrowska-Seget Z., Cameotra S.S. Environmental applications of biosurfactants: Recent advances. *Int. J. Mol. Sci.* 12. 2011, 633 – 654.
- <sup>5</sup> Van Bogaert I. N. A., Jinxin Z., Soetaert W. Microbial production of sophorolipids. *Process Biochem.* 46, 2011, 821 – 833
- <sup>6</sup> Mukherjee A. K., Das K. Microbial surfactants and their potential applications: an overview. In: Ramkrishna Sen (ed.). *Biosurfactants*, Springer, 2010, 54 – 60.
- <sup>7</sup> Amaral P. F. F., Silva J. M., Lehocky M., Barros-Timmons A. M. V., Coelho M. A. Z., Marrucho I. M., Coutinho J. A. P. Production and Characterization of a Bioemulsifier from *Yarrowia lipolytica*. *Process Biochem.* 41, 2006, 1894 – 1898.
- <sup>8</sup> Desai J. D., Banat I. M. Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiol. and Mol. Biol. Rev.* 61, 1997, 47 – 64.
- <sup>9</sup> Casas J.A, García-Ochoa F. Sophorolipid production by *Candida bombicola*: Medium composition and culture methods. *J. Biosci. and Bioeng.* 88, 1999, 488 – 494.
- <sup>10</sup> Techaoei S., Leelapornpisid P., Santiarwarn D., Lumyong S. Preliminary screening of biosurfactant-producing microorganisms isolated from hot spring and ganges in northern Thailand. *Sci. Tech. J.* 7, 2007, 38 – 43.

## **Lipophilic yeast production process in the biosurfactant development**

**Kristina TURNVALDOVÁ<sup>1</sup>, Jiří MIKEŠ<sup>1</sup>, Marek ŠÍR<sup>2</sup>, Zuzana HONZAJKOVÁ<sup>2</sup>, Juraj GRÍGEL<sup>1</sup>, Miroslav MINAŘÍK<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>EPS, s.r.o., V Pastouškách 205, 686 04 Kunovice, e-mail: [eps@epssro.cz](mailto:eps@epssro.cz)

<sup>2</sup>VŠCHT Praha, Fakulta technologie ochrany prostředí, Technická 5, Praha 6, 166 28  
e-mail: [sirm@vscht.cz](mailto:sirm@vscht.cz)

### **Summary**

*Biologically produced surface active compounds (biosurfactants) are very promising tool in innovative soil washing. Apart from the bacterial products (rhamnolipids), biosurfactants synthesized by the lipophilic yeast may be used in technological solutions. This study represents a part of the research project. Its main goal is targeted on the preparation of yeast biosurfactants and their application in soil washing (non-polar contaminants). A study of selected lipophilic yeast to metabolize and emulsify a model type of non-polar substances in extracellular environment was carried out. Each stage of the process had been tested and optimized to describe the production process. Consequently, all process conditions were adjusted in order to increase the yields of the yeast biosurfactant.*

**Keywords:** *lipophilic yeast, biosurfactant, soil washing, non-polar compounds*

## Týden vědy, výzkumu a inovací pro praxi a odpady

Ve dnech **15. až 19. 4. 2013** se v **Koutech nad Desnou** v Jeseníkách uskuteční **Týden vědy, výzkumu a inovací pro praxi**. Pořadatelem je České ekologické manažerské centrum.

Pod tímto novým zastřešujícím názvem se skrývá trojice již zavedených odborných setkání, a to 22. chemicko-technologická konference **APROCHEM (15. – 17. 4.)**, 8. ročník symposia **Výsledky výzkumu a vývoje pro odpadové hospodářství ODPADOVÉ FÓRUM 2013** a 4. ročník konference **Výsledky výzkumu, vývoje a inovací pro obnovitelné zdroje energie OZE 2013 (obě 17. – 19. 4.)**. Souhrnné informace ke všem třem akcím lze najít na internetovém portálu **TRETIRUKA.CZ** v sekci **Konference** nebo přímo na adrese **[www.tretiruka.cz/konference](http://www.tretiruka.cz/konference)**. Vzhledem ke společnému organizátorovi se lze v případě zájmu zúčastnit všech tří konferencí při zaplacení jediného konferenčního poplatku.

### **Symposium ODPADOVÉ FÓRUM 2013**

Zaměření tohoto časopisu je nejbližší symposium ODPADOVÉ FÓRUM 2013 a proto k němu trochu více. Koná se ve dnech 17. až 19. 4. 2013 a jeho mediálním i odborným garantem je odborný měsíčník ODPADOVÉ FÓRUM ([www.odpadoveforum.cz](http://www.odpadoveforum.cz)) a elektronický recenzovaný časopis WASTE FORUM ([www.wasteforum.cz](http://www.wasteforum.cz)).

### **Symposium je určeno**

- **k prezentaci výsledků výzkumů** v oblasti nakládání s odpady, prevence vzniku odpadů, sanací ekologických zátěží a dalších souvisejících oborech **formou srozumitelnou a přínosnou široké odborné veřejnosti**,

- **pro zástupce podnikatelské sféry a veřejné správy**, aby se seznámili s výzkumnými tématy a projekty, na kterých se v ČR a SR pracuje,

- **k seznámení představitelů výzkumné obce s potřebami reálného „odpadářského života“** a případnému navázání spolupráce.

### **Tématika symposia**

Systémové otázky OH • Nebezpečné odpady • Stavební a minerální odpady • Biodegradabilní odpady • Sanace ekologických zátěží • Materiálové využití odpadů • Energetické využití odpadů • Kapalně odpady a průmyslové odpadní vody • Odpadní plyny a čištění spalin.

Symposium ODPADOVÉ FÓRUM 2013 se koná v rámci cyklu odborných odpadářských setkání ODPADOVÉ DNY 2013. Veškeré dotazy k symposiu a přihlášky příspěvků můžete adresovat na adresu: [symposium@cemc.cz](mailto:symposium@cemc.cz).

### **Důležité termíny**

Všechny termíny jsou společné pro všechny tři akce:

**Přihlášky příspěvků:** Oficiální termín byl 31. 1. 2013, nicméně **příspěvky je stále možno přihlašovat** i po tomto datu, a to až do předání konferenčních materiálů do výroby). Periodicky aktualizovaný **seznam příspěvků** (zatím bez časového zařazení a předběžným zařazením do sekcí) je na adrese <http://www.tretiruka.cz/odpadoveforum2013/seznam-prihlasenych-prispevku/>, kde bude později vystaven i předběžný program.

**Plné texty příspěvků:** 15. 3. 2013.

**Přihlášky účasti:** 31. 3. 2013.

Pro přihlašování příspěvku i účasti použijte společné formuláře, které najdete na uvedené adrese [www.tretiruka.cz/konference](http://www.tretiruka.cz/konference). Jednací jazyk je čeština a slovenština.

**Ondřej Procházka**

**programový garant symposia**

**tel.: (420) 274 784 448**