



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



Úvod do minerálních biotechnologií

(e-learningová podpora)

Iva Janáková

Ostrava 2019

ISBN 978-80-248-4376-6

Předmluva

Použití biotechnologií je vidět doslova na každém kroku. Je to docela co nedávno se objevil futuristický koncept bioauta, který místo složité montáže a úsilí mnoha lidí a strojů sám vyroste. Biotechnologie mají mnoho úspěchů, které někdy nejdou příliš vidět. Např. snížení nutné teploty pro praní prádla díky šetrnějším materiálům a biotechnologicky vyvinutým enzymům obsažených v pracích prášcích se ročně ušetří až 80 miliard korun za energie.

I hodně nadsazeně zní použití biotechnologií při 3D tisku lidských orgánů nebo bakterie těžící ve vesmíru, ale i to třeba jednou přijde a určitě se neobejdou bez problémů se kterými se dříve potýkaly pro nás dnes již zcela běžně používané geneticky modifikované potraviny nebo biopaliva. Přitom první GMO patent byl zaznamenán v roce 1980.

Podobně jako může být biotechnologie odpovědí na šetrnější životní prostředí a automatizovanější průmysl, může zamíchat karty i ve výzkumu různých typů robotů, které známe ze sci-fi filmů jako jsou Vetřelec, Blade Runner apod. Vědní obor biorobotika skutečně existuje a klade si za cíl, studovat projevy živých organismů a aplikovat je skrze bioniku a kybernetiku na stavbu umělých organismů. Tento výzkum je velmi složitý a aplikací zatím není mnoho. Přesto už existuje několik praktických výstupů. Mezi zajímavé studie může patřit například nedávný návrh na vypuštění umělých zvířat do přírody, kde by mohly likvidovat znečištění a poté by se samovolně rozpadly, což zní hodně futuristicky. Ale i přes všechny tyto „fantastické“ studie byl skutečně v roce 2008 uměle vypěstován mozek, který byl vytvořen ze separovaných neuronů, který ovládal jednoduchou robotickou konstrukci.

Biotechnologie jsou hodně zajímavý vědní obr a kdo ví, co bude za pár desítek let. Třeba budou zcela běžné umělé orgány vytištěné za pár hodin na 3D tiskárně nebo bakterie produkující palivo.

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla poděkovat Ing. Sarah Janštové, za pomoc při psaní této e-learningové podpory.

Obsah

1. Úvod	1
1.1. Právní předpisy v biotechnologiích	1
1.2. Výčet právních předpisů	2
1.3. Biologická bezpečnost	3
2. Obecná charakteristika živých organismů, mikrobiální společenstva a jejich zvláštnosti	6
2.1. Rozdělení mikroorganismů	6
2.1.1. Dělení podle nároků na živiny:	7
2.1.2. Dělení podle nároků na kyslík:	7
2.1.3. Dělení podle vlivu teploty	8
2.1.4. Dělení podle způsobu získávání energie	8
2.2. Základní struktura mikrobiálních buněk	9
2.2.1. Prokaryotické organismy	10
2.2.2. Řasy	10
2.2.3. Houby	11
2.3. Mikrobiální společenstva	12
3. v těžbě nerostných surovin, bioloužení. Biotechnologie při získávání ušlechtilých a vzácných kovů, nanobiotechnologie	14
3.1. Bioloužení	14
3.2. Úprava materiálu	15
3.3. Těžké kovy	15
3.4. Způsoby bioloužení	15
3.4.1. Loužení v laboratorních podmínkách	15
3.4.2. Loužení v poloprovozu	16
3.4.3. Průmyslové loužení	16
3.5. Bioloužení ušlechtilých kovů	18
3.5.1. Získávání zlata bioloužením	18
3.6. Nanobiotechnologie – molekulární biotechnologie	19
3.6.1. Biosenzory	20
4. Biotechnologie v čištění důlních vod, biosorpce, bioakumulace a bioprecipitace	21
4.1. Vymezení pojmu	21
4.2. Způsoby odvodňování	21
4.3. Chemismus důlních vod	22
4.3.1. Reakce vody pH	22
4.3.2. Rozpuštěný kyslík	22
4.3.3. Sloučeniny síry	22

4.4.	Způsoby čištění důlní vody	23
4.4.1.	Fyzikální metody čištění	23
4.4.2.	Chemické a fyzikálně-chemické metody	23
4.4.3.	Biologické metody	23
4.5.	Legislativa v oblasti nakládání s důlními vodami	26
4.6.	Příklad použití biologického čištění v reálném provozu	27
5.	Biodegradace ropných látek	30
5.1.	Mechanismus odstraňování ropných látek	31
5.2.	Příprava mikroorganismů k biodegradaci ropných uhlovodíků	36
5.3.	Faktory ovlivňující biodegradaci	37
5.4.	Bakterie vhodné pro degradaci ropných látek	37
5.5.	Biopaliva	40
6.	Biotechnologie v ŽP – zpracování a likvidace odpadů	42
6.1.	Stavební a demoliční odpady	44
6.2.	Odpadní plasty	44
6.3.	Komunální odpady	46
6.4.	Odpady z tepelných procesů	48
7.	Vývoj moderních biotechnologií – genové a enzymové inženýrství	50
7.1.	Použití moderních biotechnologických technik	50
7.2.	Použití moderních biotechnologických technik	51
7.3.	Léky / zdravotnické prostředky	52
7.4.	Genové manipulace se zvířaty	52
8.	Biotechnologie v potravinářství	55
8.1.	Ethanolové kvašení	55
8.2.	Mléčné kvašení	60
8.3.	Octové kvašení	64
8.4.	Máselné kvašení	64
8.5.	Citrónové kvašení	65
8.6.	Propionové kvašení	65
8.7.	Sinice a řasy při výrobě potravin	65
9.	Biotechnologie ve stavebnictví, biotechnologie při přípravě pigmentů	68
9.1.	Vymezení pojmů	68
9.2.	Faktory ovlivňující biokorozi	70
9.3.	Bakterie způsobující korozi – biodeterigeny	71
9.4.	Řasy a sinice	72
9.5.	Mikromicety – Plísně	73

9.6.	Nanomateriály - ochrana proti biokorozi	74
10.	Biotechnologie v ŽP- odstanění kovů, bioremediace a fytoremediace	76
10.1.	Bioremediace	76
10.2.	Bioremediace	77
10.3.	Degradace přírodních a cizorodých sloučenin aerobní respirací	78
10.4.	Bakterie rozkládající NEL, PAU, PCB.....	78
10.5.	Biosorpce.....	80
10.6.	Těžké kovy a rostliny	81
10.7.	Fytoremediace	81
11.	Kontaminanty v ŽP - nejrozšířenější zástupci, rozdělení (organické, anorganické), jejich vlastnosti a chování v prostředí, toxicita	83
11.1.	Staré ekologické zátěže, resp. kontaminovaná místa	83
11.2.	Kontaminanty a jejich chování v ŽP	83
11.2.1.	Těkavé organické látky (VOCs)	84
11.2.2.	Semitěkavé organické látky (SVOCs).....	84
11.2.3.	Ropné látky	85
11.2.4.	Anorganické látky	85

1. Úvod

Termín "biotechnologie" spojuje tradiční i nové biologické technologie a jejich aplikace. Ačkoli biotechnologie jsou technologie, která lidstvo používá už více než 6000 let, v posledních desetiletích, když byly k dispozici nové nástroje molekulární biologie, došlo k výraznému rozvoji v této oblasti. Biotechnologie je velmi široká vědní disciplína, která využívá biologické procesy buněk nebo buněčných systémů pro vývoj nových nástrojů, produktů a technologií které zlepšují každodenní život člověka. Tyto technologie jsou jako takové biologického původu a mají široké pole uplatnění. Jsou odvozeny z řeckého slova „βίος“ (bios-life) a v kombinaci se slovem „technologie“ představuje interdisciplinární vědu, která využívá enzymy, buňky nebo celé organismy pro technické použití. Biotechnologie spojuje znalosti ze široké škály disciplín včetně mikrobiologie, biochemie, genetiky, bioinformatiky, ale také systémové inženýrství a chemické inženýrství.

Biotechnologii jako vědu lze rozdělit na dvě skupiny: klasická a moderní. Moderní biotechnologie nacházejí široké uplatnění především v medicíně, farmacii a zemědělství. V zemědělství jde především o zlepšování odolnosti pěstovaných plodin a zajišťování potravinových zdrojů. Tyto cíleně změněné rostliny jsou označovány jako geneticky modifikované organismy (GMO) a vzbuzují u veřejnosti celou řadu environmentálních či zdravotnických obav, které pramení zejména z nejistoty důsledků jejich používání z dlouhodobého hlediska. Moderní biotechnologie a geneticky modifikované organismy mohou mít do budoucna velký potenciální užitek, musí však být vyvíjeny a využívány s použitím odpovídajících bezpečnostních opatření, zejména ve vztahu k životnímu prostředí a lidskému zdraví (Roudná, 2010).

1.1. Právní předpisy v biotechnologiích

Dvacáté století je výrazným způsobem ovlivněno rozvojem biotechnologie. Rozsah průmyslových odvětví a jejich produktů je ovlivněn těmito technologiemi, jako příklad můžeme uvést chemický průmysl, potravinářství, kosmetický průmysl, ochrana životního prostředí, různé spotřební výrobky, chemikálie, lékařství, zdravotnické prostředky a mnoho dalších.

Základní otázky, které si klademe při použití těchto technologií, jsou:

- Jsou právní předpisy v oblasti životního prostředí, zdraví a bezpečnosti, které byly formulovány hlavně během druhé poloviny dvacátého století dostatečné, tak aby byla chráněna rizika spojená s těmito technologiemi a aby nám umožnily získat výhody, které tyto technologie mohou nabídnout?

Vzhledem k výzkumu a výrobě produktů využívajících např. genetickou modifikaci, která začala téměř před čtyřmi desetiletími, jsou biotechnologie v mnohem napřed. Co se týče těch, kteří pracují v oblasti biotechnologií, ti musí nyní také zodpovědět otázku, zda zákony přijaté před dvaceti lety jsou přiměřené a vhodně regulují podmínky, které nejenže v době své existence neexistovaly. Předpisy se samozřejmě upravují a regulují a dopady, které tyto výrobky a technologie mají na lidské zdraví a životní prostředí, jsou pak hnací silou v regulaci právních předpisů.

Aby tato základní právní otázka byla řešena, tato kapitola poskytuje přehled o hlavních zákonech a právních předpisech, které spravují oblast biotechnologií v České republice a EU. Patří mezi ně řada klíčových environmentálních zdravotních faktorů, bezpečnostní zákony, stejně jako další zákony, které tradičně nespádají do "Zákonů o životním prostředí", jako je zákon o potravinách (Zákon č. 180/2016 Sb.), kosmetice a lékařství (viz. kap. 1.2.).

Specifická rizika, která biotechnologie představují pro životní prostředí (rizika environmentální) jsou zabezpečována v rámci odboru environmentálních rizik a ekologických škod (OEREŠ). Jedná se o environmentální rizika v oblasti chemických látek, závažných průmyslových havárií s nimi spojených a v oblasti nakládání s geneticky modifikovanými organismy (GMO). OEREŠ vytváří celostátní koncepce prevence škod v těchto oblastech, vytváří systémy hodnocení těchto rizik a navrhuje indikátory jejich sledování a zajišťuje výkon specializované státní správy vyplývající z příslušných zákonů.

Rovněž zabezpečuje v oblastech své působnosti aktivity, vyplývající z členství v mezinárodních organizacích (UNEP, OECD - chemický program a pracovní skupiny pro prevenci průmyslových havárií, biotechnologie a nanomateriály) a z ratifikovaných mezinárodních úmluv (Rotterdamská úmluva, Helsinská úmluva o přeshraničních účincích průmyslových havárií, Cartagenský protokol o biologické bezpečnosti, Stockholmská úmluva o persistentních organických polutantech).

V dnešní době je kladen velký důraz na ochranu životního prostředí. Vyvíjí se nové moderní technologie, které zabraňují antropogenním únikům toxických látek do prostředí. Do životního prostředí, ale i přesto stále uniká velké množství škodlivin a přetrvávající ekologické zátěže z minulosti jsou také hrozbou pro zdravý vývin živé populace. Staré ekologické zátěže a kontaminovaná místa v České republice jsou průběžně řešeny Ministerstvem životního prostředí ve spolupráci s dalšími resorty. Ročně jsou tak realizovány průzkumné práce a nápravná opatření na desítkách lokalit. Za danou oblast je gestorem odbor environmentálních rizik a ekologických škod (OEREŠ).

1.2. Výčet právních předpisů

Vzhledem k tomu, že právních předpisů týkající se životního prostředí je mnoho, tak je zde uveden pouze výčet nejdůležitějších. Veškeré zákony a prováděcí právní předpisy) s jejich výklady je uveden na stránkách [MŽP](#)

Zákon č. 17/1992 Sb. Zákon o životním prostředí

Zákon č. 78/2004 Sb. Zákon o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty

Zákon č. 100/2001 Sb. Zákon o posuzování vlivů na životní prostředí

Zákon č. 254/2001 Sb. Zákon o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon)

Zákon č. 185/2001 Sb. Zákon o odpadech a o změně některých dalších zákonů

Zákon č. 477/2001 Sb. Zákon o obalech a o změně některých zákonů (zákon o obalech) - úplné znění

Zákon č. 201/2012 Sb. Zákon o ochraně ovzduší

Zákon č. 350/2011 Sb. Zákon o chemických látkách a chemických směsích a o změně některých zákonů (chemický zákon)

Dále je zde uveden výčet platných právních předpisů z jiných odvětví:

Zdravotnické prostředky

Zákon č. 268/2014 Sb., o zdravotnických prostředcích a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů

Zákon č. 22/1997 Sb., o technických požadavcích na výrobky a o změně a doplnění některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů

Prováděcí předpisy:

- nařízení vlády č. 56/2015 Sb., kterým se stanoví technické požadavky na diagnostické zdravotnické prostředky in vitro
- nařízení vlády č. 55/2015 Sb., kterým se stanoví technické požadavky na aktivní implantabilní zdravotnické prostředky
- nařízení vlády č. 54/2015 Sb., kterým se stanoví technické požadavky na zdravotnické prostředky
- vyhláška č. 62/2015 Sb., kterou se stanoví provedení některých ustanovení zákona o zdravotnických prostředcích
- vyhláška č. 61/2015 Sb., o stanovení výše náhrad výdajů za odborné úkony provedené Státním ústavem pro kontrolu léčiv podle zákona o zdravotnických prostředcích

ČSN EN ISO 10993 Biologické hodnocení zdravotnických prostředků

- Část 1: Hodnocení a zkoušení v rámci procesu řízení rizika
- Část 5: Zkoušky cytotoxicity – metody in vitro
- Část 10: Zkoušky na dráždivost a přecitlivělost oddáleného typu
- Část 12: Příprava vzorků a referenční materiály

Chemické látky

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 ze dne 18. prosince 2006 o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek, o zřízení Evropské agentury pro chemické látky, o změně směrnice 1999/45/ES a o zrušení nařízení Rady (EHS) č. 793/93, nařízení Komise (ES) č. 1488/94, směrnice Rady 76/769/EHS a směrnic Komise 91/155/EHS, 93/67/EHS, 93/105/ES a 2000/21/ES (REACH).

Nařízení Komise (ES) č. 440/2008, kterým se stanoví zkušební metody podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č.1907/2006 o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek.

Nařízení Komise (ES) č. 761/2009 ze dne 23. července 2009, kterým se přizpůsobuje technickému pokroku nařízení (ES) č. 440/2008, kterým se stanoví zkušební metody podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006.

Kosmetické prostředky

Zákon č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví, ve znění pozdějších předpisů.

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 ze dne 30. listopadu 2009 o kosmetických přípravcích (přepracované znění).

The SCCS'S Notes of Guidance for the Testing of Cosmetic Ingredients and Their Safety Evaluation, 7. Revision, 2010 (Návod pro zkoušení ingrediencí kosmetických prostředků a pro vyhodnocení jejich bezpečnosti, Scientific Committee for Consumer Safety, 2010)

Další související předpisy:

Zákon č. 102/2001 Sb., o obecné bezpečnosti výrobků, v platném znění.

Zákon č. 634/1992 Sb., o ochraně spotřebitele, v platném znění.

1.3. Biologická bezpečnost

Biologická bezpečnost je velmi důležitý pojem zejména v biotechnologiích. Musí obsahovat všechny kroky, které vedou ke snížení rizika spojeného s kontaktem či manipulací s jakýmkoliv biologickým

materiálem. Je nutné určitou formou zajistit technické (např. flow box) a/nebo organizačních (např. vzdělávání personálu) prostředky k ochraně lidského zdraví, které vznikají při manipulaci s nebezpečnými organismy (např. patogeny). V EU byla implementována direktivou "O ochraně pracovníků proti rizikům spojených s vystavením biologickým činidlům v práci" (1990).

Kontrola biologické bezpečnosti představuje prověření plnění legislativou stanovených požadavků, které se týkají všech průmyslových a zemědělských odvětví (např. zabezpečení chovu hospodářských zvířat před zavlečením a šířením nálezů). Kontrolu biologické bezpečnosti v zemědělství každoročně plánuje a provádí státní veterinární správa (SVS) na hospodářstvích vybraných na základě analýzy rizika.

Úrovně biologické bezpečnosti (Biosafety Levels)

Přesné požadavky jsou definované směrnice v EU a normami v USA.

Úrovně biologické bezpečnosti se označují jako P1 (nejméně přísná) až P4 (nejpřísnější). Značka P je vysvětlována různě - může znamenat Protection nebo Pathogen. Často se používá také označení BSL1 až BSL4 (BioSafety Level).

Smyslem úrovně je odlišit nároky na práci v biologických laboratořích tak, aby byl chráněn personál a okolí při práci s různě infekčním materiálem.

BSL1

Tato úroveň je nejméně přísná. Na této úrovni je možné pracovat s biologickými vzorky, které by neměly být nebezpečné pro zdravý lidský organismus. Jedná se o různé druhy bioodpadu a vzorky, které neobsahují nebezpečné bakterie, natož viry. Obecně lze říci, že jde o běžné bakterie typu *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* apod.

Na BSL1 nejsou kladeny zvláštní nároky. Laboratoř může být umístěna ve stejné budově jako jiné laboratoře a pracovníci musí dodržovat pouze běžné hygienické postupy - práce v rukavicích, brýlích, dávat si pozor před vnikem vzorku do otevřené rány, zabránit možnosti vdechnutí či požití vzorku. Pracovní místo a použité nástroje by se měly standardními způsoby dezinfikovat (nástroje nejčastěji autoklávováním). Laboratoř by měla být vybavena uzamykatelnými dveřmi, aby se zabránilo vstupu neautorizovaných osob.

BSL2

Obecně jde o práci mikroorganismy, které mohou způsobit jen slabou nemoc anebo se nepřenášejí vzduchem. Příkladem může být *Hepatitis A, B, a C* viry, HIV virus, patogenní *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Plasmodium falciparum* a *Toxoplasma gondii*. Také jde o práci s viry např. *Encephalitis* při rutinních vyšetřováních.

Platí postupy pro BSL1 plus navíc:

- personál musí být speciálně proškolen
- přístup do laboratoří musí být zabezpečen
- při práci s ostrými nástroji se musí dbát na extrémní bezpečnosti
- pokud by hrozila možnost vdechnutí aerosolu ze vzorku, pak se musí pracovat v příslušném zařízení (digestoři)

BSL3

Jde o práci s mikroorganismy, které mohou způsobit vážnou či smrtelnou nemoc již při pouhém vdechnutí. Příkladem může být *Francisella tularensis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Chlamydia psittaci*, *Venezuelan equine encephalitis virus*, *Eastern equine encephalitis virus*, *SARS coronavirus*, *Coxiella*

burnetii, *Rift Valley fever virus*, *Rickettsia rickettsii*, druhy *Brucella*, *chikungunya*, virus žluté horečky a virus *West Nile*.

Platí postupy pro BSL2 plus navíc:

- personál musí mít k dispozici lékařskou pomoc a případnou imunizaci, pokud je to možné
- všechny procedury se musí provádět v biologicky zabezpečeném kabinetu (biologicky bezpečné digestoři)
- personál musí nosit ochranné pomůcky (oděvy, rukavice, brýle, respirátory apod.), které nesmí opustit prostor laboratoře. Ochranné pomůcky se musí zlikvidovat nebo dekontaminovat po každém použití.
- musí být vypracován manuál pro detailní požadavky při práci s nebezpečnými vzorky

Vstup do laboratoře musí být oddělen od prostor s volným pohybem pracovníků. Vstup musí být chráněn dvěma dveřmi s automatickým uzavíráním. Celý prostor laboratoře musí být vybaven co nejjednodušeji pro snadnou dekontaminaci.

Okna musí být zapečetěna a ventilační systém musí být zajištěn tak, že vzduch putuje z vnějších prostor dovnitř a odsávání je filtrováno.

BSL4

Tato úroveň je nejpřísnější. Platí pro práci s mikroorganismy, které jsou smrtelně nebezpečné a snadno se přenáší vzduchem. Příkladem můžou být viry hemorhagické horečky jako *Marburg virus*, *Ebola virus*, *Lassa virus*, *Crimean-Congo hemorrhagic fever*. Dále patogeny jako *Hendra virus*, *Nipah virus* a některé typy *Flavivirus*.

Platí postupy pro BSL3 plus navíc:

- práce může probíhat jen v biologicky bezpečných kabinetech třídy III
- veškerý materiál, který přišel do styku se vzorkem se musí následně dekontaminovat v autoklávech či nádobě s dezinfekcí
- pracovní prostor nesmí obsahovat žádné ostré předměty
- personál musí nosit ochranný oblek s pozitivním přetlakem
- personál při výstupu z laboratoře musí projít v obleku přes dekontaminační komoru a následně v další komoře si oblek svlékne a osprchuje se opět sterilizačním prostředkem
- přístup do laboratoře je silně omezen a všechny přístupy jsou zaznamenávány
- veškerý materiál, který opouští laboratoř (voda, vzduch, odpady), musí být důkladně sterilizován
- dveře jsou vybaveny vzduchovými zámky, aby nemohlo dojít k úniku vnitřního vzduchu směrem ven
- v ideálním případě jsou laboratoře BSL4 vystavěny v separátní budově oddělené od normálního provozu

Pracovišť na úrovni BSL4 není mnoho, na celém světě je jich jen pár desítek.

Obecně platí, že dokud není prokázáno jinak, tak se s daným patogenem zachází, jakoby patřil do stupně o úroveň vyšší. (http://www.labo.cz/clanky/clanky.php?id_clanek=806)

Literatura:

ROUDNÁ (ED.), Milena, Jana MALÁ a Jaroslav DOBRÝ. Biotechnologie v lesnictví a příklady jejich využití - 2. Praha: Ministerstvo životního prostředí, 2010. ISBN 978-80-7212-545-6.

<https://www.mzp.cz/www/platnalegislativa.nsf/>

<https://consteril.com/biosafety-levels-difference/>

2. Obecná charakteristika živých organismů, mikrobiální společenstva a jejich zvláštnosti

Tato kapitola se zabývá charakteristikou mikroorganismů, jak lze pro procesy a výrobu průmyslových výrobků a bioproduktů využívat existenci mikroorganismů. Různé fyzikálně-chemické nebo geologické podmínky, v nichž existují mikrobiální společenstva a jejich možné využití. Důraz bude kladen na vzájemné interakci mezi mikroorganismy.

Všechno živé pod velikostí viditelnou pro oko jsou seskupeny do rozsáhlé a pestré sbírky nazývané mikroorganismy. Existence takových organismů mohla být odhadnuta pouze před vývojem prvních primitivních mikroskopů v 17. století. Mikroorganismy patří mezi neúspěšnější živé organismy. Jejich "klub" deklaruje mezi členy bakterie, kvasinky, mnoho řas a hub a všechny protozoa.

Mikroorganismy jsou všude: ve vzduchu, ve vodě, v půdě, ve zvířatech, v rostlinách a dokonce i v jiných mikroorganismech. Jejich velikost ztělesňuje jejich ekonomický význam. Mnoho způsobuje oslabující nebo ničivé onemocnění u člověka, u kultivovaných plodin a u domácích zvířat. Jiná jsou nesmírně přínosná a některé z nich používáme k přípravě řady potravin a nápojů. Půdní mikroorganismy jsou nepostradatelné v přirozených cyklech, které rozkládají organické materiály na živiny využitelné jinými organismy. Jaké jsou velikostní limity tohoto umělého "království"? Jeden z největších organismů je protozoa zvaná Améba, která je velká asi 1 milimetr napříč. Pravděpodobně byste ji mohli vidět při dobrém světle v procházející kapce vody. Na druhém konci stupnice je virus slintavky a kulhavky v průměru 0,01 mikrometru.

Jak už bylo řečeno, mikroorganismy hrají v přírodě i v životě člověka obrovskou roli, protože jsou jedním z hlavních činitelů ovlivňujících tvorbu a zachování životního prostředí na naší planetě. Společenství různých druhů mikroorganismů jsou totiž schopna tvořit veškeré přirozené organické látky až k jejich úplné mineralizaci. Tím vracejí chemické prvky, které jsou nezbytnou složkou buněčné hmoty, do koloběhu prvků v přírodě. Rozkladná činnost mikroorganismů probíhá nejen v půdě, ve vodních tocích, stojatých vodách, mořích, ale i na skládkách, haldách a v různých znečištěných oblastech. Je hlavní složkou samočištění vodních toků a v průmyslovém měřítku se jí využívá např. v čistírnách odpadních vod. Civilizační zásahy do činnosti mikroorganismů, jako je nadměrné používání pesticidů v zemědělství nebo vypouštění velkého množství toxických látek do vodních toků, mohou mít, v dnešní době zvýšeného sucha, velmi vážné následky. Také nadměrné používání detergentů (pracích a mycích prostředků) je nebezpečné, protože inhibují činnost mikroorganismů. Nejzávažnější negativní činnost mikroorganismů na člověka způsobují patogenní mikroorganismy, které způsobují nemoci člověka, rostlin a živočichů. Další negativní účinky mikroorganismů spočívají v nežádoucím rozkladu potravin, potravinářských surovin, textilií, kůže, papíru, dřeva, některých plastů, laků. Mikroorganismy způsobují korozi materiálů (stavební díla, umělecká díla atd.). Při této korozi se nejčastěji uplatňují heterotrofní houby, protože jsou nenáročné na živiny a vlhkost a jsou schopny metabolizovat nejrůznější organické látky.

Pouhý pohled na bakterie zůstává na povrchu a jen málo toho prozrazuje o dynamice a složitosti jejich života. Např. bakterie, které obklopují a vyplňují tělo člověka, jsou jen malou podmnožinou všech dosud známých bakterií vyskytujících se na Zemi z předpokládaného milionu druhů. Umějí vytvářet společenství složitých struktur, v nichž se mění jejich vlastnosti.

2.1. Rozdělení mikroorganismů

Mikroorganismy jsou v neustálém kontaktu s přírodou, člověkem a životním prostředím a působí na ně nejrůznější vnější faktory. Můžeme je rozdělit do několika skupin:

- Fyzikální faktory - teplota, tlak nebo změna pH.
- Chemické faktory - obsah a kvalita živin, množství vody a kyslíku, přítomnost inhibujících látek apod.
- Biologické faktory - přítomnost dalších organismů.
- Mechanické faktory - vliv proudění vody, střížné síly, či třepání.
- Prostorové podmínky - koncentrace mikroorganismů, kontakt s pevným materiálem apod.

Působení různých faktorů prostředí vede ke změnám ve vlastnostech mikroorganismů. Změny vlastností se dají rozdělit na dvě hlavní skupiny:

- Změny evoluční. Tyto změny nastávají dlouhodobým působením prostředí na mnoho generací mikroorganismů. Prostor zde působí selektivním tlakem a zvýhodňuje ty skupiny mikroorganismů (i v rámci jednoho druhu či kmenu), které mají pro dané podmínky lepší genetickou výbavu (vzniklou např. mutacemi či výměnou genetické informace, viz kapitola...) a z ní vyplývající vhodnější vlastnosti. Evoluční adaptace jsou dlouhodobé a předávají se na potomstvo.
- Změny fyziologické. Tyto změny nastávají v důsledku přirozených regulačních mechanismů každého mikroorganismu. Organismus tak reaguje na změny prostředí a snaží se jim přizpůsobit. Fyziologické adaptace jsou obvykle rychlé (v řádech sekund až hodin) a nedědí se (potomek má ale pochopitelně schopnost reagovat podobně).

Po fyziologické stránce jsou mikroorganismy velmi rozmanité. Jednotlivé skupiny se vzájemně liší svými nároky na výživu, kyslík a způsob získávání energie.

2.1.1. Dělení podle nároků na živiny:

- **Autotrofní** – k výživě jim stačí pouze anorganické sloučeniny. Přítomnost organických sloučenin velmi často zamezuje jejich rozmnožování. Tyto mikroorganismy jsou schopny syntetizovat všechny složky buněčné hmoty z anorganických sloučenin. Některé z nich získávají energii oxidací anorganických sloučenin, jiné využívají světelné energie, další využívají oxidu uhličitého jako zdroj uhlíku pro syntézu své buněčné hmoty. Patří sem řasy a některé druhy bakterií.
- **Heterotrofní** – vyžadují přítomnost organických sloučenin. Patří sem kvasinky, heterotrofní houby a většina bakterií. Dále je rozdělujeme na *prototrofní* (stačí jim k výživě jednoduché organické sloučeniny, jako jsou sacharidy, ethanol apod. spolu s anorganickými solemi) a na *auxotrofní* (s vyžadují ke svému životu složité makromolekuly – některé vitamíny a aminokyseliny)

2.1.2. Dělení podle nároků na kyslík:

- **Anaerobní** – nevyužívají volný kyslík, protože mají pouze anaerobní metabolismus. Přítomnost kyslíku na tento druh bakterií může působit až toxicky. (př. *Clostridium*)
- **Aerobní** – využívají vzdušný kyslík, protože mají vyvinutá pouze aerobní metabolismus. (př. *Acetobacter*, některé hnilobné bakterie, některé kvasinky)
- **Mikroaerofilní** – mají anaerobní metabolismus, avšak nízké koncentrace kyslíku urychlují jejich rozmnožování. Patří sem mléčné bakterie (rod *Lactobacillus*)
- **Fakultativně aerobní** - mají schopnost aerobního i anaerobního metabolismu, takže mohou růst za přítomnosti resp. nepřítomnosti kyslíku.

2.1.3. Dělení podle vlivu teploty

Teplota je dominantní faktor silně ovlivňující mikroorganismy. Závislost růstové rychlosti na teplotě je obvykle nesymetrická, nižší teploty dělení pouze zpomalují, ale nebrání mu. Při extrémně nízkých teplotách už se mikroorganismus dělit nemůže, nicméně obvykle přežívá. Naopak vyšší teploty působí na mikroorganismy destruktivně, čehož se prakticky využívá při jejich likvidaci (sterilizace např. v autoklávu). Z hlediska teplotní tolerance lze mikroorganismy rozdělit na několik základních skupin:

- **Psychofilní** organismy mají optimální teploty nižší než 20°C a jsou obvykle schopné rozmnožovat se i pod bodem mrazu.
- **Mezofilní** organismy mají optimální teplotu mezi 20-40°C, maximální obvykle nižší než 60°C.
- **Termofilní** organismy mají optimální teplotu vyšší než 40°C a maximální mezi 60 a 80°C.
- **Extrémně termofilní** jsou schopné se rozmnožovat i při teplotách přesahujících bod varu vody (až při 120°C), optimální teplota je cca 90-110°C a minimální obvykle vyšší než 50°C.

2.1.4. Dělení podle způsobu získávání energie

Podle zdroje energie můžeme mikroorganismy rozdělit na fototrofní a chemotrofní.

- **Fototrofní** - využívají světelnou sluneční energii a přeměňují ji na energii chemickou. Tyto mikroorganismy mohou využívat jako zdroj uhlíku buď CO₂ nebo organické látky.
 - *Fotoautotrofní* mikroorganismy využívají jako zdroj energie světlo a jako zdroj uhlíku CO₂. Fototrofní mikroorganismy potřebují, stejně jako rostliny, k přeměně energie v energii chemickou chlorofyl. ATP se tvoří v procesu fotosyntézy, necyklickou fotofosforylací. Vodík pro redukci CO₂ poskytují anorganické sloučeniny. Vodu jako zdroj vodíku využívají sinice, řasy a rostliny, které uskutečňují oxidativní fotosyntézu, při níž se vytváří plynný kyslík fotolýzou vody. (např. rod *Chlorobium*, nebo purpurové sírné bakterie (čeleď *Chromatiaceae*)
 - *Fotoheterotrofní* mikroorganismy jako zdroj uhlíku využívají organické sloučeniny a zdrojem energie je světlo. Patří sem nesírné purpurové bakterie (*Rhodospirillaceae*)
- **Chemotrofní** - získávají energii oxidací chemických látek.
 - *Chemolitotrofní* mikroorganismy získávají energii oxidací různých redukovaných anorganických sloučenin (amoniak, dusitany, síra a její redukované formy, dvojmocné železo) a zdrojem uhlíku je CO₂. Do této kategorie patří několik skupin aerobních bakterií, a to bezbarvé **sírné bakterie** a vláknité sírné bakterie, které získávají energii oxidací síry a jejích sloučenin, především sirovodíku až na sírany. Elementární síru mohou ukládat v buňce ve formě zrníček. Příslušníci rodu *Thiobacillus* produkují H₂SO₄ a mohou silně okyselovat prostředí (viz. Kapitola 3). Dále do této kategorie patří **nitřifikační bakterie**, které získávají energii oxidací sloučenin dusíku (např. bakterie rodu *Nitrosomonas* a *Nitrosococcus*, *Nitrobacter* a *Nitrococcus*). **Železité bakterie** získávají energii oxidací železnatých iontů na železité. Mezi vláknité železité bakterie patří např. zástupci rodu *Gallionella*, jejichž buňky jsou obalené pochvou inkrustovanou hydratovaným oxidem železitým. Tyto bakterie se pak mohou podílet na zanášení vodovodního potrubí v oblastech s vodou obsahující větší množství železitých iontů. Kulovité nebo tyčinkovité železité bakterie (např. rod *Siderocapsa*) mohou ve svých slizových obalech nebo mimo buňku hromadit nerozpustné železité

sloučeniny, ale i mangan. Mají význam geologický, neboť se svou činností podílejí na vzniku ložisek železitých rud. Bakterie využívající pouze metan a metanol patří k rodům *Methilomonas* a *Methilococcus*, nejsou schopny využívat další organické sloučeniny a pro syntézu buněčné hmoty využívají CO₂. Některé ale mohou energii získat i oxidací sacharidů či jiných organických sloučenin a jsou to tedy mixotrofní mikroorganismy. Chemoheterotrofní mikroorganismy získávají energii oxidací redukovaných organických látek (sacharidy, alkoholy, organické kyseliny, aminokyseliny atd.), jichž využívají také jako zdroje uhlíku, vodíku a většinou i kyslíku k syntéze buněčné hmoty. Chemickou energii získávají z oxidačních procesů organických látek a to buď oxidační fosforylací, nebo fosforylací na substrátové úrovni. Je to způsob výživy prvoků, mikroskopických hub a většiny bakterií (i patogenních). Tyto mikroorganismy mají velký význam v koloběhu látek v přírodě při produkci organických kyselin a dalších významných látek. Podílí se ale také na kažení potravin, krmiv a surovin pro jejich výrobu. Za aerobních podmínek jsou organické sloučeniny oxidovány s maximálním ziskem energie až na oxid uhličitý a vodu (aerobní oxidace). Proces označujeme též jako respiraci neboli dýchání: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 6CO_2 + 2898 \text{ kJ}$.

2.2. Základní struktura mikrobiálních buněk

Každá mikrobiální buňka je od vnějšího prostředí oddělena silnou, pevnou, většinou neohebnou (rigidní) strukturou, jež se nazývá **buněčná stěna**. Buněčná stěna dává mikrobiální buňce tvar a chrání je před mechanickými vlivy a před účinky osmotického tlaku vnějšího prostředí. V buněčné stěně jsou poměrně velké póry, kterými může volnou difuzí procházet většina chemických sloučenin. Pouze vysokomolekulární sloučeniny, jakou jsou bílkoviny nebo polysacharidy, nemohou póry buněčné stěny procházet. Chemické složení buněčné stěny jednotlivých skupin mikroorganismů (baktérií, kvasinek a plísní) je rozdílné a bude u každé skupiny popsáno.

Pod buněčnou stěnou je uložena jemná elastická membrána s malými póry, tzv. cytoplazmatická membrána, která skládá z lipidů a proteinů. Cytoplazmatická membrána tvoří osmotické rozhraní buňky a vnějšího prostředí. Jejimi póry mohou volnou difuzí procházet pouze nízkomolekulární sloučeniny bez elektrického náboje (tj. nedisociované molekuly vody nebo nedisociované molekuly slabých kyselin ze silně kyselého prostředí, alkoholy, alkoholické cukry apod.). Lipidovou složku cytoplazmatické membrány mohou do buňky pronikat látky rozpustné v tucích nebo rozpouštějící tuky. Všechny ostatní látky včetně iontů kovů se dostávají do buňky pomocí zvláštních transportních mechanismů, jejichž bílkovinné nosiče jsou umístěny v cytoplazmatické membráně. Vlastnosti cytoplazmatické membrány jsou patrné tehdy, jestliže rozložíme buněčnou stěnu pomocí specifických enzymových preparátů. Tímto způsobem dostaneme z buněk bakterií, kvasinek a plísní v izotonickém prostředí, tj. v prostředí o stejném osmotickém tlaku, jako je uvnitř buňky, kulovité útvary obklopené cytoplazmatickou membránou, zvané protoplasty. Protoplasty jsou schopny syntézy buněčných složek a v izotonickém růstovém prostředí zvětšují svůj objem. Po dosažení určité velikosti se v důsledku elasticity cytoplazmatické membrány přemění protoplasty ve dva menší kulovité útvary, které mohou opět dorůst. Po přenosu protoplastů do roztoku o nižším osmotickém tlaku dochází rychle k jejich lýzi. Tato lýze je důsledkem difuze molekul vody póry cytoplazmatické membrány z prostředí do protoplastu, prudké zvětšení objemu protoplastu, jež je s tím spojené, vede totiž k prasknutí cytoplazmatické membrány. Odstředěním lyzovaných protoplastů můžeme oddělit prasklé cytoplazmatické membrány od ostatního obsahu protoplastů.

Vnitřní obsah buněk tvoří cytoplazma a jaderný materiál. Cytoplazma se skládá z buněčné šťávy, což je v podstatě vodný roztok enzymů, meziproduktů metabolismu, rezervních látek a některých anorganických iontů. Cytoplazma obsahuje také ribozomy, v nichž probíhá syntéza bílkovin, a zrníčka nerozpuštěných rezervních látek. U eukaryot jsou v cytoplazmě přítomny ještě různé vláknité a membránové útvary, které člení buňky do oddělení, takže cytoplazma eukaryotních mikroorganismů má mnohem vyšší organizaci než cytoplazma prokaryot. Největší složkou cytoplazmy je voda, které představuje 65 až 90 procent obsahu buňky mikroorganismů. Obsah vody závidí nejen na druhu mikroorganismu, ale i na vnějších podmínkách. Voda je nezbytná pro uskutečnění enzymových procesů v buňce a pro základní životní projevy buňky. Snížil-li se obsah vody v cytoplazmě pod určitou hladinu, metabolismus a všechny životní projevy se zastavují, avšak nemusí dojít ke smrti buňky. Snížení vodní aktivity může být dosaženo buď odnímáním buněčné vody v hypertonickém prostředí, nebo vysoušením buněk, nebo sublimací vody převedené do pevného skupenství. Metabolismus lze také zastavit zmražením vnitrobuněčné vody. Všech těchto postupů vedoucích ke snížení aktivity mikroorganismů se využívá v potravinářské praxi. Šetrné sublimační sušení (tzv. lyofilizaci) slouží pro dlouhodobé uchovávání mikroorganismů. Životaschopnost takto vysušených kultur je zachována po řadu let.

Jaderný materiál prokaryotních a eukaryotních mikroorganismů se liší v mnoha ohledech. U prokaryot je jaderným materiálem deoxyribonukleová kyselina (DNA), která tvoří v buňce jedinou molekulu představující chromozom a je umístěna přímo v cytoplazmě. Bakteriální chromozom neobsahuje – na rozdíl od chromozomů eukaryot – histony (tj. specifické zásadité bílkoviny).

Regulační funkcí histonů zřejmě u prokaryot vykonávají nízkomolekulární polyaminy, jako je spermin a spermidin. Kvasinky a plísňe mají v buňce diferenciované jádro, které je od cytoplazmy odděleno dvojitou membránou s velkými póry. Jádro obsahuje chromozomy, které jsou složeny z DNA a histonů a mají komplexnější strukturu než bakteriální chromozom.

2.2.1. Prokaryotické organismy

Prokaryotické organismy patří mezi nejstarší organismy na zemi. Vývojově patří mezi nejjednodušší organismy. Dělíme je podle tvaru buňky, příjmu energie, zdroje uhlíku, podle příjmu kyslíku, patogenity, výskytu a mnoha dalších charakteristických vlastností. Prokaryotické organismy jsou svou strukturou mnohem jednodušší než eukaryotické organismy. Ty se liší svou strukturou, chemickým složením a metabolickými ději od eukaryot. Mezi prokaryotické organismy patří bakterie, archea a sinice. Bakterie lze rozdělit podle struktury buněčné stěny na gramnegativní a grampozitivní. Hlavní složkou buněčné stěny grampozitivních bakterií je peptidoglykanová vrstva, která je vyplněna kyselinou teichoovou jako tmelem stěny. Stěny gramnegativních bakterií tento tmel neobsahují., což je zřejmě příčinou vyplavování komplexu Gramova barviva z buňky působením acetonu popř. etanolu. Prokaryotické organismy mají značné biosorpční Sorpcí je myšlena hmotnost kovu, který se nasorboval na jednotku biomasy.

2.2.2. Řasy

V dnešní době máme šest oddělení řas.

- *Rhodophyta* (červené řasy),
- *Dinophyta* (obrněnky),
- *Cryptophyta* (skrytěnky),
- *Chromophyta* (hnědé řasy, mezi které se řadí zlativky, rozsivky, chaluhy a různobrvy)
- *Chlorophyta* (zelené řasy)
- *Euglenophyta* (krásnoočka).

Řasy se také dělí podle tvaru stélky na bičíkaté, měňavkovité, kausální, kokální, vláknité, trubicovité a pletivné. Různé druhy řas se liší také podle druhu životního prostředí, některé žijí ve slané vodě, jiné ve sladké vodě a některé žijí v půdě.

Buněčnou stěnu řas tvoří mnohvrstvá mikorfibriální matrice, která z větší části obsahuje celulózu s rozptýlenými amorfními částicemi. Základním stavebním materiálem buněčné stěny některých řas je celulóza, nebo také manán nebo xylan. Někdy je matrice inkrustována oxidem křemičitým a uhličitany. Celulóza (v závislosti na druhu) může představovat 1 až 90% celkové hmoty, amorfní materiál představuje různé glykoproteidy. Velmi často je na vnějším povrchu ještě slizovitý obal, který může obsahovat urónové kyseliny, které jsou důležité při sorpci kovů. Další charakteristikou pro hnědé řasy je kyselina alginová. Rozpustné algináty jsou hydrofilní koloidy. Alginát mořských řas je přítomný ve formě solí K^+ , Na^+ , Ca^{2+} a Mg^{2+} . Tyto ionty se potom mohou vyměňovat s ionty kovů jako jsou Co^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} a Zn^{2+} . [Kaduková]

Řasy obecně mají velký význam v ekosystému. Čisticí, biosorpční a bioakumulační schopnost řas byla potvrzena mnohými studiemi. Největší podíl na biosorpčních schopnostech řas má chemické složení a druhově odlišná struktura buněčné stěny. Na povrchu řas jsou přítomné různé skupiny, např. hydroxylové (-OH), fosforylové (- PO_3H_2), amino (- NH_2), karboxylové (-COOH) a tiolové skupiny (-SH). Přítomnost jednotlivých skupin a jejich počet je druhově specifický, proto některé řasy mají schopnost vázat jiné ionty jako další skupiny, v jiných podmínkách prostředí. Stres způsobený přítomností kovů může zvyšovat povrch a drsnost buněčné stěny, a tak zvyšovat adsorpční kapacitu řas.

2.2.3. Houby

Základní rozdělení hub Systematicky se dělí houby na nižší (tzv. plísně latinsky Phycomycetes) a na houby vyšší (Eumycetes).

Mezi nižší houby patří :

- hlenky (Myxomycetes)
- chytridiomycety (Chytridiomycetes)
- plísně vaječné (Oomycetes)

Mezi vyšší houby patří:

- houby spájkivé (Zygomycetes)
- endomycety (Endomycetes)
- vřeckovýtrusé houby (Askomycetes)
- stopkovýtrusé houby (Bazidiomycetes)
- houby nedokonalé (Deuteromycetes)
- lišejníky (Lichenes)

Houby se liší od sebe svým morfologickým tvarem, způsobem rozmnožování, příjmem potravy a podle místa výskytu a dalšími prvky.

Buňky hub jsou chráněny pevnou buněčnou stěnou podobně jako buňky řas. Základní složkou buněčné stěny hub jsou polysacharidy (do 90%). Mezi tyto polysacharidy patří chitin, chitosan, celulóza, β -glukan, α -glukan, glykogen, atd. Polysacharidy se často vážou s proteiny, lipidy a pigmenty. Buněčná stěna hub má mnohvrstvou, mikorfibriální strukturu.

Houby jsou heterotrofní organismy. energii získávají aerobním dýcháním nebo kvašením. V ekosystému jsou houby prakticky nenahraditelné při rozkladu celulózy, lignidu, chitinu, keratinu a jiných těžko rozložitelných látek. Jsou naprosto nezbytné při syntéze humusových látek při tvorbě humusu. Jsou nejbohatší skupinou organismů, které jsou původci chorobu planých i kulturních rostlin. Škodlivou látkou jsou houbové jedy (mykotoxiny).

2.3. Mikrobiální společenstva

Mikroorganismy a jejich biotop (životní prostředí) tvoří funkčně vzájemně propojený dynamický celek. Prostředí poskytuje mikroorganismům živiny, energii, vodu a mikroorganismy zase zpětně působí na prostředí a spolu s ostatními organismy formují jeho biologické, fyzikální a chemické vlastnosti. Ideálním prostředím je půda. Půdní organismy tvoří biologicky aktivní část organické složky. Jejich životní prostor z ekologického hlediska označujeme jako **biotop** a jejich životní společenstva jako **biocenóza**.

Obdobně jako staví lidé svá obydlí, která se posléze rozrůstají v města, tak si budují i mikroorganismy svůj vlastní svět – tzv. **mikrokolonie**, stávající se z rozdílného počtu individuí. V tomto společenství posléze získávají mnoho výhod, využitelných v jejich činnosti, která se může ubírat různými směry. Role mikrobiálního společenstva se prolíná celou problematikou účinně fungujících biotechnologií a využíváme je hlavně v oblasti životního prostředí. Mikroorganismy jsou obecně schopné vytvářet pro lidstvo užitečné produkty, jako jsou pivo, víno a zrající sýry. Umí vyrábět složky pro pohonné hmoty, čistit odpady, které vyprodukuje, a mnoho dalších prospěšných činností. Nicméně stinnou stránkou je jejich vytrvalá touha napadat lidský organismus, parazitovat na jeho činnosti a způsobovat tak, v některých případech, až smrtelné infekce. Tato mikrobiální společenství představují jedinečnou ukázkou pojetí mikroorganismů jako tzv. “mnohobuněčného celku” tvořeného různými mikrobiálními druhy s propracovanými strategiemi přežití a koexistence v prostředí v podobě upoutaných populací. Mikrobiální společenstva hrají důležitou roli v kontextu konstrukce vhodného bioremediačního preparátu. Samotné mikroorganismy disponují mnoha rozkladnými a transformačními schopnostmi, nicméně málokdy jsou přítomny v rámci jediného druhu (taxonu).

Mikrokolonie vytvářejí různé morfologické útvary jako růžice, spirály atd. Převládající tvar jednotlivých bakterií jsou koky. U hub byl pozorován velmi úzký kontakt s mikroskopickými částicemi organické hmoty (proplétají je svými hyfami). Kromě aktivních mikroorganismů obsahuje půda celou řadu neaktivních forem, jako jsou spory hub, aktinomycet a endospory bakterií, které aktivní kolonie využívají. Kolonizace mikroorganismů závisí ve velké míře na způsobu růstu a pohybu mikroorganismů. Kolonie se může pohybovat a to vlivem proudění půdní vody a vzduchu, roznášením zárodků na povrchu těla půdní fauny nebo prostřednictvím trávicího ústrojí.

Základní jednotkou celého mikrobiálního osídlení je životaschopný jedinec, jehož rozmnožováním vzniká populace jednoho druhu. Jednotlivé populace osidlují mikrostaniště vedle sebe, takže obyvatelé jednoho agregátu patří k různým populacím. Mezi jednotlivými populacemi se formují velmi složité vazby a vztahy, které určují skladbu a činnost mikrobiálního společenstva – mikrobiocenóza. Každé mikrostaniště představuje mikrozónu rozdílných vyživovacích a osidlovacích poměrů. Probíhá v nich složitá látková přeměna. Po vyčerpání zdrojů potravy a energie činnost tohoto společenstva ustupuje a mikroorganismy přecházejí do latentního stavu až do přísunu energie.

Základní funkční jednotkou mikrobiálního společenstva je **populace**. Integrací druhových populací vzniká společenstvo **biocenóza**. Komplexní mikrobiocenóza půdy se skládá z více společenstev, přičemž nejdůležitější jsou společenstva bakterií hub a řas. Z hlediska půdní mikrobiologie jsou důležitá společenstva bakterií (**bakteriocenózy**) a společenstva hub (**mykocenózy**).

Bakteriocenózy patří mezi nejpočetnější a nejdynamičtější se rozvíjející společenstva. Zatímco mykocénózy jsou relativně stabilnější společenství než bakterie.

Mezi důležité zvláštnosti společenstev patří:

- Hustota osídlení
- Hmotnost biomasy
- Rozsah aktivních povrchů
- Druhovú skladba
- Adaptace na prostředí
- Mnohostranná aktivita v přeměně hmoty a energie

Použitá literatura

KADUKOVÁ, J. a VIRČÍKOVÁ, E. Minerálne biotechnologie III Biosorpcia kovov z roztokov, VŠB –TU Ostrava: Ediční středisko VŠB - TUO, 2003. 91 s. ISBN 80-248-0244-9.

TICHÝ, M. Toxikologie pro chemiky, toxikologie obecná, speciální, analytická a legislativa, Vydalo Karolinum – nakladatelství Univerzity Karlovy, Praha 1998, 90 s. ISBN 382-74-98

ŠILHÁNKOVÁ, L., Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology, Akademie věd České republiky : Praha 2002; ISBN 80-200-1024-6.

KOPČANOVÁ, L. Mikrobiologia pody In Marendiak, D. a kol. Polnohospodárska mikrobiologia, Príroda, Bratislava. 1987. str.131 – 247.

3. v těžbě nerostných surovin, bioloužení. Biotechnologie při získávání ušlechtilých a vzácných kovů, nanobiotechnologie Na těžbu nerostných surovin se dnes v celém světě kladou daleko větší požadavky než v minulosti. Aby se tyto požadavky mohly aspoň částečně splnit, byly zavedeny nové pracovní postupy, umožňující jednak těžbu ložisek, která se dříve např. pro své malé zásoby nebo pro svou polohu nedaly těžít (např. podmořská ložiska), jednak zpracování surovin s podstatně nižším užitečným obsahem, než jaký se dříve uznával jako hranice upravitelnosti. S pokrokem moderní doby se začaly těžít a upravovat suroviny dosud dříve opomíjené, protože naše novodobé potřeby o ně vzbudily zájem a umožnily jejich zhodnocení na trhu a pro výrobky z nich získané našly upotřebení (elektronika – např. LCD obrazovky mají odstíny červené díky europiu, zelené díky terbiu; technologie dotykových obrazovek zase vděčí indiu). Takzvané technologické kovy jako coltan (tasiterit a columbit-tantalit), kasiterit (cínovec), neodymium, praseodymium, dysprosium jsou dnes dražší než suroviny pro běžnou metalurgii. Řada z těchto minerálů byla objevena až v posledních sto letech.

3.1. Bioloužení

Vyspělé země si svoje suroviny chrání, případně s nimi drazě obchodují, a jestli lidstvo bude neobnovitelné suroviny zpracovávat jako dosud, nebudou z nich za pár desítek let skoro nic, a budou se muset začít využívat tzv. druhotné suroviny. Jednou z možností, jak omezit nebo alespoň snížit těžbu je zmodernizování a zefektivnění nynější těžby a využití i odpadů, které při těžbě vznikají. Těžba některých nerostných surovin vyžaduje jiné technologie, než jen pouhé dobývání a následné zpracování. Např. zlato získává kyanidovým loužením. Největším problémem při těžbě zlata je, že se vyskytuje v různých formách mineralizace a typu zlatonosného minerálu (zejména arzenopyrit a pyrit). A právě zde se můžou uplatnit mikroorganismy z procesu bioloužení. V posledních letech se proto začalo intenzivně pracovat na zefektivnění procesů loužení. Došlo se k závěru, že loužení lze pomocí mikroorganismů výrazně urychlit a zároveň tak zvýšit účinnost společně se snížením výrobních nákladů (nižší nároky na energii). Již malé množství stačí k urychlení procesu loužení o desítky procent. Tato technologie dostala název bioloužení (bioleaching), dříve biohydrometalurgie. Biohydrometalurgie je odvětví biotechnologie zahrnující použití mikrobů („bio“) ve vodním prostředí („hydro“) k regeneraci nebo úpravě kovů („metalurgie“).

Bioloužení je jednoduchá a efektivní technologie, která se používá pro extrakci kovů z druhořadých rud a nerostných koncentrátů. Získání kovu minerálů je založené na aktivitě chemolitotrofních bakterií. Pokud bychom bioložili sulfidické minerály, tak ty díky aktivitě bakterií převádějí nerozpustné sulfidy do rozpustných sulfátů. Nesulfidové rudy a minerály mohou být získány pomocí heterotrofních bakterií a hub. Kromě získávání nerostných surovin má bioloužení velký potenciál při čištění životního prostředí v místech, kde probíhala těžba, čištění průmyslového odpadu, detoxikaci kalů a pro čištění půd kontaminovaných těžkými kovy.

Je známo obrovské množství mikroorganismů, které se podílejí na loužení kovů. Mezi nejznámějšími autotrofními bakteriemi je rod *Acidithiobacillus*, *Leptospirillum* a z heterotrofních pak rod *Aspergillus* nebo *Penicillium*. U heterotrofních hub se mechanismus loužení liší. Houby používají kyseliny, které produkují, ve svých metabolických reakcích k rozpuštění kovu.

Tabulka 1 Acidofilní bakterie používané při bioloužení (Zhou, 2018)

Mikroorganismus	Zdroj
<i>Acidiplasma cupricumulans</i>	Mineral sulfide ore, Myanmar
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	Uranium mine heaps, Germany
<i>Acidiphilium sp.</i>	Acidic coal mine lake sediment, Germany
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	Acid, bituminous coal mine effluent, USA

<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	Wastewater of coal dump, China
<i>Ferrimicrobium acidiphilum</i>	Mine water, UK
<i>Leptospirillum ferriphilum</i>	Industrial bioleaching solution, Chile
<i>Ferrovum sp.</i>	Acid mine drainage water, Germany
<i>Sulfobacillus acidophilus</i>	Neutral drainage from copper mine, Brazil
<i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i>	Percolate solution of a bioleaching heap in copper mine, Chile

3.2. Úprava materiálu

Ještě před samotným procesem bioloužení se provádí kompletní rozbor loužené suroviny, zejména pak její mineralogické a prvkové složení. Při vysokém obsahu uhličitánů a hlušiny v rudě roste i pH reakčního prostředí, což má za následek zpomalení nebo úplné zastavení procesu. V takovém případě je nutné pH korigovat přidávkem kyseliny, která ale může způsobit nejen tvorbu nežádoucích sloučenin, ale i zvýšit celkové náklady. Neméně důležitým aspektem při procesu bioloužení je povrch loužené suroviny. Analýza povrchu se provádí společně s mineralogickým rozbohem. Čím menší jsou zrna loužené suroviny, tím větší je celkový povrch substrátu a tedy i výtěžnost kovů. Jako optimální velikost částic je uváděna hodnota 42 μm . Zvětšením povrchu substrátu dosáhneme zároveň zvýšení hustoty. Díky tomu se zvýší extrakce kovů, ale i dalších nežádoucích látek, které mohou být toxické pro mikroorganismy a tím inhibovat rychlost procesu.

3.3. Těžké kovy

Loužení je doprovázeno zvyšující se koncentrací kovů ve výluhu. V tomto výluhu jsou jak kovy využitelné (Fe, Zn, Pb, atd.) tak kovy toxické (U, Th). Samozřejmě záleží na mikroorganismech, které byly pro extrakci použity a na jejich toleranci. Na mnohé mikroorganismy, zejména heterotrofní, působí toxicky již koncentrace 0,1 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ Cu. Autotrofní bakterie mají toleranci vůči kovům podstatně vyšší. Všeobecně by se dalo říci, že některé druhy mikroorganismů velmi dobře snáší vysoké koncentrace kovů a toleruje tak např. 55 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ Cu nebo 122 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ Zn (např. u sulfidických rud používaný rod *Acidithiobacillus ferrooxidans*, nebo *Aspergillus niger*). Díky vysoké toleranci se tyto a další bakterie s vysokou tolerancí vyskytují v těžebních odpadech a v prostředí toxickém pro ostatní organismy. Z toho vyplývá různá citlivost a tolerance mikroorganismů k těžkým kovům. Je možné stejně jako u pH adaptovat konkrétní mikroorganismus na vyšší koncentrace kovů postupným zvyšováním koncentrace daného kovu.

3.4. Způsoby bioloužení

Jelikož efektivita a ekonomika bioloužení závisí na aktivitě mikroorganismů a na chemicko-mineralogickém charakteru loužené suroviny, tak není možné aplikovat jakýkoliv proces na libovolný typ suroviny. Před samotnou průmyslovou aplikací se musí optimalizovat podmínky procesu a vybrat vhodné mikroorganismy, které lze použít. Procesy bioloužení můžeme rozdělit podle pracovního objemu do tří skupin:

- Loužení v laboratorních podmínkách (0 – 10 dm^3)
- Loužení v poloprodučních podmínkách (< 10 dm^3)
- Průmyslové loužení (> 10 dm^3)

3.4.1. Loužení v laboratorních podmínkách

Bioloužení v laboratorních podmínkách zahrnuje vyhodnocení účinnosti procesu pro specifické mikroorganismy, tedy kvalitativní, kvantitativní a semikvantitativní vyhodnocení. Loužení v laboratoři se provádí ve statických nebo třepacích láhvích či nádržích. Ve většině případů se jedná o diskontinuální

postupy. V moderních laboratořích najdeme malé bioreaktory zajišťující ideální laboratorní podmínky včetně promíchávání, kontroly teploty a pH. Tyto bioreaktory mohou být kontinuální. Laboratorní testy jsou nezbytné před vlastním loužením a umožní nám tak výrazně snížit náklady za současného zvýšení efektivity procesu.

Loužení v baňkách

Při tomto procesu se bioloužení provádí v jednoduchých baňkách (Erlenmayerovy baňky), kde dochází ke styku média s mikroorganismy a nadrceným materiálem. Jedná se o nejjednodušší způsob bioloužení. Můžeme ho rozdělit i podle způsobu provzdušnění:

- bez provzdušnění – stacionární podmínky, nejjednodušší
- s provzdušněním – lze dosáhnout lepších výsledků (obsahují míchadla a aerátory)

Perkolátory

První experimenty s bioloužením byly prováděny v zařízeních nazývaných perkolátory. Perkolátor se skládá ze skleněného válce uzavřeného ve spodní části perforovaným porcelánovým dnem nebo skleněnou fritou. Na porcelánovém dnu je nasypána loužená ruda do 1/2 až 2/3 objemu. Při samotném procesu je do kolony přivedeno živné médium s mikroorganismy. Loužící činidlo poté prosakuje přes kolonu směrem vzhůru díky vhnání stlačeného vzduchu. Tento vzduch zároveň zajišťuje rovnoměrné provzdušnění v celém objemu kolony.

Ponorné loužení

Ponorné loužení vzniklo z perkolátorů, které jsou nahrazovány kvůli nedostatečnému zásobování kyslíkem, což se projevuje na konečné účinnosti procesu. Loužení v perkolátorech je velmi pomalé, série pokusů mohou trvat až 300 dní. Ponorné loužení vyžaduje jemnozrnnou rudu (100 % částic < 100 μm), která je rozptýlena v loužícím roztoku. Pomocí třepání nebo míchání je ruda udržována ve vznosu a díky tomu je zajištěno optimální provzdušnění. Toto loužení může být prováděno v Erlenmayerových baňkách nebo v bioreaktorech.

3.4.2. Loužení v poloprovozu

Loužení v poloprovozech je velmi podobné jako laboratorní loužení avšak samotný proces loužení probíhá v zařízeních pro větší objemy. Může se použít sériové uspořádání, kdy loužení probíhá ve více stupních a simuluje se tak loužení v provozu (na haldách). Rozdíly poloprovozního a laboratorního bioloužení jsou následující:

- zajištění optimálního množství kyslíku zásobování CO₂
- udržení optimálního pH

Loužící kolony

Princip loužících kolon je stejný jako u perkolátorů a užívá se jako model pro loužení na haldách. Jedná se o několik metrů vysoké válce s objemem až 200 tun rudy. V závislosti na velikosti mohou být vyrobeny z plastu, skla, betonu nebo oceli.

3.4.3. Průmyslové loužení

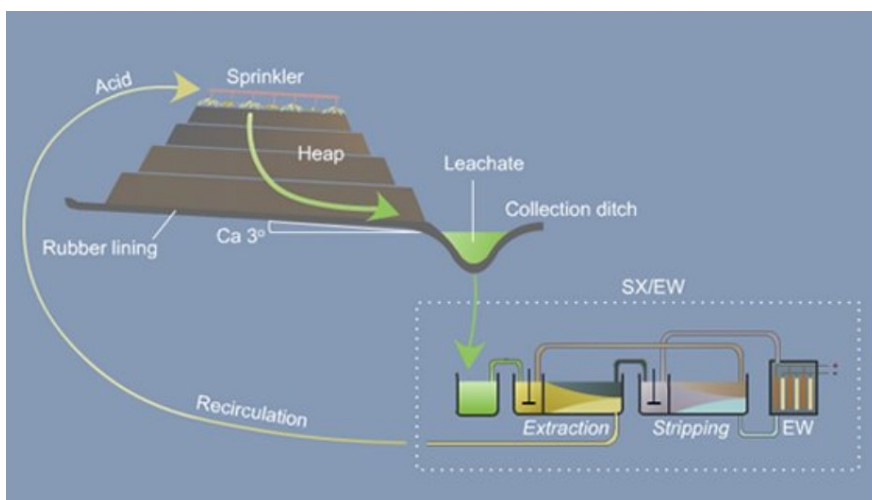
Nejjednodušším způsobem bioloužení je navrstvení rudy na haldu, skrz kterou pak protéká loužící činidlo. Jelikož se jedná o velmi pomalý proces, je zajištěna recirkulace výluhů pro vyšší výtěžnost a nižší náklady. V praxi se využívají čtyři základní postupy bioloužení: loužení na haldách, loužení jemnozrnných rud, tzv. „heap leaching“, loužení v podzemí, tzv. „in situ“, loužení v nádržích

Loužení na haldách

Při tomto typu loužení je loužící činidlo vháněno na vrchol haldy, odkud je rozváděno kanálky po celém povrchu haldy. Účinnější metodou loužení hald je zkrápění haldy pomocí systému sprch, kdy je povrch haldy zkrápěn loužícím činidlem. Další možností loužení je taktéž injektáž loužícího činidla pomocí vrtů do tělesa haldy, kdy se může společně s injektáží provádět i provzdušňování. Loužení na haldách se řadí mezi nejstarší používané technologie v oblasti bioloužení. Před samotným zahájením procesu je vhodné rudu nejdříve nadrtit na menší kusy. Při samotném bioloužení protéká loužící činidlo haldou a ve spodní části se sbírá a odvádí do oxidačních nádrží, kde dochází k regeneraci loužícího činidla pomocí. Regenerované loužící činidlo se poté vede zpět na vrchol haldy. Haldy jsou tvořeny kovonosným materiálem (obr. 2), který se získal při těžebních operacích. Velikost hald se různí podle typu materiálu, ale zejména podle množství materiálu. Proto mohou haldy obsahovat od několika set až po několik tisíc tun rudy. Těleso haldy musí být umístěno na nepropustném podkladu, jako jsou jíl, asfalt, cement, guma a plast. Většina hald má výšku kolem 200 m, šířku u vrcholu 80 m a u paty kolem 200 m. Nejčastěji se v současnosti haldy stavějí do tvaru prstovitých výběžků, které jsou vysoké pouze 10 – 15 m a dlouhé několik stovek metrů. Hlavní výhodou této koncepce je jednodušší provzdušnění celého objemu haldy.



Obrázek 1 – Loužení na haldách (Chile; zdroj mining.com)



Obrázek 2 - Schéma loužení na haldách (zdroj: 911metallurgist.com)

3.5. Bioloužení ušlechtilých kovů

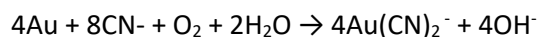
Mikroorganismy mohou loužit kovy třemi hlavní principy:

- redoxní reakce,
- tvorba organických nebo anorganických kyselin
- vylučování komplexů

V současné době probíhá průmyslová těžba ušlechtilých kovů jako jsou měď, zlato, stříbr, uranu a platinové kovy z příslušných rud procesem biologického loužení v různých částech světa, jako je Čína, Chile, Španělsko, USA, Austrálie, Ghana a Brazílie. Asi 20% světové těžby mědi a 3% celosvětově těžného zlata se produkuje prostřednictvím procesu bioloužení. K uspokojení rostoucí poptávky po kovech slouží i elektronický šrot z použitých elektronických zařízení, který se dá zpracovat šetrnější a účinnější technologií bioloužení. Většina studií bioloužení se zaměřuje na mezofilní a termofilní bakterie.

3.5.1. Získávání zlata bioloužením

Zlato je relativně inertní prvek a je jedním z kovů, který se chemicky obtížně rozpouští. Kyanid je jednou z mála chemikálií, které mohou rozpouštět zlato. Reakce mezi zlatem a kyanidem je známá jako kyanizace zlata a je shrnuta v Elsnerově rovnici:



Mnoho kyanogenních bakterií, jako je *Chromobacterium violaceum*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa*, *Bacillus megaterium* jsou schopné produkovat kyanovodík a tvořit ve vodě rozpustné kovové komplexy, což jsou pevné látky obsahující kov, například šrot z desek plošných spojů. Na rozdíl od acidofilních bakterií (například *Acidithiobacillus thiooxidans* a *Acidithiobacillus ferrooxidans*), které se běžně používají při biologickém loužení těžkých kovů, kyanogenní mikroorganismy mobilizují kovy za alkalických podmínek. Získávání zlata pomocí dvou vytvořených kmenů a původního kmene *Ch. violaceum* bylo zkoumáno a srovnáváno za účelem zjištění, zda upravené kmeny zvyšují výtěžnost zlata. K překonání problémů bioloužení zlata z elektronického odpadu byly rovněž přijaty různé strategie, které doporučují předúpravu elektronického odpadu, tak aby došlo k odstranění nežádoucí mědi, následuje adaptace bakterií *C. violaceum* na alkalické prostředí s vysokým pH. Bioloužení pak probíhá s upraveným počátečním pH pro správné loužení zlata.

Ušlechtilé a vzácné kovy z roztoku lze izolovat pomocí tradičních metod, jako je elektrolytická adsorpce na aktivní uhlí, iontoměničová extrakce nebo proces zinkové cementace. Tyto metody však jsou nákladné a vykazují nízkou selektivitu v řešení s více ionty. Bakteriemi zprostředkovaná mineralizace zlata z roztoku může být šetrnou k životnímu prostředí a udržitelnou metodou jeho získávání. Byla použita bakterie *Delftia acidovorans*, která produkuje jako svůj sekundární metabolit (delftibaktin), který se mineralizuje a vysráží zlato z roztoku. Drahé kovy se z elektronického odpadu získávají pomocí různých strategií bioloužení zlata s následným získáním zlata pomocí bakterií *D. acidovorans* odolných vůči zlatu.

Průběh loužení Au z elektronického šrotu

Kovy tvoří téměř 30 hm. % e-šrotu. Zbývající části obsahují keramiku, žáruvzdorné materiály a plasty. Z ušlechtilých kovů je nejvíce zastoupena měď, a v nižších koncentracích je zastoupeno stříbro a zlato. Ostatní kovy, jako jsou hliník, železo, zinek a olovo jsou přítomny ve velkém množství. Pokud je přítomna měď v roztoku tak se kyanizace pomocí bakterií se snižuje. Proto se elektronický šrot nejprve louží kyselinou dusičnou, čímž dochází k odstranění většiny mědi (až 80%).

Při dvoufázovém bioloužení byla bakterie *Chromobacterium violaceum* původně kultivována v médiu Luria Bertani, Miller (LB) bez přítomnosti elektronického šrotu. Poté byl do média přidán sterilizovaný elektronický šrot, ale až potom co byla zajištěna maximální hustota bakteriálních buněk a tím byla zajištěna i maximální produkce kyanidu (v rané stacionární fázi). Bylo zvoleno dvoufázové bioloužení, proto aby se minimalizovalo snížení produkce kyanidů v důsledku toxicity elektronického šrotu. Poté byly ve vylouženém médiu buňky odděleny od bakteriální kultury po dosažení maximální hustoty buněk a produkce kyanidu (16–20 hod) a pro loužící experimenty byly použity pouze nebuněčné metabolity. Ve všech experimentech s bioloužením byla kultura inkubována při 30 ° C a 170 ot/ min po dobu 8 dní od přidání elektronického šrotu. Touto metodou lze získat až 20% zlata z elektronického šrotu.

Proces bioloužení můžete vidět zde:

<https://www.youtube.com/watch?v=aSb5PNwrRx0>

<https://www.youtube.com/watch?v=XF399zN36LE>

<https://www.youtube.com/watch?v=Nutaiy7R0og>

<https://www.youtube.com/watch?v=Nutaiy7R0og>

3.6. Nanobiotechnologie – molekulární biotechnologie

Rozvoj nanotechnologií zasáhl prakticky všechna odvětví. Prvotní „boom“ nastal v oborech, kde se dají okamžitě aplikovat jako je elektronika, chemie, biotechnologie nebo medicína, ale postupně se nanotechnologie rozšířily i do stavebnictví. Nanomateriály (nanočástice, nanovlákná) mají řádově větší povrch, kterým mohou disponovat. Větší povrch propůjčuje těmto objektům mimořádné vlastnosti, které se často vymykají klasickým fyzikálním zákonům, na které jsme zvyklí v běžných materiálech. Jedná se například o teplotní nebo elektrickou vodivost, magnetické vlastnosti, různé transportní jevy, schopnosti vázat neboli chemickou reaktivitu atd. Dalo by se zjednodušeně říci, že čím menší je objekt, tím větší je jeho schopnost ovlivňovat zmíněné děje v materiálu.

Nanobiotechnologie pak využívají poznatků ze zkoumání živé přírody, principy z oblasti biologie a biomateriálů k vytváření nových přístrojů a systémů v nanorozměrech a dalších rozměrových škálách. V příštím desetiletí se očekává, že dojde ke zrychlení integrace nanotechnologií s biotechnologiemi a rovněž i s informačními technologiemi s kognitivními vědami. Oblast nanobiotechnologií (bionanotechnologií) zahrnuje především:

- biologické a chemické systémy, od molekulární k buněčné úrovni
- materiály a technologie, které ovlivňují jak biologický, tak syntetický svět
- vytváření a charakterizaci hybridních bio-elektronických a dalších systémů
- technologie nanovýroby

Od aplikací výsledků výzkumu v oblasti nanobiotechnologie (bionanotechnologie) se očekává významný pokrok v mnoha důležitých oborech, např.:

- **Aplikace v medicíně** zahrnují např. miniaturizované diagnostické metody, které by mohly být použity ke včasnému rozpoznávání chorob a stavu organismu. Nanotechnologické povrchy mohou zlepšit bioaktivitu a biokompatibilitu implantátů. Samoorganizující se struktury otevírají cestu pro nové generace tkáňových technologií a pro biomimetické materiály a poskytují dlouhodobou perspektivu pro syntetické transplantace orgánů. Vyvíjejí se zcela nové systémy pro podávání léků. Nedávno se podařilo transportovat nanočástice do buněk tumoru s cílem jeho likvidace ohřevem.

- **Výzkum potravin, vody a životního prostředí** se rozvíjí využitím bionanotechnologie zejména při zjišťování a neutralizaci přítomnosti mikroorganismů nebo pesticidů. Původ potravin by mohl být sledován pomocí nového způsobu miniaturizovaného „značkování“. Vývoj nanotechnologických (např. fotokatalytických) technologií pro odstraňování škodlivin by mohl významně pomoci při odstraňování škod v životním prostředí (např. znečištění vod nebo půdy ropnými produkty).
- **Bezpečnost** by mohla být zvýšena např. inovovanými systémy rozpoznávání s vysokou přesností a včasným upozorněním na biologické nebo chemické látky již na úrovni jednotlivých molekul.
- V dlouhodobé perspektivě by mohly molekulární nebo biomolekulární nanoelektronika, spintronika nebo kvantové počítání ukázat nové cesty, které překonají současné počítačové

3.6.1. Biosenzory

Technologie biosenzorů spojuje poznatky biologie s pokroky v mikroelektronice. Biosenzor sestává obvykle ze tří částí: biologického prvku, např. buňky, enzymu, DNA nebo protilátky, rozhraní a převodníku velmi malých rozměrů. Biologický prvek specificky detekuje přítomnost látky, která má být zjištěna, rozhraní (polymerový tenký film, chemicky modifikovaný povrch) spojuje biologický prvek s převodníkem. Převodník, přeměňující biochemický signál na elektrický nebo optický, úměrný koncentraci detekované látky, je zařízení, které je napájeno jedním systémem a které napájí druhý systém energií, obvykle jiné formy. Biosenzory mohou např. měřit a lokalizovat nečistoty v životním prostředí nebo detekovat výbušné a toxické látky nebo biologické zbraně popř. mohou měřit nutriční hodnotu, čerstvost a bezpečnost potravin.

Použitá literatura

ZHOU, Shuang, Min GAN, Jianyu ZHU, Xinxing LIU a Guanzhou QIU. Assessment of Bioleaching Microbial Community Structure and Function Based on Next-Generation Sequencing Technologies. Minerals [online]. 2018, 8(12) [cit. 2020-09-10]. DOI: 10.3390/min8120596. ISSN 2075-163X. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2075-163X/8/12/596>

DAS, Subhabrata, Gayathri NATARAJAN a Yen-Peng TING. Bio-extraction of precious metals from urban solid waste [online]. In: . 2017, s. 020004- [cit. 2020-09-10]. DOI: 10.1063/1.4974410. Dostupné z: <http://aip.scitation.org/doi/abs/10.1063/1.4974410>

Konvergující technologie – utváření budoucnosti evropské společnosti, příručka č. 1 V. řady, vyd. ČSNMT/Repronis, 10/2005, ISBN 80-7329-103-7.

Alberts B. et al.: „Základy buněčné biologie“, Espero Publishing, Ústí nad Labem, 2002, ISBN 80-902905-0-4.

Prnka T., Šperlink K. Bionanotechnologie, nanobiotechnologie, nanomedicína. Repronis : Ostrava, 2006, ISBN 80-7329-134-7.

FEČKO, Peter, Mária KUŠNIEROVÁ, Vladimír ČABLÍK a Iva PEČTOVÁ. Environmentální biotechnologie. Ostrava: Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava, Hornicko-geologická fakulta, Institut environmentálního inženýrství, 2004. ISBN 8024807009.

FEČKO, Peter, Mária KUŠNIEROVÁ, Alena SOCHORKOVÁ, Mária PRAŠČÁKOVÁ, Pavla OVČAŘÍ, Nikolas MUCHA a Iva JANÁKOVÁ. Biotechnologie v úprave uhliá. Ostrava: VŠB - Technická univerzita, 2008. ISBN 9788024817019.

4. Biotechnologie v čištění důlních vod, biosorpce, bioakumulace a bioprecipitace

Tato kapitola vymezuje pojem důlních vod, zabývá se problematikou důlních vod a jejich čištěním.

Sleduje jejich kvalitu na výstupu vzhledem ke stavu vypouštěné vody v souvislosti s novou legislativou. Zároveň popisuje způsoby odvodňování a seznamuje se specifikou chemizmu důlní vody. Upozorňuje na nejproblématictější polutanty, typické pro důlní vody, tedy železo a mangan.

Vysvětluje pojmy jako jsou biosorpce, bioakumulace a bioprecipitace **Vymezení pojmu**

Obecná charakteristika důlních vod Podle definice Horního zákona č. 44/1988 Sb. O ochraně a využití nerostného bohatství, § 40, ve znění pozdějších předpisů, jsou jako důlní vody označovány: „...všechny podzemní, povrchové a srážkové vody, které vnikly do hlubinných nebo povrchových důlních prostorů bez ohledu na to, zda se tak stalo průsakem nebo gravitací z nadloží, podloží nebo prostým vtékáním srážkové vody, a to až do jejich spojení s jinými stálými povrchovými nebo podzemními vodami.“ (Grmela) Důlní vodou vnikaly do vydobytých prostor hlubinných nebo povrchových dolů, kamenolomů, hlinišť, štěrkoven. Jsou to také doprovodné vody v těžebních ropných a plynových ložiscích, které jsou součástí těžené nerostné suroviny, např. u ložisek zemního plynu nebo ropy nebo vody, které jsou používány ke vtlačení do ložiska, např. u solí, které jsou čerpány ve formě solanky, nebo i roztoky vtlačované do horninového prostředí sloužící např. k chemické těžbě uranových rud, atd. [Grmela a Blažko]

Důlní vody mohou být, přírodní, stařinové a provozní. Přírodní důlní vody se dělí na ložiskové a mimoložiskové (vody povrchových toků a nádrží, srážkové vody). Stařinové vody jsou specifickým druhem důlních vod, protože se jedná o směsné vody ložiskové, mimoložiskové i provozní v opuštěných důlních prostorách, v zavalených oblastech. Provozní důlní vody jsou ty, které jsou do dolů sváděny uměle. (grmela, encyklopedie geologie)

Vymezení důlních vod, není jednoduché, např. u zastavených těžeben (obzvláště v údolních nivách a údolních terasách řek) kde o „důlní“ vody se nejedná, a vody jsou pojmenovány jako „infiltrované podzemní vody“. Stejně tak se nejedná o důlní vodu při těžbě štěrku ze dna nebo břehu řeky, kdy místem těžby je řečiště, jde o vody povrchového toku a ne o vodu důlní. Výtoky ze skládek nejsou považovány za důlní vody. [hydrogeologie]

Důlní vody jsou také považovány za průmyslové odpadní vody, které jsou definovány jako vody vzniklé při procesu zpracování nebo těžbě organických a anorganických surovin a také při výrobním procesu. Průmyslové odpadní vody mají různorodé složení a charakter oproti odpadním nebo splaškovým vodám. Při čištění průmyslových odpadních vod se využívají způsoby fyzikálně - chemické, chemické a biologické. Z ekonomických důvodů a pro vysokou účinnost má proto přednost biologické čištění.

4.2. Způsoby odvodňování

Nejen při zakládání důlního díla, ale i pro jeho celou životnost je velmi důležité vybudování poměrně rozsáhlého systému vodohospodářských zařízení. Nejprve se k odvodňování využívalo hloubených šachtic, později se začalo s vrty vystrojenými perforovanými pažnicemi, tzv. spouštěcími filtry. Voda stékala do důlních prostor, kde se sváděla k čerpacím stanicím. Tento postup se používá dodnes. Od druhé světové války se odvodňovací vrty zakládají zcela systematicky, a to v trojúhelníkové síti o stranách 90-120 m. 1-2

Kuřavkové písky i při nejdokonalejším odvodňování veškerou vodu nepustí, navíc jsou z povrchu neustále znovu napájeny. Zbytková voda vytéká na řezy a musí se neustále udržovat svodové příkopy k odvádění vody k čerpadlům

4.3. Chemismus důlních vod

Typ důlní vody se v rámci jednoho dolu mění jak v čase, tak v prostoru a to vlivem postupu dobývání a mění se i v závislosti na kvalitě a složení přírodní důlní vody. U dolů, které jsou v činnosti, se chemismus důlní vody mění díky mísení různých typů vody, znečišťování, odpadními látkami, produkty zvětrávání, produktům biologického rozkladu atd.

Důlní vody, které jsou čerpané z povrchových nebo hlubinných dolů, jsou zatíženy zvýšenými obsahy iontů a to zejména SO_4^{2-} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , rozpuštěnými látkami, nerozpuštěnými látkami, kyselým pH, především oxidací sulfidů železa (pyrit, markazit) přechodu jejich rozpustných složek do roztoku. Za rozpuštěné látky (RAS) se považují hlavně rozpuštěné anorganické soli (kationty kovů a aniony kyselin). Hlavní složkou RAS jsou sírany, zejména jejich soli. Mezi nerozpuštěné látky patří hlinitokřemičitany, hydratované oxidy kovů (především železa a manganu). Nerozpuštěné látky (NL) mají tuhou konzistenci, nebo zůstávají v suspenzi ve vodě díky hustotě částic, která je menší, nebo stejná jako hustota vody. Nerozpuštěné látky plovou na povrchu hladiny, nebo jsou unášeny, popřípadě sunuty po dnu.

Organické látky ve vodách mohou být dvojího způsobu, přírodního nebo antropogenního. Organické látky antropogenního původu pocházejí především ze splaškových a průmyslových vod, z odpadů ze zemědělství, ze skládek. V důlní vodě se nachází i látky biologicky rozložitelné a biochemicky rezistentní. Organické látky ve vodách se stanovují pomocí metod CHSK, tj. stanovení chemické spotřeby kyslíku, TOC, tj. stanovení organického uhlíku a BSK, tj. stanovení biochemické spotřeby kyslíku.

4.3.1. Reakce vody pH

Hodnota pH významně ovlivňuje chemické a biochemické procesy ve vodách a z tohoto hlediska mají u vod mimořádnou důležitost. Stanovení hodnoty pH je proto nepostradatelnou součástí každého chemického rozboru vody. Umožňuje rozlišit jednotlivé formy výskytu některých prvků ve vodách a ovlivňuje účinnost většiny chemických, fyzikálně - chemických a biologických procesů používaných při úpravě a čištění vod. [12] Hodnota pH se pohybuje v rozmezí 1 – 14. Čím je hodnota nižší, tím je voda kyselější a H^+ převažují nad OH^- .

4.3.2. Rozpuštěný kyslík

Kyslík se dostává do vody především difúzí z atmosféry a především při fotosyntetické asimilaci vodních rostlin, řas a sinic. [12] Nedostatek kyslíku může být způsoben dýcháním rostlin a živočichů, rozkladem organické hmoty nebo vlivem ostatních plynů. Snížení celkové koncentrace kyslíku ovlivňuje i zvýšení teploty, průsak a přítok podzemní vody nebo zvýšený obsah železa. [23] K přesycení vody kyslíkem může docházet například v turbulentních tocích nebo vlivem fotosyntézy. Obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě, hraje důležitou roli nejen při samočisticích procesech, ale také pro stav samotný. [12]

4.3.3. Sloučeniny síry

Ve vodách se vyskytuje síra anorganicky a organicky vázaná. Anorganické sloučeniny síry mohou být v oxidačním stupni – II, 0, II, IV a VI. Mezi anorganické sloučeniny síry, vyskytující se ve vodách patří sulfan a sulfidy, thiokyanatany, elementární síra, thiosírany, siřičitany a sírany. Z anorganických sloučenin mají největší význam sírany a sulfidy (včetně sulfanu). Z organických sloučenin se ve vodách vyskytují některé bílkoviny a sulfosloučeniny. Sírany, společně s hydrogenuhličitanem a chloridy, patří mezi hlavní aniony přírodních vod. Sírany vznikají oxidací sulfidických rud, což je hlavní příčinou vysokých koncentrací síranů v důlních vodách. [12] V prostých podzemních a povrchových vodách se koncentrace síranů pohybuje obvykle v desítkách či stovkách mg.l^{-1} . Ke kvalitativnímu stanovení síranů se používají metody chromatografie iontů, gravimetrické metody a metody odměrné analýzy.

Problematika důlních vod s vyššími obsahy síranů se dostává stále více do popředí zájmů vodohospodářů i státních inspekčních orgánů, protože takto znečištěné technologické a odpadní vody často zastupují enormní objemy škodlivin, které zatěžují recipienty a přírodní ekosystémy. [8]

4.4. Způsoby čištění důlní vody

Vzhledem k velkému zatížení důlní vody manganem, železem a nerozpuštěnými látkami, je potřeba je před vypuštěním do říčního toku vyčistit. K čištění důlních vod se využívá tři základních postupů: technologie fyzikální, chemické a biologické. 12, 23-26

4.4.1. Fyzikální metody čištění

Mezi fyzikální způsoby čištění odpadní vody patří mechanické způsoby. Základním typem je usazování, tedy odstranění částic těžších, nebo lehčích než voda. Usazování může být i kombinované, kde se rozlišuje čištění čířením, nebo flotací.

Číření je založeno na suspendování jemných částic do větších shluků, následná sedimentace je pak o mnoho rychlejší. K vytváření těchto větších shluků se využívají koagulanty nebo flokulanty.

4.4.2. Chemické a fyzikálně-chemické metody

Chemické čištění je založeno na odstraňování suspendovaných nebo rozpuštěných látek přidáním vhodných chemických činidel, nebo využívá zákonitostí fyzikální chemie. Mezi chemické metody patří neutralizace, srážení, oxidace a redukce, absorpce, iontová výměna a membránové separační procesy. Při neutralizaci se upravuje pH na požadovanou hodnotu a to buď mísením alkalických a kyselých vod, což je vhodné pro menší provozy, nebo se neutralizace provádí přímým dávkováním neutralizačních činidel. Srážením se rozumí převod rozpustných látek na nerozpustné, či rozpustné jen nepatrně.

Oxidace a redukce se využívá tam, kde je potřeba odstranit biologicky těžce rozložitelné látky, nebo když voda obsahuje látky, které rychle odebírají kyslík, který je zapotřebí k procesu odbourání požadovaných látek. Mezi oxidační a redukční procesy patří: fotokatalýza (tj. fotochemický degradační proces), fentonova reakce (tj. tvorba reaktivních oxidačních forem).

Flotace je fyzikálně – chemický způsob rozdělování jemného materiálu, o různém složení ve vzduchu či ve vodě. Rozdělování flotačním způsobem se zakládá na využití rozdílu smáčitelnosti povrchu různých materiálů. Podstatou flotace je separace tuhých nebo kapalných částic z kapalně fáze, která se provádí zavedením jemných vzduchových bublin do kapalně fáze. Bubliny přilnou k jednotlivým částicím, čímž vytváří aglomeráty bublina – částice s hustotou nižší než kapalina.

4.4.3. Biologické metody

Biologické metody napodobují a zrychlují mikrobiální procesy, které jsou v přírodě běžné, navíc jsou tyto metody poměrně levné, i když jsou od ostatních metod v nevýhodě svou nižší ovladatelností, či citlivostí na změnu podmínek. Rychlost biologického čištění vody závisí například na obsahu kyslíku ve vodě, hodnotě pH, teplotě, typu znečištění, době zdržení a hloubce vody. Mezi přírodní způsoby čištění vod se obecně řadí půdní filtry bez vegetace a s vegetací, vegetační čistírny (vegetační kořenové čistírny), závlaha odpadními vodami, stabilizační nádrže, bioeliminátory a akvakultury.

Biologické metody na odstraňování kovů z vodných roztoků lze rozdělit na čtyři velké skupiny:

- Bioakumulace (intracelulární akumulace)
- Bioprecipitace
- Tvorba prchavých sloučenin (volatilizace)
- Biosorpce

Z biochemického hlediska za průběh těchto procesů mohou být zodpovědné různé mechanismy, které se částečně mohou překrývat při různorodých procesech, ale odlišují se svým finálním produktem. Pravděpodobné mechanismy zodpovědné za jednotlivé procesy jsou uvedeny v následující tabulce 2.

Tabulka 2 – typy biologických metod k odstraňování kovů

Typ procesu	Typ mechanismu
Bioakumulace	vazba na intracelulární sloučeniny vnitrobuněčná precipitace methylace intracelulární akumulace v tělech vyšších organismů jiné mechanismy
Bioprecipitace	fyzikálně-chemická reakce s buněčným povrchem redukce tvorba organokovových komplexů vyloučení oxidačních činidel do roztoku
Biosorpce	fyzikální adsorpce chemisorpce iontová výměna
Tvorba prchavých sloučenin	redukce methylace

Bioakumulace je proces, který je závislý na metabolické aktivitě buněk schopných přežít v prostředí s vysokou koncentrací kovu nebo akumulovat vysoké koncentrace kovů, aniž by byla ovlivněna jejich životaschopnost.“ [10] Bioakumulace představují vnitrobuněčné zachycení kovů, ke kterému může dojít těmito způsoby [9]:

- Vazba kovů na intracelulární sloučeniny.
- Vysrážení kovů.
- Methylace kovů.
- Intracelulární akumulace kovů v tělech vyšších organismů.
- Jiné mechanismy bioakumulace kovů.

Bioprecipitace je založena na tvorbě a vysrážení kovů ve formě málo rozpustných sloučenin, například organokovových komplexů, sulfidů nebo oxidů kovů. Extracelulární precipitace může, ale nemusí být závislá na metabolismu. Většinou je pomalá, nevratná a závislá na teplotě. V současné době známe tyto čtyři mechanismy bioprecipitace kovů:

- Fyzikálně chemické interakce kovů s buněčným povrchem.
- Redukce kovů
- Tvorba organokovových komplexů
- Vyloučení oxidačních činidel do roztoku

Biosorpce je biologický proces. Je to v podstatě pasivní imobilizace kovu. Biosorpce byla zkoumána na základě pasivního ukládání nemetabolizující a nežijící biomasou. Biomasa je komplex mnoha chemických látek s odlišnými chemicky aktivními skupinami. Aktivní skupiny představují určitý směr průběhu navazujících se chemických látek nebo iontů. Ionty se přitahují z roztoků a navazují se na pevný materiál biomasy. Biosorpční metody jsou využívány dekontaminaci vod s nízkou koncentrací kovů. Proces biosorpce byl studován u řady mikroorganismů. Výhodou biosorpce je možná desorpce za určitých podmínek a zpětná recyklace biosorbentů a kovů.

Samočistící procesy probíhají v prostředí půdním, vodním a mokřadním za přímé účinnosti rostlin. Vegetace se podílí na tvorbě vhodných podmínek pro růst mikroorganismů, využívá se uvolněných látek jako je dusík, fosfor a draslík, které jsou nezbytné pro tvorbu biomasy. (šálek)

Při biologickém čištění vznikají mikroorganismy, které po určité době odumírají a následným rozkladem odumřelé biomasy vznikají odpadní produkty. Některé z těchto produktů jsou biologicky rozložitelné, ale většina z nich slouží jako živiny pro další druhy mikroorganismů. Čistírny odpadních vod využívající biologického způsobu čištění jsou založeny na regulovaném přítoku předčištěné odpadní vody umělým mokřadem, který je účelně osázen bažinatými rostlinami, vodní kulturou s vodními rostlinami, či jiným prostředím schopným odebírat z vody znečišťující látky. Bakterie mají za úkol rozkládat rozpuštěné i nerozpuštěné organické látky a anorganické látky.

Při biologickém čištění vody se používají technologie aerobního či anaerobního čištění.

Aerobní čištění využívá přítomnosti kyslíku, dochází k oxidaci organických látek a výsledným produktem je voda a oxid uhličitý. Pro dosažení dostatečného množství kyslíku, který je nezbytný pro zajištění kvalitního kontaktu vloček kalu s vodou, je nutno odpadní vodu intenzivně provzdušňovat. Aerobní mokřady se využívají k úpravě kyselé vody, kdy v oxidačních procesech dochází ke vzniku nové fáze kovů za vzniku oxidů a hydroxidů. Tyto mokřady jsou tvořeny vrstvou stojaté vody s mokřadními rostlinami. Základ mokřadů tvoří nerozpustná vrstva s mocností mezi 30 - 100 cm. Plocha mokřadu je závislá na koncentraci železa, manganu, nebo hliníku v čištěné vodě. V umělých mokřadech má na proces odbourávání kovů velký význam i zvýšené pH (6 - 8), které je nezbytné pro kvalitní srážení kovů, např. manganu.

Anaerobní čištění je čištění bez přítomnosti kyslíku. Mikrobiální rozklad biomasy probíhá samovolně na dně rybníků, v močálech apod. V těchto bezkyslíkatých prostředích dochází k vyhnívání a kvašení. Anaerobní čištění využívá kombinaci vrstvy vody (3 - 10 cm) vrstvy organického substrátu (6 - 100 cm) a vrstvy vápencového lože (15–30 cm). Anaerobní mokřad je osázen stejnou vegetací jako mokřad aerobní.

Mokřad de facto tvoří přechod mezi suchozemským a vodním ekosystémem. Jedná se o specifický biotop s organismy, které vyžadují soustavný přísun povrchové vody, nebo alespoň velmi vysokou hladinu vody podzemní. Mezi mokřady se řadí bažiny a močály. Převažují vodní nebo bažinaté rostliny tzv. hydrofytů. Substrát je, tvořen hydrickou půdou a je nasycen mělkou vodou.

Čistící procesy v mokřadech probíhají díky rostlinám (makrofytům), jejichž kořeny jsou ve stálém zaplaveném území a zelené části vyčnívají nad vodní hladinu. Fotosyntéza a dýchání tedy probíhají ve vzdušném prostředí. Řasy a sinice produkují během procesu fotosyntézy kyslík a jsou jeho významným zdrojem především v procesu čištění v biologických nádržích.

V mokřadech dochází jak k fyzikálnímu, tak chemickému i biologickému čištění. Z fyzikálních procesů se jedná o sedimentaci, z fyzikálně chemických procesů je to zejména absorpce a chemické procesy jsou zastoupeny srážením sloučenin, rozkladem látek, oxidací a redukcí. Samotné biologické procesy mají na starosti mikroorganismy, které rozkládají dusíkaté organické látky proteolytickými a amonizačními bakteriemi, probíhá zde nitrifikace, případně denitrifikace a rozklad celulózy. Další biologické procesy jsou zastoupeny rozkladem tuků, škrobů, cukrů a rozklad organických sloučenin fosforu.

Samočistící procesy mohou fungovat pouze za přítomnosti mikroorganismů, pro které mokřadní vegetace vytváří příznivé podmínky. Řasy, sinice a mokřadní rostliny produkují kyslík, tím zajišťují správnou kyslíkovou bilanci v procesu čištění. Dále rostliny transpirací převádějí určitou část vody do

vzdušného prostředí a vytvářejí příznivě mikroklima a v zimním období vytvářejí tepelnou izolaci filtračního pole a snižují možnost promrzání.

4.5. Legislativa v oblasti nakládání s důlními vodami

Předpisy, které se váží k nakládání s vodou, se postupně zpřísnují a snižují tak hodnoty emisních standardů pro vypouštění důlních vod i hodnoty imisních standardů v povrchových tocích. Jediné řešení, jak dosáhnout požadovaných limitů je cíleně zasahovat do čistírenských technologií, neustále je zdokonalovat, optimalizovat a zefektivňovat. Pozornost musí být věnována také vodě balastní, kalům, trubním materiálům provozních nádrží a stok, kde se vyčištěná voda akumuluje. Obecně jsou odpadní vody definovány v ustanovení § 38 odst. 1. a odst. 2 zákona o vodách č. 254/2001 Sb., ve znění pozdějších předpisů. Odpadní vodou se stává každá voda, jejíž vlastnosti jsou změněny použitím nebo odvedením do stokových sítí a kanalizačních přípojek.

Stanovení limitních standardů pro průmyslové vody (tab. 3), respektive přípustné hodnoty znečištění pro odpadní vody vypouštěné z vybraných průmyslových a zemědělských odvětví jsou podle novely nařízení vlády ČR č. 61/2003 Sb. označené č. 229/2007 Sb., která klasifikuje tyto vody podle odvětví průmyslové činnosti a především podle odvětvové klasifikace ekonomických činností (OKEČ) vydané Českým statistickým úřadem. Povolování vypouštění odpadních a zvláštních vod do povrchových vod vychází vodohospodářský orgán z ukazatelů přípustného znečištění, které jsou v přílohách 1. - 3. nařízení vlády 61/2003 Sb. ve znění pozdější předpisů.

Tabulka 3 Emisní limity podle NV č. 229/2007

Těžba a úprava černého a hnědého uhlí	jednotka	Přípustné hodnoty „p“
pH		6- 9
NL	mg/l	40
PAU	mg/l	0,01
mangan	mg/l	1
železo	mg/l	3

Přípustné hodnoty „p“ koncentrací a účinnosti čištění nejsou roční průměry a mohou být překročeny v povolené míře podle hodnot uvedených v příloze č. 5 k nařízení vlády 229/2007.

OKEČ nestanovuje emisní limity důlních vod pro sírany a chloridy, zatímco vodoprávní úřad sice nestanovuje přípustné emisní limity pro chloridy a sírany, ale stanovuje emisní limity pro vypouštění rozpuštěných anorganických solí (RAS) do recipientu, a to přípustnou hodnotu 2000 mg/l, což zahrnuje i přípustné limitní hodnoty jak pro chloridy, tak pro sírany.

Z hlediska vypouštění odpadních vod do recipientu a po jejich postupném smísení s povrchovými vodami jsou stanoveny imisní ukazatele a hodnoty přípustného znečištění povrchových vod uvedené v příloze č. 3 k NV 229/2007.

Tabulka 4 - Imisní standardy přípustného znečištění povrchových vod podle NV 229/2007

Ukazatel	Jednotka	Přípustné hodnoty „p“
Chloridy	mg/l	250
Sírany	mg/l	300

4.6. Příklad použití biologického čištění v reálném provozu

Nejdéle se pasivní systémy čištění uplatňují v USA, kde jsou už desítky systémů fungujících v provozu. Stejně tak například ve Velké Británii již funguje více jak třicet těchto čistíren na různých lokalitách. Fungující systémy jsou dále i v Kanadě a Jižní Americe. Následující příklad je vybrán pro svou chemickou podobnost čištěné vody s Českou republikou.

Americká společnost Allegheny Energy má zkušenosti s fungujícími systémy pasivního čištění, které prosazuje všude, kde je to technicky možné (vzhledem k prostoru), hlavně z důvodu jejich nákladové efektivity a také z důvodu prezentace firmy jako Environmental Friendly. Tato společnost vlastní a provozuje více než dvacet elektráren s výkonem více než 9 700 MW a Allegheny Power jako národní dodavatele energie. Tato společnost musela řešit čištění vyluhovaných vod z jejich uzavřených zařízení sloužících ke skládání vedlejších produktů spalování uhlí (CCB - Coal Combustion by Products). V roce 1988 začaly práce na první pilotní mokřadní čistírně na skládce v Albright v Západní Virginii. První systém se skládal pouze ze čtyř mokřadů ozeleněných transplantáty z místních rostlin a ukázal se jako úspěšný pro dosažení limitů pro vypouštění železa (1,5 mg/l), ale ne pro mangan (1 mg/l). V roce 1992 byly do systému přidány další dva bazény, aby se zlepšila míra odbourávání manganu. I když se prokázala značná míra dalšího odbourávání tohoto prvku, stále systém nebyl schopen dosáhnout stanovených limitů. V roce 1996 byly zavedeny tři šterkové filtry na jeho konci. Po inokulaci filtrů (mangan - oxidujícími bakteriemi), která probíhala jeden měsíc, bylo dosaženo téměř úplného odbourání manganu.

Typickým příkladem čištění důlních vod jsou doly v OKR (ostravsko-karvinském revíru) nebo v severočeské pánvi. Z hlediska bezpečnosti důlního provozu je nezbytné čerpat důlní vodu, což je veškerá voda nacházející se v dole. Tato voda je pak řízeně, na základě vydaných povolení, vypouštěná do vodotečí v takových limitech, aby nedošlo k ohrožení života a funkcí těchto potoků a řek. Z bezpečnostních důvodů není voda čerpána jen z provozovaných dolů, ale taktéž dochází k čerpání již utlumených-uzavřených dolů, a to z důvodu zajištění stabilní úrovně hladiny důlních vod, která neohrozí hornickou činnost v činné části.

Lom Bílina s rozlohou 13 km² a hloubkou přes 200 m se nachází v široké údolní nivě řeky Bíliny. Původní spád toků, které směřovaly přes území dolu byly svedeny do jedné nádrže, která odvádí vodu z blízkých potoků do nádrže Všechlapy. Dříve se zde voda se soustřeďovala do tzv. emeránské chodby, která odváděla důlní vodu z dolových polí. Každou vteřinu tudy protéklo 50 l vody. Nově zde byla vyhloubena 127 m hluboká čerpací jáma a průměru 5 m a 300 m dlouhou rozrážkou napojena na emeránskou chodbu. Čerpací stanice, která ročně vyčerpá z jámy 130 000 m³ typické důlní vody, je dnes osazena speciálními kalovými čerpadly. Důlní voda obsahuje vedle rozpuštěných anorganických solí, především síry a železa, i větší množství částic zemin ze splachů a jemné kuřavkové písky se silně abrazivním (brusným) účinkem. Je nutné, aby tato voda před vypuštěním do povrchových vodotečí prošla čistírnou důlních vod, kde se snižuje míra škodlivosti na přípustné koncentrace. Odčerpáváním důlní vody se zabraňuje průsakům do důlního prostoru a zaplavování sloje a tím se zvyšuje bezpečnost povrchové těžby a snižuje se hladina spodní vody. Na každou tunu uhlí se v průměru vyčerpá 1,15 m³ vody. (Luxa)

Byly zde sledovány a měřeny množství polutantů, jako jsou nerozpuštěné látky, železo a mangan, které jsou nejtypičtější pro důlní odpadní vody v této lokalitě. Největší problém byl v dosažení legislativou požadovaných limitů u manganu, který přesahoval limit o více než 50 %, dále u nerozpuštěných látek. Byl zde navržen systém mokřadů, které snížily množství polutantů a splnily požadované limity dané legislativou. Mokřady jsou sice velmi náročné na plochu, ale tento mokřad byl navržen na dostatečně velké již rekultivované ploše výsypek. Nehledě na to, že se jedná o přírodní způsob čištění, a tak takováto čistírna skvěle zapadne do krajiny. Vyčištěné vody, které projdou kaskádou mokřadů, jsou odvedeny do koryta potoka a následně do řeky Bíliny.

Přírodní dočištění důlních vod je velmi vhodný, bezpečný a v případě, že se využije i stávajícího systému chemického čištění, který pomůže vyčistit vody od nerozpuštěných látek, je i velmi efektivní.

Důlní vody ale nepředstavují jen škodlivý ekologický faktor. Jsou trvale využívány k léčebným účelům v lázních Darkov a Klimkovice. V minulosti se zde z nich vyráběla i léčivá tzv. darkovská sůl. Využití této slané a relativně teplé vody jako tepelného zdroje, popřípadě pro rekreační účely, je jednou z věcí blízké budoucnosti. (zdroj:OKD)

Použitá literatura

GRMELA, Arnošt. Problematika důlních vod a ochrana kvality povrchových vod při jejich vypouštění. In: Sborník vědeckých prací VŠB – TU Ostrava. Řada hornicko – geologická, 1999. Ostrava: ISSN 0474-8476- Roč. 45, č. 3. s. 39-48: il.

GRMELA, Arnošt; BLAŽKO, Andrej. Důlní vody a jejich začlenění v legislativě České republiky [online]. 2008 [cit. 2010-11-16]. Diamo.cz. Dostupné z WWW: <<http://slon.diamo.cz/hpvt/2004/Z/Z06.htm>>.

Sborník. Hydrogeologie. Ostrava: Vysoká škola báňská, 2001. 326 s. ISBN 807078-855-0.

Geologická encyklopedie. Geologická encyklopedie [online]. 2007, 19.01.2013 [cit. 2013-04-10]. Dostupné z: <http://www.geology.cz/aplikace/encyklopedie/term.pl>

LUXA, Jan. Doly Bílina: historie posledního a největšího lomu na Bílinsku. Teplice: NIS, 2002, 223 s. ISBN 80-238-9890-6.

Znamky.szesro.cz [online]. 2003 [cit. 2013-04-13]. Dostupné z: <http://znamky.szesro.cz/text/MVOP%20%20produkty/Odpady/prezentace%20odpadn%C3%AD%20vody.pptx>

BORSKÁ, M. Přírodní čištění odpadních vod. Ostrava, 2011. 201100237. Dostupné z: <http://dspace.vsb.cz/>. Bakalářská práce. Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava. Vedoucí práce Ing. Iva Janáková Ph.D.

CHUDOBA, Jan. Biologické čištění odpadních vod. 1. vyd. Praha: SNTL, 1991, 468 s. ISBN 80-030-0611-2. 26 VÚHU A.S. Možnosti desulfatace důlních vod membránovými procesy. Most, 2001. 27

NGUYEN, Anh V a Hans Joachim SCHULZE. Colloidal science of flotation. New York: Marcel Dekker, c2004, xix, 850 p. ISBN 08-247-4782-8.

Cobalt flotation process, recovery from copper. Zenith Machinery [online]. 2012 [cit. 2013-04-13]. Dostupné z: <http://en.rockscrusher.com/ore-beneficiationplant/cobalt-flotation-process.html> 32

ŠÁLEK, Jan a Václav TLAPÁK. Přírodní způsoby čištění znečištěných povrchových a odpadních vod. 1. vyd. Praha: Informační centrum ČKAIT, 2006, 283 s. ISBN 80-867-6974-7.

JOHNSON, Karen L. a Paul L. YOUNGER. The co-treatment of sewage and mine waters in aerobic wetlands. Engineering Geology [online]. 2006, roč. 85, 1-2, s. 5361 [cit. 2013-04-14]. ISSN 00137952. DOI: 10.1016/j.enggeo.2005.09.026. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013795206000664>

Zákon č. 254/2001 Sb. o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon). In: Sbírky zákonů na straně 5617. 2001, č. 254. Dostupné z: <http://www.mzp.cz/www/platnalegislativa.nsf/2a434831dcbe8c3fc12564e900675b>

1b/20F9C15060CAD3AEC1256AE30038D05C/\$file/z%C3%A1kon%20%C4%8D .%20254-2001%20Sb..pdf

PYTL, Vladimír. Příručka provozovatele čistírny odpadních vod. 2. vyd. Líbeznice: Medim pro SOVAK ČR, c2012, x, 209 s. ISBN 978-80-87140-26-0. 58 Česká republika.

NV č. 23/2011. In: o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod. 2003. Dostupné z: [http://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/pripustne_znecistení_vod_narizení/\\$FI LE/OOV-](http://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/pripustne_znecistení_vod_narizení/$FI LE/OOV-NV_61_2003-20110610.pdf)

NV_61_2003-20110610.pdf 59 Česká republika. Zákon č. 44/1988. In: o ochraně a využití nerostného bohatství. 1988. Dostupné z: <http://www.cbusbs.cz/prehled-platnych.aspx>

Klíčové indikátory ŽP ČR. ISSaR [online]. 2013 [cit. 2013-04-20]. Dostupné z: <http://issar.cenia.cz/issar/page.php?id=1578>

Česká republika. Směrnice GŘ a.s. č. 179/2011. In: Jednotná evidence povrchových, důlních a odpadních vod Dolů Bílina. 2011.

Česká republika. Směrnice GŘ a.s. č. 180/2011. In: Jednotná evidence povrchových, důlních a odpadních vod Dolů Bílina. 2011.

Česká republika. Směrnice GŘ a.s. č. 181/2011. In: Jednotná evidence povrchových, důlních a odpadních vod Dolů Bílina. 2011.

Česká republika. Předpis 120/2011. In: o vodovodech a kanalizacích pro veřejnou potřebu a o změně některých zákonů. 2011. Dostupné z: <http://www.psp.cz/sqw/sbirka.sqw?cz=120&r=2011>

Water's Edge Hydrology. RIGHTNOUR, TERRY A., KEVIN L. HOOVER a ROBERT COLLINS. Water's Edge Hydrology [online]. 1998 [cit. 2013-04-10]. Dostupné z: <http://www.wehydro.com/images/1998apc.pdf> 56

Into the Canyon. NUTTER, Tom. Friends of the Cheat [online]. 2009 [cit. 2013-04-10]. Dostupné z: <http://www.cheat.org/wp-content/uploads/2012/12/090268FOCspring2009.pdf>

KADUKOVÁ, J. a VIRČÍKOVÁ, E. Minerální biotechnologie III Biosorpce kovů z roztoků, VŠB –TU Ostrava: Ediční středisko VŠB - TUO, 2003. 91 s. ISBN 80-248-0244-9. [10] HORÁKOVÁ, D. BIOREMEDIACE; přírodovědecká fakulta, ústav experimentální biologie Masarykova univerzita, Brno; 2006, 83 s. skriptum vzniklo na základě podpory projektu 1509/d FRVŠ MŠMT (2006)

5. Biodegradace ropných látek

Kontaminace životního prostředí, zejména perzistentními organickými látkami je z hlediska ohrožení životního prostředí velmi vážný problém. Ropa i ropné produkty jsou základním palivem pro dopravu a nejdůležitější surovinou chemického průmyslu zejména pro výrobu plastů. Vyrábějí se z ní i některé léky a pesticidy. Především chudší země používají ropné produkty také k výrobě elektřiny (asi 7 % celkové světové produkce). (zdroj: wikipedie) Ropa a ropné látky představují tedy komoditu, bez které se člověk neobejde. Tyto látky však mají devastující účinky na životní prostředí při úniku do vody, půdy nebo ovzduší. Případů takovýchto průniků ropných látek do životního prostředí zažívá, zvláště v posledních letech, lidstvo mnoho a ani naše republika není v tomto ohledu výjimkou. Např. série havárií zásobníků s topnými médii ropného původu, nebo aktuální problém, co s upotřebenými oleji nebo ropné látky v kalesích z lagun Ostrava v Ostravě.

Pod pojmem ropné látky rozumíme jak vlastní ropu, tak produkty jejího primárního zpracování. Ropa je tmavohnědá hořlavá olejovitá kapalina, někdy se zelenomodrou fluorescencí o hustotě 800 až 1 000 kg.m⁻³. Je tvořena směsí uhlovodíků, především alkanů:

- plynné uhlovodíky (methan, ethan, propan, butan),
- kapalné (pentany, hexany a vyšší uhlovodíky)
- tuhé uhlovodíky (od C16 výše).

V ropě zcela chybí alkeny a alkyny. Mezi ropné uhlovodíky patří acyklické uhlovodíky s rovnými a rozvětvenými řetězci, cyklické nasycené uhlovodíky s jedním nebo více kruhy, aromatické uhlovodíky s jedním nebo více kruhy. V ropě jsou dále přítomny sirné, dusíkaté a kyslíkaté sloučeniny, vysokomolekulární látky (ropné pryskyřice, asfalteny, karbeny, karboidy a asfaltogenní kyseliny a anhydridy) a malé množství minerálních látek (nespalitelný zbytek).

Přibližnou představu o složení ropy dávají následující hmotnostní podíly:

- uhlík 83 – 87 %,
- vodík 10 – 14 %,
- síra do 4 %,
- dusík do 2 %
- kyslík do 1 %
- kovy V a Ni. (Rábl, 1992, <http://www.petroleum.cz/ropa/sirne-slouceniny.aspx>)

Na molekulární úrovni existují významné rozdíly v jednotlivých ropách dané regionálními podmínkami hromadění výchozího materiálu, z něhož ropa vznikla (protopetroleum), a konkrétními podmínkami jeho geo- a biochemické přeměny. Ropy se klasifikují podle několika hledisek, a to dle hustoty ropy, frakčního složení (lehké a těžké ropy), charakteru destilačního zbytku (parafinické a asfaltenické ropy) nebo např. dominujících uhlovodíků (alkanické, cyklické, aromatické ropy). (Pašek, 1996)

Základním technologickým způsobem zpracování ropy je její frakční destilace, která se obvykle provádí ve dvou stupních: atmosférická destilace a vakuová destilace. Z atmosférické destilace se získávají následující frakce: plyny, benzin, petrolej, plynový olej, lehký topný olej, a nedestilující podíl – mazut. Při vakuové destilaci se za sníženého tlaku mazut rozdestiluje na tyto frakce: těžký plynový olej, olejový destilát a nedestilující zbytek – asfalt neboli živice. (Rábl, 1992)

Konkrétní ropné produkty obsahují obvykle velké množství chemických elementů. Často se jedná o směsi různých frakcí doplněné o aditiva, které upravují žadaným způsobem vlastnosti produktu. Jedná se zejména o detergenty, inhibitory koroze, deemulgační přísady, protipěnovací aditiva. Např. motorová nafta je směsí uhlovodíků dvou destilačních frakcí ropy, a to plynového oleje a petroleje. Je složitou kombinací uhlovodíků C12 - C24 a dalších aditiv (Arvin, 1988). Typická směs motorové nafty zahrnuje více než 50 složek. Z toho je sedm převládajících, které tvoří více než 53 % směsi: isopentan, p-xylen, n-propylbenzen, 2,3-dimethylbutan, n-butan, n-pentan a toluen. (petroleum.cz)

Podle zákona č. 350/2011 Sb., resp. nařízení (ES) č. 1272/2008 je ropa klasifikována jako nebezpečná chemická látka. Jde o hořlavou kapalinu klasifikovanou jako karcinogenní látka 2. kategorie. Nebezpečí pro lidské zdraví: místně odmašťuje a dráždí pokožku, páry mohou působit narkoticky, způsobovat bolest hlavy, žaludeční nevolnost, dráždění očí a dýchacích cest. Akutní toxicita pro myš LD50 je vyšší než 4 300 mg.kg-1. Jde o látku obtížně odbouratelnou, s intenzivním negativním ovlivněním vod. Na povrchu vody vytváří souvislou vrstvu zabraňující přístupu kyslíku. Vzhledem k nepatrné rozpustnosti ve vodě se nepředpokládá perzistence v organismech. Neobsahuje ozon poškozující látky. (Česká rafinářská, 2004)

Ve Výroční zprávě 2018 ČIŽP (Česká inspekce životního prostředí, 2018) se uvádí, že ve 107 případech havarijního znečištění nebo ohrožení jakosti vod evidovaných Českou inspekcí životního prostředí v r. 2018 byly nejpočetnější skupinou znečišťujících látek ropné látky (48,6 % z celkového počtu evidovaných případů).

5.1. Mechanismus odstraňování ropných látek

Když jsou ropa nebo její deriváty (produkty zpracování) uvolněny do prostředí, jsou vystaveny širokému spektru degradačních procesů, zahrnujících řadu fyzikálních, chemických a biologických pochodů jako je odpařování, rozptyl, rozpouštění, emulzifikace, fotooxidace, mikrobiální degradace a adsorpce na pevných částicích (čepeláková, 2013; Cerniglia, 1984; Leahy a Colwell, 1990). Rychlost a rozsah těchto procesů, zejména pak biodegradace, závisí na environmentálních faktorech a složení petrochemického polutantu (Leahy a Colwell, 1990). Pokud je proces degradace přirozený nazývá se remediace.

Při odstraňování ropných látek z prostředí je možné používat metody **fyzikální, fyzikálně-chemické, chemické** či **biologické** nebo jejich **kombinace**. V praxi se některé dílčí procesy spojují v jeden složitý technologický cyklus likvidace škodlivých látek. Dále jsou uvedeny pouze procesy týkající se odstraňování znečištění ropnými produkty (Matějů, 2006). **Fyzikální procesy:**

1. ředění – kontaminovaný materiál se mísí s inertním materiálem, čímž se sníží koncentrace škodlivých látek
2. destilace – vlivem zvýšené teploty přesahující teplotu varu nežádoucí látky dochází k jejímu odpaření
3. extrakce – odstraňování kontaminantů z kapalné nebo tuhé fáze do kapaliny na základě rozpustnosti (např. odmašťování)
4. solidifikace – procesy snižování mobility kontaminantů (např. vyluhovatelnosti, těkavosti). Zahrnují srážení, krystalizaci, sorpční procesy apod.
5. stabilizace – skupina postupů, kdy dochází k chemické, fyzikální, biologické aj. stabilizaci látky v médiu, tj. odpadu, zeminách, vodném prostředí.

Chemické procesy:

1. oxidace – procesy zvyšování oxidačního stupně látek působením vzdušného kyslíku (aerací), hořením, ozonizací, oxidačními činidly, často za spolupůsobení záření
2. redukce – procesy snižování oxidačního stupně látek, často spojené se snižováním obsahu kyslíku v látkách působením redukčních činidel (např. vodík) K běžně používaným metodám

patří například BCD (base catalyze decomposition, česky zásaditý katalytický rozklad). Jedná s relativně nákladný způsob, avšak velmi účinný při odstraňování široké řady kontaminantů. Dnes se s ní běžně odstraňují těžké kovy, ropné uhlovodíky, dioxiny a další, pro životní prostředí velmi toxické látky.

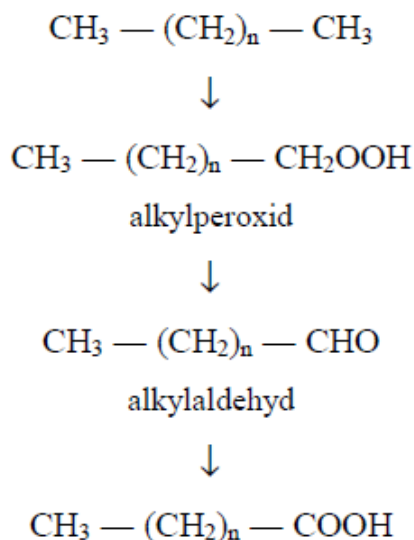
3. koagulace – proces shlukování koloidních částic za vzniku hrubě disperzních agregátů
4. fotochemické procesy – komplex chemických procesů vyvolaných působením světla
5. katalytická oxidace – využívání katalyzátorů na vhodném nosiči (např. na aktivním uhlí).

Biologické procesy

Volba biologických metod je stále častější hlavně proto, že skýtají ve srovnání s ostatními metodami ekonomicky nejpříznivější řešení a z ekologického hlediska nevznikají odpady, které musí být dále upravovány či skládkovány. Při aplikaci biologických procesů je třeba vycházet z faktu, že jsou tyto procesy velice komplexní a jejich úspěšnost (neúspěšnost) závisí na mnoha faktorech, a to chemických (druh kontaminantu, jeho chemické složení, pH prostředí, koncentrace makrobiogenních a mikrobiogenních prvků, obsah vody, přítomnost a koncentrace těžkých kovů, přítomnost inhibitorů, přítomnost akceptorů elektronů), mikrobiologických (koncentrace degradačních mikroorganismů, schopnost mikroorganismů využívat polutanty, jejich biodegradační účinnost, limitní koncentrace substrátů) a fyzikálních (teplota, rozpustnost polutantů ve vodě, sorpce polutantů na pevné částice) Při návrhu technologických postupů a jejich aplikací je třeba vzít tyto faktory v úvahu a podle potřeby je upravit tak, aby byl biodegradační proces co nejméně limitován. Kromě tradičních bioremediačních technologií (biodegradace in situ, ex situ, on site) jsou aplikovány i různé alternativy. Např. degradace ropného znečištění pomocí landfarmingu, loužení na haldách, bioremediace v bioreaktorech apod.

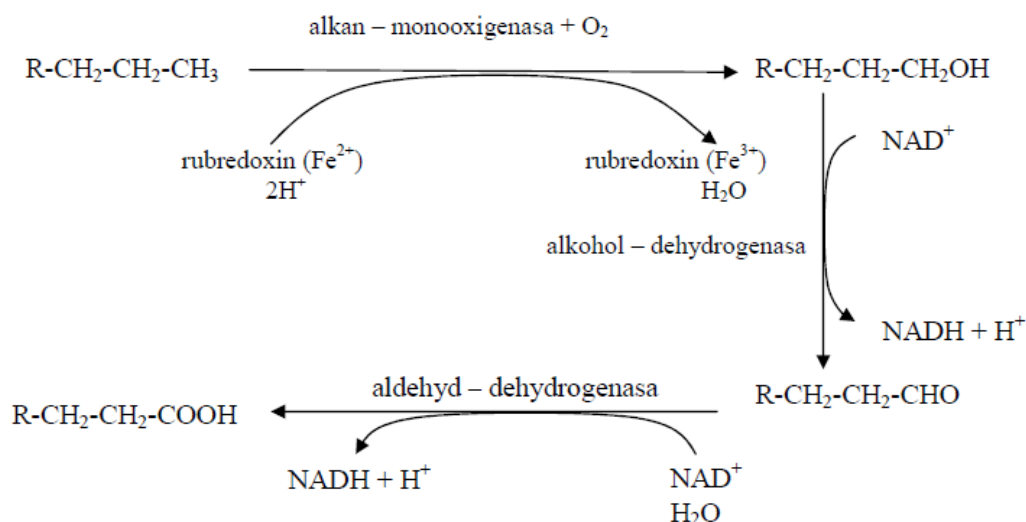
Odstraňování ropných látek pomocí mikroorganismů může probíhat dvěma způsoby. Závisí to především na použitých mikroorganismech. Pokud jsou využity anaerobní bakterie dochází k anaerobnímu katalytickému rozkladu. Při využití aerobních bakterií probíhá degradace ropných uhlovodíků oxidací. Existuje několik mechanismů oxidace. Mechanismus je značně závislý na složení kontaminované látky. Jinak probíhá degradace u motorových paliv, kde již došlo k úpravě surové ropy, a jinak probíhá biodegradace lehké kyselé ropy a ropy těžké. Každý druh ropy má jiné složení a proto i průběh degradace může být různý.

Nejprve jsou degradovány nejjednodušší uhlovodíky, a to alkaný. Mají jednoduchý řetězec, postrádají dvojnou vazbu, tím jsou náchylnější k rozkladu, než například benzen. Velkou roli hraje počet atomů uhlíků v molekule. Při biodegradaci alkanů dojde nejprve k oxidaci jednoho nebo obou methylových konců. Vznikne alkohol, poté aldehyd a nakonec karboxylová kyselina, čímž vzniká mastná kyselina, jak je znázorněno na obrázku 3 a 4.



Obrázek 3- : Schéma terminální oxidace n – alkanu

Následně dojde k její β nebo ω oxidaci. Katalyzátorem této reakce je hydroxylázový enzymatický systém. V některých případech je enzymově atakován subterminální uhlík nebo také uhlík nacházející se uprostřed řetězce, čímž vznikne keton, který se další oxidací rozštěpí. Poté dojde ke tvorbě dvou molekul kyselin. Při degradaci se alkanu se dvěma až devíti atomy uhlíku metabolizují mnohem hůře.

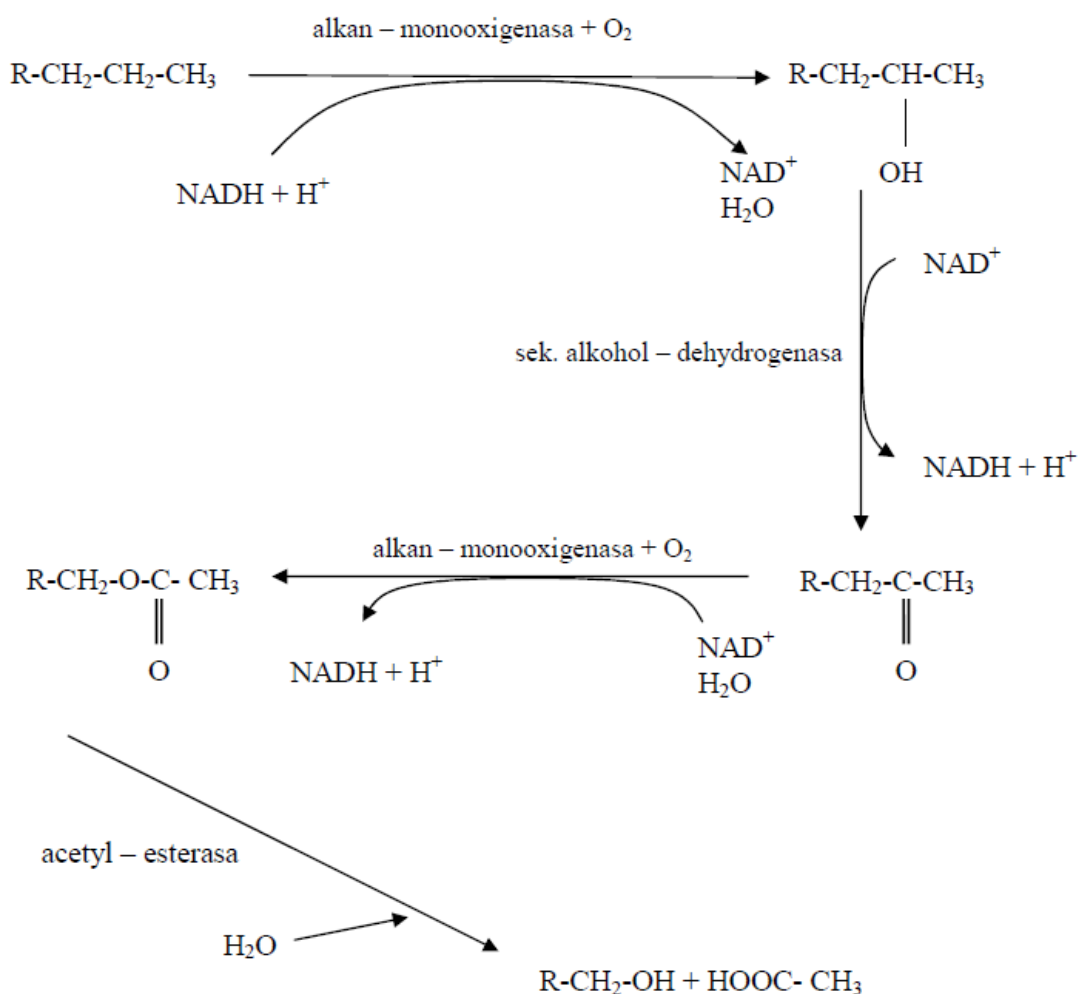


Obrázek 4 - Terminální oxidace alifatického uhlovodíku

Vznikají toxické kyseliny. Naopak alkanu s deseti až dvaceti atomy uhlíku oxidují poměrně snadno. Čím je alifatický řetězec delší, tím je degradovatelnost horší a proces se zpomaluje.

Oxidace na mastnou kyselinu je jedním z mála mechanismů, jak může dojít k degradaci uhlovodíku. Dalším způsobem je štěpení pomocí tzv. subterminální oxidace. Na rozdíl od předchozího mechanismu,

nedochází při subterminální oxidaci ke vzniku homologické mastné kyseliny. Vzniklá kyselina je o dva



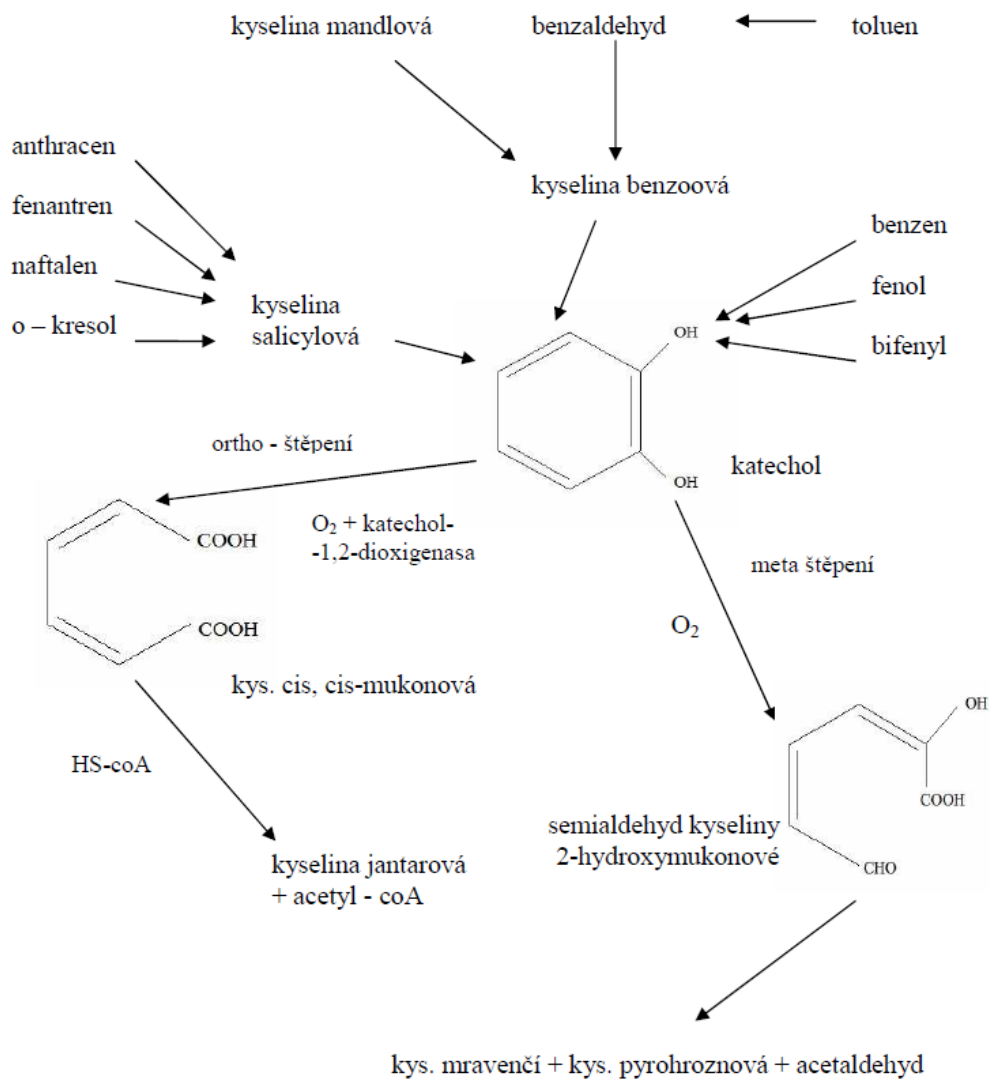
uhlíkové atomy kratší (viz Obrázek 3)

Obrázek 5 - Subterminální oxidace alifatických uhlovodíků

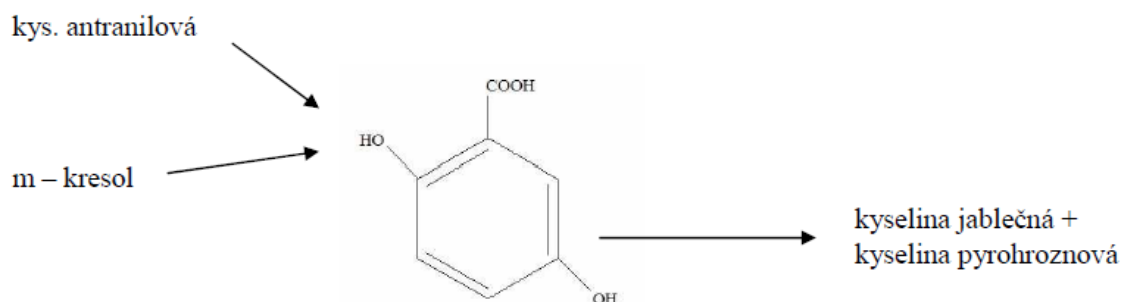
Složitějšími uhlovodíky jsou alkeny. Ty obsahují dvojně vazby, které nejsou tak snadno štěpitelné jako vazby jednoduché. K oxidaci zde může docházet buď na methylovém konci nebo na dvojně vazbě. Výsledkem reakce je karboxylová kyselina. Vytvořené karboxylové kyseliny jsou následně odbourávány β - oxidací. Při každé další oxidaci se řetězec zkracuje o dva uhlíkové atomy.

Rozvětvené uhlovodíky, izoalkany, s jednou methylovou větví se degradují hůře. Uhlovodíky s alkylovou větví ve svém řetězci nejsou prakticky vůbec napadeny uhlovodíky se dvěma methylovými větvemi. Pokud se již oxidují, vzniká značné riziko vzniku tzv. dead - end produktů.

U aromatických uhlovodíků dochází při oxidaci nejprve k hydroxilaci aromatického kruhu, který se následně rozštěpí a zoxiduje na karboxyl. Produkty štěpení jsou ve vodě rozpustné. Monoaromatické uhlovodíky a jejich deriváty se odbourávají několika dráhami, buď přes katechol (Obrázek 6), kyselinu protokatechovou nebo kyselinu gentisovou, jak ukazuje (obrázek 7).



Obrázek 6 - Oxidace aromatických uhlovodíků přes katechol



Obrázek 7 - Oxidace aromatických uhlovodíků přes kyselinu gentisovou

Více aromatické uhlovodíky jsou ještě odolnější. Čím více obsahují jader, tím je degradace složitější. Například u naftalenu se nejprve postupně odbourávají aromatické kruhy a ten poslední, který zůstane, je oxidován přes katechol či kyselinu gentisovou. Cílem biodegradace je rozštěpit uhlovodíky na oxid uhličitý a vodu.

Do reakce se zapojuje celá řada enzymů. K nejdůležitějším patří oxigenasy, které katalyzují zabudování jednoho nebo dvou atomů kyslíku do molekuly uhlovodíku, tím zahajují mikrobiální rozklad. Kyslík je tudíž nejen zdrojem energie, ale hlavně činidlem podílejícím se na reakcích katalyzovaných oxigenasami. Blíže se oxigenasy označují podle napadeného uhlovodíku a počtu inkorporovaných atomů kyslíku (např. methanmonooxigenasa atd.)

Bioaugmentace

Enzymy jsou v organismu kódovány pomocí konkrétních genů. Ty zajišťují jejich tvorbu. Jednotlivé enzymy pak katalyzují či inhibují průběh celé reakce. Každý druh bakterie vytváří trochu odlišné enzymy, v závislosti na původu svého výskytu a podmínkách. Při využívání autochtonních organismů nemusí dojít k optimálnímu využití jejich potenciálu, ať už z důvodu jejich nízké koncentrace nebo nepříznivých podmínek.

U bioremediací, kde nelze využít autochtonních bakterií, je možno nasadit allochtonní mikroorganismy. Takovému procesu se říká bioaugmentace. Allochtonní bakterie jsou většinou izolovány z kontaminovaných míst (nemusí jít nutně o místo, kde bude probíhat biodegradace). Pomocí různých postupů genetické mutace, případně transgenese konkrétních genů se specifickými vlastnostmi, lze upravit schopnost bakterií biodegradovat znečišťující látky v místě kontaminace. U těchto mikroorganismů je často ovlivňována produkce některých enzymů, například přidáním vhodného substrátu. Genetická informace pro tvorbu požadovaných enzymů je nesena na plastidech, mobilních částech DNA mimo chromosom bakterie. Rizikem však je, že při špatném způsobu kultivace a množení bakterií může dojít v vyředování nových vlastností a u třetí až čtvrté generace k jejich úplné ztrátě.

Využití allochtonních bakterií může značně urychlit a zefektivnit biodegradaci. Je však nutné zamyslet se nad její vhodností. Na některých kontaminovaných místech dojde časem k přirozené selekci vhodných autochtonních mikroorganismů a k jejich adaptaci na polutant.

5.2. Příprava mikroorganismů k biodegradaci ropných uhlovodíků

Existují 3 metody, jak odstranit ropné látky pomocí mikroorganismů.

Jak už bylo zmíněno výše, s největší pravděpodobností ropa vzniká biogenní cestou. I díky tomu jsou v ropě přítomny mnohé mikroorganismy stejně tak, jako v úložišti, kde se nachází.

První přístup k degradaci ropy předpokládá přítomnost mikroorganismů na místě kontaminace. Tyto organismy však nemohou úspěšně degradovat kontaminant, protože nemají ideální podmínky pro růst. Mohou chybět některé živiny, nebo je koncentrace škodlivých látek příliš vysoká. Vhodnou stimulací mikroorganismů živinami a optimalizací podmínek, lze úspěšně zvýšit jejich aktivitu. Poté může dojít k biodegradaci. Nejčastěji používaným poměrem základních makrobiogenních prvků je C:N:P 300:10:1. Bohatý přísun uhlíku, dusíkatých a fosforečných živin zaručí správný růst mikroorganismů.

Druhý způsob se od prvního příliš neliší. Avšak mikroorganismy, přítomné v kontaminovaném prostředí jsou nejprve izolovány, za stálých podmínek (ve fermentorech) pomnoženy a následně vráceny do znečištěné oblasti. Jejich koncentrace je poté mnohem vyšší než na začátku a jsou lépe schopné, degradovat kontaminanty.

V dnešní době je asi nepoužívanější třetí metoda, jejíž výhodou je především možnost významně kontrolovat a předvídat průběh a úspěšnost degradace. Z různých míst jsou izolovány mikroorganismy, které mají přesně definované vlastnosti a dané rozmezí látek, jež degradují. Tyto mikroorganismy jsou před použitím namoženy ve fermentorech, případně adaptovány postupně se zvyšujícím množstvím kontaminantu, a následně ve vhodné koncentraci naočkovány do prostředí. Jedná se o nejdražší metodu vzhledem k ceně čistých kultur. Také je důležité znát přesné složení a vlastnosti

kontaminované oblasti, aby nedošlo k úhynu naočkované kultury. Pro biodegradaci se nejčastěji využívají směsné kultury. Na rozdíl od čistých kultur jsou schopné odstranit širší spektrum škodlivých látek či si navzájem vypomocet při degradaci určitého kontaminantu.

5.3. Faktory ovlivňující biodegradaci

Vzhledem k biologickému aspektu jsou biodegradace významně ovlivňovány mnohými faktory jako je hustota mikrobiální populace, dostupnost a koncentrace živin, přítomnost kyslíku. Z dalších vlivů je to pak především teplota, pH a v neposlední řadě také vlhkost prostředí (např. půd).

Pro správný růst a výživu bakterií je nutné zajistit vhodnou koncentraci živin. Například v půdách kontaminovaných ropnými látkami bývá často nedostatek dusíku a fosforu, na rozdíl od značného množství uhlíku. Dusík je nejčastěji dodáván ve formě NH_4^- solí, jako jsou ortofosforečnany a polyfosforečnany. Kromě amonných solí se dodávají živiny také z odpadu z výroby piva, extrakty z kvasnic a olejofilní hnojiva. Někdy se také přidává draslík, který dokáže stimulovat biodegradaci.

Pro dekontaminaci ropných uhlovodíků je také důležitá zrnitost vstupního vzorku (pokud je v tuhé fázi). Pokud je odlišná, je nutné nejprve homogenizovat prostředí. Příliš velký průměr tuhých částic může významně zpomalit celý průběh degradace. Také malá aktivní plocha tuhých částic znesnadňuje přístup mikroorganismů ke kontaminantu. Tím se velice snižuje účinnost celého procesu. Některé látky tak nemusí být vůbec rozloženy.

Aby mohlo dojít k oxidačnímu procesu, je nutné zajistit přístup kyslíku. Pro striktně aerobní organismy je nezbytný k přežití. Bakterie mohou získávat kyslík buď z okolí přirozenou cestou, zde však dochází k nerovnoměrnému přístupu kyslíku a rozklad probíhá značně nerovnoměrně. Pro zajištění ideálního průběhu degradace je pak ideální zajistit promíchávání rmutu (u kapalných druhů znečištění) s provzdušňováním nebo pomocí vhánění vzduchu udržovat tuhé vzorky ropných kalů ve vznosu a zvýšit tak kontaktní plochu ropných látek s bakteriemi. V reálných podmínkách se pak provzdušňování zajišťuje například pomocí metod airspargingu nebo bioventingu.

Na celý průběh degradace má také příznivý vliv použití surfaktantů a dispergátorů. Ty umožňují narušení viskozity ropných látek, zvyšují jejich hydrofilitu a umožňují snažší rozklad. U aromatických nebo polycyklických uhlovodíků je pro odbourávání nutný takvaný kosubstrát, například ve formě karboxylové kyseliny nebo jiné organické látky (cukr). Ten pomáhá snížit hydrofobitu ropných látek.

Na rozklad ropných uhlovodíků může mít také vliv přítomnost maltenů a asfaltenů, které ovlivňují adhezi mikroorganismů na povrch uhlovodíku. Pokud je mikroorganismům znemožněno přilnout k povrchu uhlovodíku tak nedojde vůbec k degradaci.

Teplota a pH také hrají významnou roli. Ovlivňují růst a aktivitu bakterií. Pro odbourávání ropných kalů bakteriemi *Pseudomonas putida* či *Rhodococcus species* se optimální rozmezí teploty pohybuje mezi zhruba 18 - 35°C. Ideální pH pro růst je potom 6,0 – 7,5. Pokud nemá degradované prostředí dostatečnou pufrovací kapacitu, dochází díky tvorbě organických kyselin k poklesu pH. Nízké pH může následně způsobit snížení aktivity bakterií nebo také jejich úhyn.

5.4. Bakterie vhodné pro degradaci ropných látek

V současné době je známo více než 200 druhů mikroorganismů schopných degradovat uhlovodíky, přičemž pořadí jejich důležitosti je následující: heterotrofní bakterie, houby, aerobní bakterie, aktinomyceety, fototrofy a oligotrofní bakterie. Nejčastěji izolované bakterie se řadí k rodům *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Micrococcus* a *Corynebacterium*.

Bakterie se podle jejich rozšíření v prostředí mohou dále dělit.

Bakterie v půdě můžeme rozdělit do tří skupin:

1. autochtonní bakterie – přirozené půdní bakterie. V půdě jsou ve větším a konstantním počtu a jejich množství se příliš nemění v přítomnosti či nedostatku specifických živin. Patří sem některé druhy rodu *Pseudomonas*, zejména *P. fluorescens*, *P. stutzeri*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Streptomyces*, *Nocardia* a další jim příbuzné bakterie.
2. zymogenní bakterie – patří mezi biochemicky aktivní druhy bakterií. Vyžadují pro svou činnost substrát, který je snadno využitelný, a podílejí se na zpřístupnění organických látek rostlinám. Patří sem druhy rodu *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Enterobacter*, *Aeromonas* a další. Mají důležitou úlohu při koloběhu dusíku a uhlíku v přírodě.
3. Patogenní bakterie – primárně se vyskytující v půdě, např. *Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*. Patogenní bakterie, které se dostávají do půdy sekundárně a přežívají v ní různě dlouhou dobu, jsou především ty, které tvoří spory, např. *Bacillus anthracis*.

Bakterie rozšířené ve vodě lze dělit do tří skupin:

1. autochtonní vodní bakterie, např. *Chromobacterium violaceum*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Spirillum*
2. bakterie, jejichž původním stanovištěm je půda, např. *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Brevibacterium*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Streptomyces*
3. bakterie ze střev člověka a zvířat. Jsou to především gramnegativní nesporulující tyčinky z čeledi *Enterobacteriaceae*, některé streptokoky, jako *Streptococcus faecalis*, některé druhy rodu *Clostridium*.

Bakterie ve vzduchu: hlavním zdrojem bakterií ve venkovním vzduchu je půda. Množství bakterií ve vzduchu nad pevninou závisí na aktivitě v dané oblasti a na množství prachu.

Intenzivní výzkum v oblasti biodegradací potvrzuje, že uplatnění vedle bakterií najdou i jiné mikroorganismy včetně hub a řas (obr. 8).

ALKANY		AROMÁTY		CYKLOALKANY	
Bakterie:	Houby:	Bakterie:	Houby:	Bakterie:	Houby:
<i>Pseudomonas</i>	<i>Candida</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Phytkochytrium</i>	<i>Alcaligenes</i>	<i>Penicillium</i>
<i>Acinetobacter</i>	<i>Saccharomyces</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>Phizophlyctis</i>	<i>Achromobacter</i>	
<i>Alcaligenes</i>	<i>Streptomyces</i>	<i>Moraxelia</i>	<i>Phytophthora</i>	<i>Pseudomonas</i>	
<i>Torulopsis</i>		<i>Beijerinckia</i>	<i>Thraustochytrium</i>	<i>Alcaligenes</i>	
<i>Bacillus</i>		<i>Flavobacterium</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Corynebacterium</i>	
<i>Arthrobacter</i>		<i>Achromobacter</i>	<i>Cunnigharriella</i>	<i>Micrococcus</i>	
<i>Chlorella</i>		<i>Nocardia</i>	<i>Syncephalastrum</i>	<i>Nocardia</i>	
<i>Brevibacterium</i>		<i>Corynebacterium</i>	<i>Mucor</i>	<i>Sarcina</i>	
<i>Corynebacterium</i>			<i>Girbeltella</i>	<i>Mycobacterium</i>	
<i>Mycobacterium</i>			<i>Absidia</i>	<i>Acetobacter</i>	
			<i>Zygorrhynchus</i>	<i>Bacterium</i>	
			<i>Penicillium</i>	<i>aliphaticum</i>	
		Řasy:	<i>Choanephora</i>		
		<i>Oscillatoria</i>	<i>Phycomyces</i>		
		<i>Anabaena</i>	<i>Circinella</i>		
		<i>Agmenellum</i>	<i>Thamnidium</i>		
		<i>Nortoc</i>	<i>Rhizopus</i>		
		<i>Coccochloris</i>	<i>Basidiobolus</i>		
		<i>Aphanocapsa</i>	<i>Conidiobolus</i>		
		<i>Porphyridium</i>	<i>Smittium</i>		
		<i>Petalonia</i>	<i>Saproiegnia</i>		
		<i>Cylindrotheca</i>	<i>Saccharomyces</i>		
		<i>Amphora</i>	<i>Emericellopsis</i>		
		<i>Nitzschia</i>	<i>Neurospora</i>		
		<i>Navidula</i>	<i>Sordana</i>		
		<i>Chlorella</i>	<i>Claviceps</i>		
		<i>Dunaliella</i>	<i>Candida</i>		
		<i>Chlamydomonas</i>	<i>Debaryomyces</i>		
		<i>Ulva</i>			
		<i>Microcoleus</i>			

Obrázek 8 - Aerobní mikroorganismy degradující ropné uhlovodíky

Vzhledem ke komplexnosti biodegradčních procesů mají tyto mikroorganismy nejrůznější metabolické vybavení. Skladba mikrobiální populace v otevřeném biologickém systému je do značné míry dána teplotou prostředí (nejčastěji jsou zde zastoupeny mezofilní druhy s teplotním optimem v rozmezí 14 - 40 °C). Požadavky na mikroorganismy používané jako inokulum pro biodegradace lze shrnout podle Korandy a Lhotského (Koranda et al., 1997) do následujících bodů:

- schopnost přežití v prostředí a schopnost kompetice s původními bakteriálními kmeny
- schopnost migrace od místa aplikace do místa kontaminace, a to v matrici, kdy je bakteriální transport pomalý
- dostatečná schopnost adheze na půdní částice, aby nedocházelo k jejich vymytí
- schopnost dlouhodobě zachovat své vlastnosti, tj. genetická stabilita
- taxonomické zařazení
- organismus nesmí být patogenní ani podmíněně patogenní

V reálném systému (např. na sanované lokalitě) existují vedle sebe různé organismy, které mezi sebou interagují. Vzájemné vztahy mezi mikroorganismy mohou ovlivnit kvantitativní i kvalitativní zastoupení mikroorganismů v prostředí, potažmo tak průběh biodegradace. Pro navrhnutí technologického postupu bioremediace je proto vhodné znát komplexní složení prostředí a zastoupení mikroorganismů včetně jejich metabolických drah. Změnou podmínek prostředí lze dosáhnout i změny v zastoupení jednotlivých mikroorganismů a lze tak v některých případech odstartovat proces biodegradace. Pokud se ovšem mikroorganismy schopné rozkladu polutantu v prostředí nenaleznou, je nutné provést inokulaci prostředí mikroorganismem, který požadovanou biodegradční drahou disponuje (tzv. bioaugmentace alochtonní kulturou viz. kap. 1.2.). Aby takto vnesený mikroorganismus v prostředí přežil, musí být schopen rychlé adaptace na nové podmínky prostředí, dále musí využívat z prostředí kromě polutantu také další potřebné živiny a osídlit určitý prostor.

Není-li původní mikroflóra schopna využívat kontaminant, má vnesený mikroorganismus selektivní výhodu v tom, že jeho C-zdroj (polutant) není využíván dalšími mikroorganismy a nemusí s nimi o něj soutěžit. Pokud je inokulace přímo závislá na přítomnosti polutantu, dojde při poklesu jeho koncentrace vlivem biodegradace k přirozenému odumření aplikované populace, což je z pohledu minimalizace zásahu do poměrů okolních podmínek velkou výhodou.

5.5. Biopaliva

Biopaliva jsou suroviny používané v automobilovém průmyslu jako náhrada nafty a benzínu. Na rozdíl od ropy je biosložka obnovitelným zdrojem energie. Největší rozvoj biopaliv byl zaznamenán na počátku dvacátého prvního století. Důvodem zavedení v EU byla snaha o snížení emisí oxidu uhličitého i pokus zajistit nový příjem pro zemědělce. Tehdejší první generace biopaliv se vyráběla především z řepky, nyní už se ve světě objevuje i druhá generace, která využívá odpad například ze slámy nebo ze zpracování dřeva. Prvním opatřením EU vedoucím k rozšíření využívání biopaliv bylo v roce 2003 přijetí směrnice Evropského parlamentu a Rady 2003/30/ES o podpoře využívání biopaliv nebo jiných obnovitelných paliv v dopravě. Cílem směrnice je podpořit využívání biopaliv nebo jiných obnovitelných pohonných hmot za účelem nahrazení nafty nebo benzínu pro dopravní účely v každém členském státě se záměrem přispět k dosahování takových cílů, jako je dodržování závazků týkajících se změny klimatu, zajištění bezpečnosti zásobování šetrného k životnímu prostředí a podpora obnovitelných zdrojů energie. (http://chemicke-listy.cz/docs/full/2010_08_784-790.pdf)

Některé výhody a nevýhody biopaliv:

výhody

obnovitelný zdroj energie

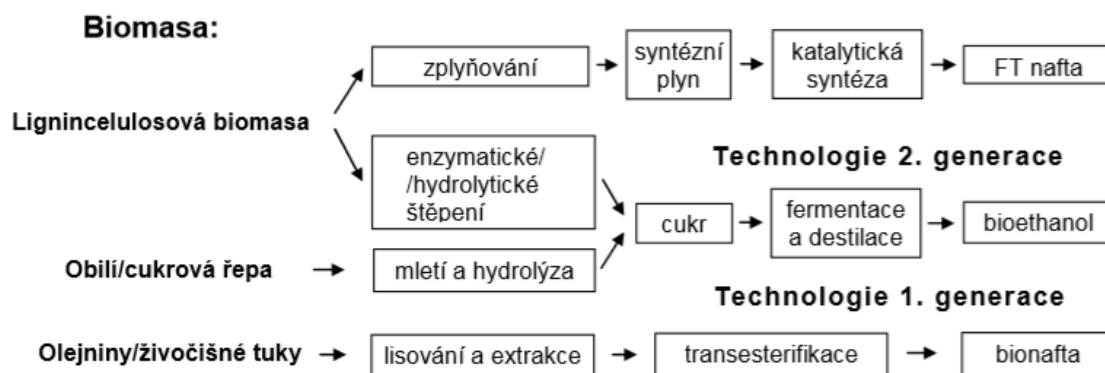
při dotacích nižší cena

nižší emise oxidu uhličitého (do roku 2020 o 394 mil. tun)

nevýhody

na výrobu litru biopaliva se spotřebuje 2500 litrů vody

větší množství řepky vede k úhynu zvěře
motor má o několik procent nižší výkon



Obrázek 9 - Technologické postupy výroby biopaliv první a druhé generace, FT-diesel, syntetická motorová nafta (FischerovaTropschova syntéza), biodiesel, bionafta

Biopaliva druhé generace se od biopaliv první generace odlišují svým vlivem na životní prostředí a především druhem biomasy jako suroviny pro jejich výrobu. Biopaliva I. generace vykazují nízké saldo

produkce CO₂ během celého životního cyklu jsou vyráběna z „potravinářské“ biomasy. Biopaliva II. generace vykazují významný pozitivní rozdíl v saldu produkce CO₂ během životního cyklu a jsou vyráběna z „nepotravinářské“ lignocelulosové biomasy (dřevo, sláma, rostlinné odpady, rychle rostoucí dřeviny atd.). Biopaliva druhé generace mají až 90% potenciál snížení emisí CO₂ ve srovnání se svou fosilní alternativou. (http://chemicke-listy.cz/docs/full/2010_08_784-790.pdf)

Mezi biopaliva druhé generace patří:

- bioethanol vyráběný z lignocelulosové biomasy,
- syntetická motorová nafta jako produkt FischerovyTropschovy syntézy,
- biomethanol jako produkt katalytické konverze syntézního plynu,
- biodimethylether jako produkt katalytické konverze syntézního plynu,
- biovodík jako produkt katalytické konverze syntézního plynu.

Palivo obsahující biosložkou má kratší životnost. Pokud by se přidala biosložka do klasického benzínu nebo motorové nafty, tak dochází ke zkrácení životnosti. Zkrácení je obtížné odhadnout, nicméně udržitelnost paliva se pohybuje v řádu měsíců. Když se ponechá takové palivo v nádrži dlouho, začne odbourávání biosložky. Začne docházet k biodegradaci a může docházet ke tvorbě pevných usazenin, které mohou ucpat palivový filtr nebo vstřikovací trysky.

Použitá literatura

RÁBL, V. Ropné látky – výroba, typy, vlastnosti. Sborník referátů Aktuální ekologické otázky – Ropné látky, 1992, s. 42-43

PAŠEK, J. Uhlíkaté suroviny. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. 2. vydání. Praha, 1996, s. 9-14

MATĚJŮ, V. Metodika mikrobiálních analýz a testy biodegradačních schopností mikroorganismů. Sborník konference Využití biodegradačních metod při sanacích znečištění, Seč u Chrudimi, 1997, s. 75-81

MATĚJŮ, V. Technologie in situ. Biologické postupy. In: Kompendium sanačních technologií, Chrudim, 2006, s. 10-12

MATĚJŮ, V. Dekontaminační technologie. Biologické sanační metody I [online]. Návody a skripta, VŠCHT, 2006. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/uchop/udalosti/skripta/sanace/index.html>

MORGAN, P., WATKINSON, R. J. Hydrocarbon Degradation in Soils and Methods for Soil Biotreatment. Crit. Rev. Biotechnol. 8, 1989, s. 305–333

GOODWIN, N. S., PARK, P. J. D., RAWLINSON, A. P. Crude Oil Biodegradation under Simulated and Natural Conditions. In: Advances in Organic Geochemistry, Bjorøy, M. et al. (Ed.), New York, 1981, s. 650-658

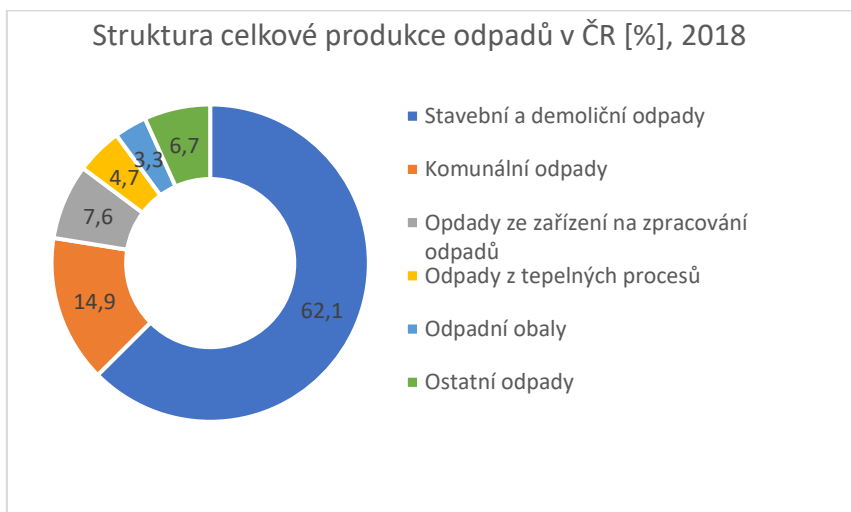
HARMESEN, J. et al. Theory and Application of Landfarming to Remediate Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Mineral Oil-Contaminated Sediments. Beneficial Reuse Journal of Environmental Quality, 36, 4, 2007, s. 1112-1122

6. Biotechnologie v ŽP – zpracování a likvidace odpadů

Obrovský rozmach průmyslu ve 20. století, mimořádně vysoká koncentrace obyvatel v oblastech, kde se soustředí průmysl a zemědělství má za následek nejen vznik obrovského množství odpadů, ale také nepříznivě ovlivňuje přirozený koloběh prvků, což zasahuje i do činnosti mikroorganismů.

Odpady a obaly, produkované konzumní společností ve velkém množství, mohou představovat rizikový faktor jak pro lidské zdraví, tak pro ekosystémy. Při produkci odpadů i během nakládání s nimi může docházet k úniku nepůvodních látek do prostředí a k následnému znečištění jeho jednotlivých složek. Navíc produkce i nakládání s odpady, zejména pak skládkování, způsobuje zábor půdy. Tímto způsobem může být narušen krajinný ráz a funkce krajiny, což následně ovlivňuje vývoj biotopů a jednotlivých druhů rostlin a živočichů. Problémy činí i vznik zápachu a hluku při provozu zařízení na nakládání s odpady. Látky obsažené v odpadech a obalech se prostřednictvím potravního řetězce mohou dostat do lidského organismu a negativně tak ovlivnit jeho zdraví. V souladu s platnou hierarchií způsobů nakládání s odpady je pro omezení negativního vlivu všech druhů odpadů na životní prostředí a lidské zdraví důležité s odpady a obaly správně nakládat a ideálně předcházet jejich vzniku. V současnosti je v odpadovém hospodářství stěžejním trendem snaha o přechod na oběhové hospodářství, kdy dochází k uzavírání toků materiálů v dlouhotrvajících cyklech a důraz je kladen na prevenci vzniku odpadů, opětovné využití výrobků, recyklaci a přeměnu na energie namísto těžby nerostných surovin a přibývání skládek. Pozornost na národní i celoevropské úrovni je věnována také problematice plýtvání potravinami. Speciální pozornost je věnována komunálnímu odpadu, jehož vznik je úzce spjat s místem pobytu a životním stylem každého jedince, a tak zároveň bezprostředně ovlivňuje i jeho okolí. Ve směsném komunálním odpadu se při absenci třídění mohou navíc objevit nebezpečné složky, jako například baterie a akumulátory, barvy, rozpouštědla, léky apod. (cenia výroční zpráva 2018)

Celková produkce odpadů (obr 10) v období mezi lety 2017 a 2018 meziročně stoupla o 9,5 % na 37 784,8 tis. t. Od roku 2009 tak došlo k jejímu 17,1% navýšení.



Obrázek 10 - Struktura celkové produkce odpadů v ČR, rok 2018 (zdroj: Cenia)

Mikroorganismy v moderním světě hrají velkou úlohu a jejich široké použití ve všech oblastech průmyslu a zemědělství má nesporné zásluhy. V poslední době se stále více objevuje snaha použít mikroorganismy pro odstranění následků vlivu civilizačních faktorů na životní prostředí. Jde hlavně o ekologické havárie a škody způsobené na životním prostředí průmyslovou výrobou a použitím chemie v zemědělství. Jedná se především o mikroorganismy, které jsou schopny rozkládat xenobiotika

(syntetické toxické látky), které se dostaly do životního prostředí nebo byly do přírody záměrně aplikovány, ale jejich účinky jsou v životním prostředí nežádoucí. Některé z nich nepříznivě ovlivňují celý ekosystém nebo jenom některé složky životního prostředí nebo jsou to látky např. karcinogenní. To platí zejména o pesticidech, které v přírodě přetrvávají více než 20 let.

Nebezpečné odpady v roce 2018 představovaly jen 4,7 % celkové produkce všech odpadů. Vzhledem ke své nebezpečnosti patří podíl celkové produkce nebezpečných odpadů na celkové produkci odpadů mezi základní ukazatele pro sledování vývoje odpadového hospodářství ČR. Nebezpečné odpady patří mezi látky vysoce rizikové, co se týče kontaminace např. xenobiotiky, ropnými produkty, těžkými kovy apod. Mikroorganismy, rozkládající tyto organické kontaminanty, resp. těžké kovy patří do různých skupin od gramnegativních a grampozitivních bakterií až k heterotrofním houbám. Velmi často se zde uplatňují rody *Pseudomonas* a další gramnegativní tyčinky. Z grampozitivních bakterií jsou to především rod *Rhodococcus* patřící mezi aktinomycety. Některé odpady jsou toxické pro většinu mikroorganismů. Odpady mohou sloužit jako zdroj uhlíku a energie pro jiné mikroorganismy a jsou přeměňovány až na vodu a oxid uhličitý. U některých druhů odpadů, jako jsou pesticidy, je metabolit vzniklý degradací ještě toxičtější než původní pesticid. K nejhůře degradovatelným látkám patří polychlorované bifenyly (PCB), ale i zde byly nalezeny mikroorganismy (*Aspergillus Niger*), které je pomalu metabolizují. Mikroorganismy metabolizující určité druhy odpadů, zvláště nebezpečné odpady jsou většinou tzv. **mutanti**, kteří byli vyselektováni během používání odpadů (např. pesticidy v zemědělství). Jde většinou o aeroby až fakultativní aeroby, protože aerobní metabolismus umožňuje rozložit a zoxidovat mnohem širší množství sloučenin než ananerobní mikroorganismy. Ve výzkumu v této oblasti se používá transformace bakterií pomocí plazmidů, připravených genovým inženýrstvím. Při záměrném zavádění těchto nových bakterií do životního prostředí je nutné zvážit všechna rizika tohoto postupu. Obrovská rychlost rozmnožování mikroorganismů, jejich vysoká adaptabilita a obtížná eliminace z prostředí při jejich nežádoucích účincích by totiž mohla vést k mnohem větším problémům než zavlečení invazivních druhů do prostředí (např. přemnožení kobylek v suchých oblastech či přemnožení králíků v Austrálii). Od r. 1997 běží Světový program invazivních druhů (Global Invasive Species Programme, GISP), který koordinuje Vědecký výbor pro problémy životního prostředí (Scientific Committee on Problems of the Environment, SCOPE). Více o databázi invazivních druhů naleznete <http://www.issg.org>

Pro rozklad n-alkanů v půdě nebo vodních tocích při místních haváriích se nejčastěji používají bakterie, protože jejich aktivita je daleko vyšší než u eukaryot. Pouze při ropných haváriích v chladných oblastech přichází do úvahy použití kvasinek (rod *Debaryomyces*, *Leucosporidium*, *Rhodotorula*), protože obsahují psychrofilní kmeny.

Mikroorganismy lze také použít pro odstranění těžkých kovů z prostředí či pro odstranění radioaktivních látek z prostředí. Těžké kovy se nedají v přírodě rozložit a mají schopnost akumulovat se a vstupovat do potravinového řetězce. S rozvojem civilizace a antropogenní činnosti roste spotřeba a produkce materiálů obsahující složky těžkých kovů, které se uvolňují do životního prostředí ve formě plyných, kapalných nebo tuhých anorganických či organických sloučeninách. Biotechnologické procesy jsou jednou z moderních alternativ, jak snížit emise množství těžkých kovů přímo u jejich zdroje, a tím zamezit jejich úniku do životního prostředí. Velkým environmentálním problémem je průnik těžkých kovů do povrchových, podzemních nebo pitných vod. Těžké kovy mohou v tomto prostředí výrazně ohrozit zdraví a život všech organismů. Například arzén je akumulován vláknitou řasou *Cladophora glomerata* dále se akumuluje na jiné vláknité řase *Oedogonium sp.* a v porostových vláknitých sinicích rodu *Phormidium sp.* a *Microcystis aeruginosa*. Chróm je akumulován vláknitou řasou *Cladophora glomerata* nebo vodním květem *Microcystis aeruginosa* Tyto řasy a sinice jsou běžnou součástí vodních toků a nádrží. Bioakumulace těžkých kovů probíhá i u rostlin jako je Len setý

nebo technické konopí, jak dokazují výzkumy. Některé vybrané druhy konopí mohou sloužit i pro získávání uranu z kontaminovaných vod; mohou nahromadit až 1,2 g uranu na 10 kg biomasy. Těžké kovy se mohou bioakumulovat do rostlin nebo organismů i z kontaminované půdy. Půda může být kontaminovaná podzemními nebo povrchovými vodami nebo prašnou depozicí či různými haváriemi.

6.1. Stavební a demoliční odpady

Biologickou destrukcí bývají v různé míře zasaženy veškeré části stavebního díla a to, jak novodobé, tak historické objekty. Pravá příčina biodegradace bývá často zaměňována za důsledky působení klimatických degradačních vlivů. Odstranění biotických činitelů tím bývá oddáleno, či vůbec znemožněno. Mikrobní napadení staveb nese s sebou i riziko vzniku zdravotních problémů, což je v současné době zatím opomíjená problematika. Mikroorganismy jsou spoluzodpovědné za korozi stavebního kamene, na tvorbě krusty a deskové korozi, a také na zvětrávání stavebního kamene za přítomnosti lišejníků (degradace kamene CO₂ lišejníkovými kyselinami kyselinou šťavelovou). Dále jsou mikroorganismy zodpovědné za vady a poruchy spojené s výskytem plísní v bytové a občanské výstavbě. Klimatizace, přenosné zvlhčovací zařízení a vzduchovody v sobě mají potenciální riziko mikrobiální kontaminace. Tato zařízení jsou zodpovědná za množství choroboplodných zárodků v atmosféře bytů.

Velice zajímavá z pohledu stavebních odpadů je biokoroze dřeva na stavbách, rozrušování dřeva bakteriemi, plísněmi a dřevozbarvujícími houbami. Více viz kapitola 13.

6.2. Odpadní plasty

Mezi nejcharakterističtější projevy konzumní společnosti patří nárůst produkce odpadů z obalů. K tomuto jevu dochází v ČR již dlouhodobě. Mezi roky 2009 a 2018 vzrostla produkce obalových odpadů o 45,0 %. Plasty patří mezi důležité materiály, kterým se v posledních letech dostává náležitá pozornost. Díky jejich netoxickým a dobrým izolačním vlastnostem a také dobré termoplasticitě jsou valně využívány v různých oblastech, jako jsou např. izolační materiály, tmely, nátěrové hmoty či adheziva. Velká pozornost je v dnešní „plastové“ době věnována biodegradabilním plastům, které se měly stát náhradkou běžných plastů vyrobených z ropy. Byly vyvinuty obaly složené z částíček plastů spojené škrobovým mazem, čili látkou která je rychle metabolizována mikroorganismy. Životnost těchto obalů měla být v přírodě velmi krátká. Tato metoda se neosvědčila v praxi.

Prvotně byly biologicky rozložitelné materiály vymezeny v normě Mezinárodního sdružení, které vytváří technické a technologické standardy (American society for testing and materials - ASTM D6400-04 Standard specification for compostable plastics). Rozděluje polymery dle doby, po kterou probíhá biodegradace, na polymery rozložitelné v půdě a polymery rozložitelné v anaerobním prostředí:

- **Biodegradabilní plasty** – rozložitelné plasty, v nichž je rozkladu dosaženo v přírodě se vyskytujícími mikroorganismy, houbami a řasami.
- **Kompostovatelné plasty** – plasty, které podléhají rozkladu v důsledku působení biologických procesů. Rozkládají se na CO₂, vodu, anorganické části a biomasu a nezanechávají žádné viditelné, rozlišitelné či toxické materiály.
- **Degradabilní plasty** – plasty, které jsou koncipovány tak, aby v důsledku vnějšího působení (např. vlivem prostředí) prodělaly změny ve své chemické struktuře s cílem ztráty některých svých typických vlastností.

Biologicky rozložitelné polymery jsou syntetizované v průběhu metabolických procesů nastávajících během růstu organismu, přičemž je lze rozdělit podle vzniku na živočišné, rostlinné a mikrobiální. Podle chemického složení je dělíme na polysacharidy, bakteriální polyestery a bílkoviny. Tato skupina polymerů zahrnuje zejména škrob, celulózu, kolagen, gelatin, chitin a chitosan.

Specifickou skupinu pak tvoří modifikované škroby, jejichž atributy jsou při výrobě chemicky, biochemicky či fyzikálními vlivy uzpůsobeny konkrétnímu účelu. Modifikace škrobu má za úkol zvýraznit některé prospěšné vlastnosti (např. navázat vodu, viskozitu tvorbu filmu atd.) při zachování alespoň některých původních vlastností. Např. tepelně upravené škroby vznikají narušením vodíkových můstků mezi škrobovými molekulami. Uplatnění nachází v potravinářském, textilním a papírenském průmyslu. Nesíťované škroby vznikají reakcí škrobu s vícefunkčními činidly a používají se hlavně ve farmacii.

Biologicky rozložitelné polymery vyráběné ze syntetických surovin zahrnují zejména estery, amidy a anhydridy, přičemž se jedná se o polymery vyráběné na bázi kopolyesteru, polykaprolaktonu, polyesteramidu, polyesteruretanu, polyesterkopolymeru syntetické kyseliny polymléčné atd. Základní řetězec syntetických polymerů obsahuje pouze atomy uhlíku díky kterým dochází k degradabilitě velmi obtížně oproti polymerům, které obsahují heteroatomy. Této skutečnosti se cíleně využívá a degradabilita může být polymeru vštípena cíleným zařazením chemických vazeb. Biologicky degradabilní polyestery se dělí na dvě základní skupiny:

- alifatické (lineární polyestery)
- polyestery s obsahem aromatické skupiny

Mikrobiální polyestery vyvolaly velký zájem hlavně díky možnosti biologické degradace a biokompatibilitě. Polyestery vznikají činností bakterií, které jsou schopny při zhoršených podmínkách produkovat polyestery jako zásobu uhlíku a energie. Mezi nejvíce studované alifatické polyestery patří polyhydroxyalkanoáty (PHA). PHA jsou polyestery různých hydroxyalkanoátů, které mohou být syntetizovány mnoha gram-pozitivními i gram-negativními bakteriemi, z nichž je známo na více než 75 druhů. Hlavní výhodou PHA je ochrana životního prostředí, jelikož dokážou být rychle biodegradovány za aerobních i anaerobních podmínek.

Konvenční syntetické polyestery disponují vynikajícími mechanickými vlastnostmi s velmi nízkou degradabilitou. Oproti tomu syntetické alifatické polyestery, syntetizované polykondenzací z diolů a karboxylových kyselin jsou povětšinou zcela degradabilní, postrádají však oproti syntenickým polyesterům kvalitativní vlastnosti a navíc jejich výroba je nákladnější. Z těchto důvodů jsou proto alifatické polyestery směšovány s levným škrobem a výsledný polymerový produkt je díky tomu levnější a současně odolnější vůči vodě. Mezi často používané biodegradabilní polyestery řadíme zejména:

- Polyhydroxyalkanoáty (PHA)
- Polyhydroxybutyrát polyhydroxyhexanoát kopolymer (PHBH)
- Kyselina polymléčná (PLA)
- Polykaprolakton (PCL)

PHA jsou vytvářeny mikrobiálním procesem na médiu na bázi cukru v biologických reaktorech. Surovinou pro výrobu polyhydroxyalkanoátů jsou kukuřice nebo melasa, které slouží jako zdroj potravy pro bakterie syntetizující tyto polymery. Hlavní výhodou PHA je ochrana životního prostředí, jelikož dokážou být rychle biodegradovány za aerobních i anaerobních podmínek. Dalším známým biopolymerem je polyhydroxybutyrát polyhydroxyhexanoát kopolymer. Je to rozložitelný alifaticko-alifatický kopolymer s vynikajícími mechanickými vlastnostmi a používá se při výrobě odlévaných a vyfukovaných fólií. PLA neboli kyselina polymléčná je biodegradabilní polyester, který se vyrábí polykondenzací přirozeně získané kyseliny mléčné, která je vedlejší produktem mletí kukuřice (za mokra). Vzniká mléčným kvašením cukrů. Produkty z kyseliny polymléčné jsou tvarovány za tepla a vzhledem ke své pevnosti mohou v některých případech nahradit polystyren či polyethylentereftalát. Z

běžně dostupného obalového materiálu má tento biodegradabilní polyester nejvyšší modul pružnosti v tahu.

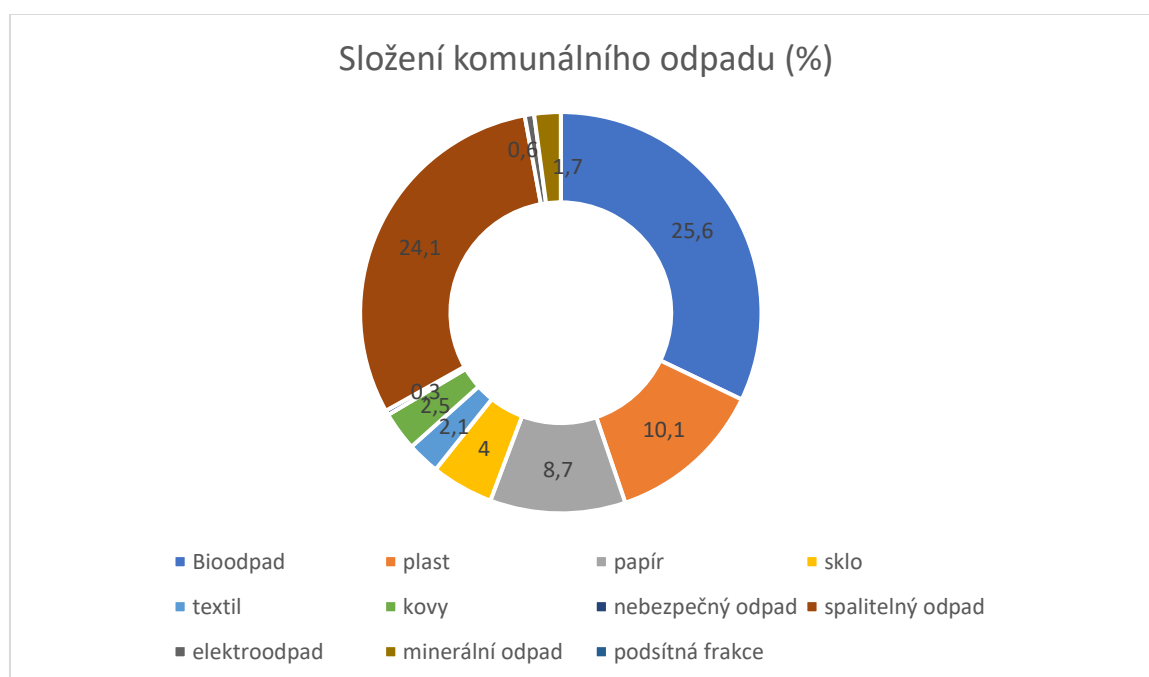
Biologicky rozložitelné polymery jsou materiály, které splňují podmínky biologické degradability podle ČSN EN ISO 13432:200010. Vyráběny jsou především ze zemědělských produktů, tedy plně obnovitelných přírodních zdrojů. Konkrétní charakteristika procesu výroby je přehledně shrnuta v následující tabulce 5 .

Tabulka 5 - charakteristika procesu výroby

Postup výroby/surovina	příklady polymerů/plasty
chemická syntéza na bázi fosilních zdrojů	polyester, polyesteramid, polyvinylalkohol
přímá fermentační syntéza	kyselina polyhydroxymáselná (PHB), kyselina polyhydroxvalerová (PHV)
syntetická modifikace polymerů přírodního původu	deriváty škrobu a celulózy
směsné plasty na bázi obnovitelných a fosilních zdrojů	škrobové blendy
chemická syntéza biotechnologicky vyrobených surovin	kyselina polymléčná (PLA)

6.3. Komunální odpady

Komunální odpad zahrnuje například směsný komunální odpad, separovaně sbírané složky (papír, plast, sklo, kov), objemný odpad, bioodpad, ale také nebezpečný odpad. Celková produkce komunálních odpadů v období mezi lety 2017 a 2018 meziročně vzrostla o 1,6 % na 5 782,1 tis. t. I přesto, že v nakládání s komunálními odpady nadále převažuje skládkování, dochází od roku 2009 k poklesu tohoto způsobu odstranění ve prospěch materiálového a také energetického využití komunálních odpadů. Situace v oblasti nakládání s komunálními odpady v ČR tak není dlouhodobě vyhovující (skládkování komunálních odpadů je nad úroveň průměru EU28 a recyklace pod průměrem). Cílem ČR je razantnější snižování podílu skládkování na celkové produkci komunálních odpadů a naproti tomu zvyšování jejich materiálového a rovněž energetického využití, a to v souladu s principy oběhového hospodářství a s potřebou naplnění evropských cílů oběhového hospodářství.



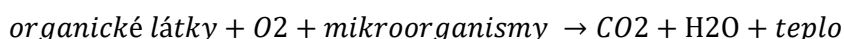
Obrázek 11 - Skladba komunálního odpadu (zdroj: EKO-KOM)

Biologicky rozložitelné odpady (dále jen BRO) končí ve vysoké míře v kontejnerech na komunální odpad a následně na skládkách (viz. Obr. 11). Biologicky rozložitelný podíl komunálního odpadu ukládaný na skládky musí být postupně omezován v souladu s harmonogramem stanoveným v Plánu odpadového hospodářství ČR a krajů (cílem je snížit tento podíl do roku 2010 na 75 %, do roku 2013 na 50 % a do roku 2020 na 35 % celkového množství (hmotnosti) biologicky rozložitelného komunálního odpadu vzniklého v roce 1995). Dle údajů MŽP bylo roce 1995 bylo na skládky ukládáno cca 1,53 mil. tun bioodpadů. Pro BRO již vznikají sběrná místa nebo kontejnery a pro jejich znovu využití se používá mnoho metod zpracování.

Bioodpad je veškerý odpad, který je schopný aerobního nebo anaerobního rozkladu mikroorganismy. Mezi BRKO, které mají 100% podíl biologicky rozložitelné složky, zařazujeme (biologicky rozložitelné komunální odpady), jedná se o skupinu odpadů začínající číslem 20, které označujeme „komunální odpady“. Velká část bioodpadu vzniká ve městech, ale také na vesnicích nebo například v zahrádkářských koloniích. Nejčastěji se jedná o posekanou trávu, odřezky ze stromů či spadané listí. Dalším zdrojem bioodpadu jsou veškeré zbytky z jídelen, menz, restaurací nebo z potravinářského průmyslu. Vysoká produkce tohoto odpadu je v zemědělství, v domácnostech, v čistírnách odpadních vod, v dřevařském a papírenském průmyslu, v myslivosti, rybářství, v kožedělném a textilním průmyslu.

V současné době se při zpracování organických odpadů využívá těchto biotechnologických metod (kompostování, vermikompostování (kompostování pomocí žížal), aerobní termofilní zpracování, biologické sušení, mechanicko–biologické úpravy tuhého komunálního odpadu, lihové kvašení, anaerobní digesce). Tyto biotechnologické metody jsou založeny na aktivitách různých skupin mikroorganismů, příp. interakcemi mezi mikroorganismy a bezobratlými živočichy a umožňují materiálové nebo energetické využití organických odpadů. Složení mikroorganismů je proměnlivé, závisí na kompostované hmotě a stupni humifikace kompostované biomasy. V průběhu přeměny se uvolňuje energie. Biomasa obsahuje fixovanou sluneční energii, kterou mikroorganismy potřebují pro svůj růst. Biologické zpracování současně vede ke zmenšení objemu a snížení hmotnosti organických odpadů, k jejich hygienizaci a k omezení úniku skleníkových plynů do atmosféry.

Nejrozšířenějším způsobem aerobní přeměny bioodpadu je kompostování. Kompostování je přirozeným koloběhem biogenních prvků, který je spojený s přenosem energie a degradací organické hmoty. Proces kompostování lze jednoduše znázornit rovnicí



Mikroorganismy působením enzymů rozkládají vyšší organické sloučeniny na jednodušší sloučeniny. Biochemickou degradaci doprovází, kromě účinku mikroorganismů, další reakce a to hydrolýza a oxidace. Přítomnost baktericidních a fungicidních látek v rozkladném materiálu může způsobit zpomalení rozkladu a může dojít až k zastavení degradace. V kompostech je možné vytvořit i lepší podmínky pro rozvoj mikroorganismů, které jsou zabezpečeny provzdušňováním, úpravou vlhkosti, poměrem C:N a úpravou zrnitosti.

Pro mikroflóru žijící v kompostu jsou důležité živiny (uhlík, dusík, fosfor, síra a draslík). Fosfor s draslíkem hrají důležitou roli při látkové výměně a při rozmnožování buněk. Uhlík je zdroj organické hmoty pro mikroorganismy a spolu s dusíkem umožňují syntézu bílkovin. Tyto bílkoviny jsou součástí buněk mikroorganismů a zúčastňují se metabolismu jako enzymy. Pro optimální proces kompostování musí být obsah uhlíku a dusíku v rovnováze. Mikroorganismy, které žijí v kompostu vyžadují určité množství stopových prvků pro lepší vstřebávání živin (bor, vápník, hořčík, železo).

Během celého procesu kompostování se hodnota pH pohybuje v počáteční fázi okolo pH 5, což je způsobeno tvorbou organických kyselin. V této fázi jsou dominantní mikroskopické houby a plísně,

kteří dobře snášejí kyselé prostředí. Acidofilní bakterie jako jsou octové *Acetobacter* sp. a sirné *Acidithiobacillus* sp. se vyskytují až při silně kyselém prostředí pH 1,8 – 2,5. Pak jsou kyseliny rozkládány k neutrálním hodnotám pH. Při přechodu pH do zásaditých hodnot se rozkladu ujímají bakterie a aktinomycety.

6.4. Odpady z tepelných procesů

Na celém světě se v současnosti řeší, jak zabezpečit dostatek energetických zdrojů pro udržitelný rozvoj společnosti. Zároveň se klade důraz na úspory energie, zvyšování využívání obnovitelných zdrojů, rozvoj jaderné energetiky, využívání jakýchkoli zdrojů energie s vyšší účinností.

V Česku k získávání energie využíváme nejvíce uhlí, jadernou energii, méně zemní plyn, v malém množství obnovitelné zdroje energie (biomasa) a odpady. (MPO).

Při spalování uhlí vznikají kromě plynných emisí, které mají původ v jeho příměsích a nečistotách, také tuhé zbytky a to škvára, struska, propad a popílek. Škvára je odpad u roštových a práškových ohnišť granulárních (s tuhým odvodem popela). Struska se vytváří ve výtavném ohništi. Propad je tvořen kousky uhlí, které propadly roštem. Popílek představují jemné částice unášené spalinami. Emise tuhých částic do ovzduší tedy závisí na stupni zachycení popela v ohništi a na účinnosti odlučovačů (Noskovič, 2002).

Po spalování biomasy vzniká popel a popílek, který může nalézt uplatnění jako výchozí složka kompostu či zahradnického substrátu v kombinaci s vhodnými surovinami, jako je například rašelina. Popílek se dá míchat v různých poměrech s pěstebními substráty a tak zvyšovat kvalitu a úrodnost těchto substrátů. Vzhledem k charakteru popílku je potřeba sledovat vliv různých koncentrací popílku na růst a vitalitu pěstovaných rostlin, ale i na koncentrace těžkých kovů, které rostliny vstřebávají ze substrátu. Obsahy rizikových látek jsou hlavním limitujícím faktorem při využívání popílku a vždy vyžadují nalezení optimálního množství s ohledem na výchozí suroviny a složení konečného produktu spalování.

Mikrobiální aktivity v souvislosti s deponováním odpadů (kaly, odprašky, popílky, těžební odpady aj.) představují potenciální ohrožení životního prostředí. V těchto případech je třeba vzít v úvahu synergický efekt exogenních i biogenních vlivů na deponovaný odpad. Kovy jsou v důsledku chemických nebo biochemických změn jejich oxidačních stavů ve formě snadno rozpustných forem v životním prostředí mobilizovány. Biologické loužení a fyzikálně-chemické mechanismy jsou důležitými součástmi biochemických cyklů kovů v životním prostředí.

Využití bakterií při odstraňování těžkých kovů z popílků

Popílek ze spalování odpadu obsahuje velké množství volných těžkých kovů (Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} atd.), které nakonec vedou k degradaci ekosystému, zhoršování kvality půdy a znečištění plodin. Bioremediační technologie se používají při absorpci, mineralizaci, degradaci, obohacování těžkých kovů specifickými organismy (rostliny, mikroorganismy nebo protozoa) k obnově normálních ekologických funkcí systémů půdy, odpadních vod a popílku. Kationty těžkých kovů se obvykle přeměňují na nerozpustné soli a odstraňují se z půdy, odpadních vod a popílku pomocí metody bioremediace. Byly aplikovány různé mikroorganismy za účelem kontroly kontaminace těžkými kovy. Například *Pseudomonas aeruginosa* může biosorbovat olovnaté ionty ve vodném roztoku (Chang et al., 1997). Olovnaté ionty lze také odstranit mikrobiálně srážením PbCO_3 (Qian et al., 2018). Mikrobiální mineralizace je typ bio-mineralizační funkce, která přeměňuje volné kationty těžkých kovů na minerály v pevné fázi.

Další bakterie, které se používají k mineralizaci těžkých kovů z popílků jsou fosfátové bakterie *Bacillus subtilis*. Bakterie může zastupovat alkalickou fosfatázu (ALP) během procesu růstu a reprodukce a hydrolyzovat substrát za vzniku iontů PO_4^{3-} , které se okamžitě navazují s volnými kationty těžkých kovů. Nakonec se volné kationty těžkých kovů redukují a přeměňují na fosfátové srážení v roztoku s *Bacillus subtilis*.

Použitá literatura

MORSHECK, G., et al. Biologické zpracování odpadů . 1. Brno : MZLU, 2008. 130 s.

KOTOULOVÁ, Zdenka; VÁŇA, Jaroslav. Příručka pro nakládání s komunálním bioodpadem. 1. Praha : Ministerstvo životního prostředí ve spolupráci s Českým ekologickým ústavem, 2001. 70 s. ISBN 80-7212-201-0.

HLAVATÁ, Miluše. Odpadové hospodářství. Ostrava : VŠB - TUO, 2004. 174 s. ISBN 80-248-0737-8.

Cenia ročenka o odpadech

<https://www.mpo.cz/cz/energetika/elektroenergetika/obnovitelne-zdroje/odpad-je-energie--60104/>

KOLYBABA, M., TABIL, L. G., PANIGRAHI, S., CRERAR, W.J. POWELL, T. WANG, B.: Biodegradable Polymers: Past, Present, and Future. An ASAE Meeting Presentation, October 3-4, 2003. Paper Number: RRV03-0007. 15 s.

GOLOMB, D., BARRY, E., FISHER, G., VARANUSUPAKUL, P., KOLEDA, M., ROONEY, T.: Atmospheric deposition of polycyclic aromatic hydrocarbons near New England coastal waters. Atmospheric Environment, 2001, vol. 35, no. 36, p. 6245-6258. ISSN 1352-2310.

RUSTGI, Renu. CHANDRA, R.: Biodegradable Polymers. Delhi: Delhi College of Engineering, 1998. S0079-6700(97)00039-7.

JIRA, W.: A GC/MS method for the determination of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in smoked meat products and liquid smokes. European Food Research and Technology, 2004, vol. 218, no. 2, p. 208-212. ISSN 1438-2377.

7. Vývoj moderních biotechnologií – genové a enzymové inženýrství

Po tisíce let se vyvíjí život na Zemi. Člověk začal zasahovat do tohoto vývoje prostřednictvím křížové hybridizace a selektivního chovu rostlin a živočichů a začal vytvářet žádoucí vlastnosti, které mají buď komerční hodnotu, nebo je užitečné funkce. Koncem devatenáctého a počátkem dvacátého století člověk pomocí mikroorganismů vyrobil první vakcíny a léky v komerčním měřítku.

Nicméně, to bylo v roce 1973, téměř dvě desetiletí poté, co Watson a Crick objevili dvojitou šroubovici a postulovali myšlenku, že genetický materiál může být uložen a zkopírován, informoval tým kalifornských vědců o provádění experimentů za použití techniky, která umožnila kombinaci genetického materiálu z různých druhů. Konkrétně se jedná o tento proces izolování cizího genu, klonování tohoto genu a jeho zavedení do vektorů (např. plazmidy), klonování tohoto vektoru a jeho zavedení do hostitelských buněk. Tato technologie je označována jako technologie rekombinantní DNA (rDNA). Při tom, kdy bylo možné spojit DNA z živočišných virů s bakteriemi kmenů nebo kombinace DNA různých virových kmenů za účelem vytvoření nových hybridů.

Následně bylo zjištěno, že nebylo možné klonovat segmenty DNA pouze z bakteriálních nebo virových kmenů, ale prakticky z jakéhokoli organismu. Téměř okamžitě vědci pochopili dvojí důsledky tohoto nového objevu. Na jedné straně bylo možné vytvořit přesně i komerčně nová zvířata, rostliny, viry, bakterie a další mikroorganismy. Na druhé straně potenciální nebezpečí souviselo s prováděním experimentů vytvořit geneticky modifikované organismy. Nově vytvořený organismus by mohl být patogenní, a protože je geneticky modifikovaný, nemohou existovat žádné obranné prostředky přírodního prostředí, aby omezil jeho růst; tam také nemusí být adekvátní imunologická odpověď. Kromě toho, i když nově vytvořený organismus není patogenní sám o sobě, pokud by byl v přírodním prostředí, mohlo by dojít k výměně informací s bakteriemi nebo viry, které jsou pro člověka patogenní, což může vést k onemocněním, pro které neexistuje žádná imunologická obrana, nebo způsobují alergickou reakci, pro kterou opět neexistuje žádná imunologická odpověď.

Zatímco většina vědců uznala, že moderní biotechnologie představují zásadní technologický pokrok, jiní stále nesouhlasili a poukazovali na mnohá nebezpečí. Tato rozprava se v roce 2007 soustředila na otázky:

- měly by se produkty moderních biotechnologií oproti ostatním produktům posuzovat přísněji?
- jsou nezbytné přísnější regulační kontroly z důvodu, že proces, kterým byl výrobek vytvořen, má charakteristiky nebo vlastnosti, které jej činí potenciálně nebezpečnější pro lidské zdraví nebo životního prostředí než výrobky vyrobené jinými způsoby?

7.1. Použití moderních biotechnologických technik

Moderní biotechnologie se používá při výrobě komerčních produktů po více než čtyři desetiletí. Koncem sedmdesátých a počátku osmdesátých let se vytvářelo mnoho různých typů nových produktů.

Například:

- vědci z Kalifornské univerzity vytvořili geneticky modifikovanou bakterii (ice minus), která zabráňuje vzniku ledu a tvorbě krystalů na povrchu rostlin, tak udržovala rostliny odolné mrazu vůči.
- Byly prováděny první pokusy o genetickou modifikaci rostliny, které by byly odolné vůči hmyzu. Například se začaly provádět terénní testy na tabáku, bavlně a rajčatech, která obsahovala geny z půdní bakterie *Bacillus thuringiensis* (Bt). Před genetickou modifikací rostliny byl Bt použit jako postřik pesticid. Vložení Bt genů do rostlin samo o sobě mělo za následek vývoj

bílkočin, které byly toxické pro specifický hmyz, např. obaleč, zavíječ kukuřičný, makadlovka bavlníková.

- v oblasti medicíny Úřad pro potraviny a léčiva (FDA) schválila Humulin, první geneticky modifikovanou drogu. Humulin je vyráběna genetickou modifikací bakterií *Escherichia coli* (bakterie, která se nachází v lidském zažívacím traktu), aby se vytvořil inzulin, který je totožný s lidským inzulinem. Před vývojem tohoto přípravku byl získáván inzulin z pankreasu zvířat.

Od té doby se biotechnologie rozšířily nejen do zemědělských a lékařských oblastí, ale nachází uplatnění při čištění životního prostředí, úpravě nerostných surovin, úpravě a čištění vod atd.

7.2. Použití moderních biotechnologických technik

Využití genetického inženýrství v oboru zemědělství se zaměřuje hlavně na produkci rostlin, které jsou odolné vůči herbicidům nebo hmyzu, jako je geneticky modifikovaná kukuřice, sója a bavlna. Nicméně rostliny mohou být také geneticky upraveny tak, aby byly odolné proti suchu, více výživné, nebo mohou být pěstovány v přímořských oblastech, kde je vyšší salinita půdy. Rostliny již lze v dnešní době upravit tak, aby lépe odolávaly chorobám, a mohly mít vysoké výnosy. Vědcům se podařilo vyvinout genetický kontrolní systém, který by rostlinám pomohl zesílit obranyschopnost vůči smrtelným patogenům a tak se přiblížit k hlavnímu cíli, a to snížení odpadu z plodin po celém světě. (Foo a kol., 2018) V devadesátých letech byl zaznamenán nárůst polí s geneticky modifikovanými plodinami. Vůči tomuto se zvedla vlna odporu veřejnosti a spousta z těchto polí zanikla. Obiloviny patří mezi základní suroviny potřebné pro výrobu potravin a krmiv. Jedná se o nejpěstovanější zemědělské plodiny - v roce 2013 činila celosvětová produkce téměř 2,7 miliardy tun (FAO), z čehož největší procento zabírala kukuřice, rýže a pšenice. V Evropě jsou doposud povolené pouze sedm typů GMO plodin: Bt-kukuřice odolná vůči hmyzu, brambory se změněným složením škrobu (Svobodová a kol., 2012), sóju, řepku, bavlník, cukrovku a rýži.

V České republice je nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty upraveno zákonem č. 78/2004 Sb., o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty, v znění pozdějších předpisů, a vyhláškou č. 209/2004 Sb., o bližších podmínkách nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty. (https://www.mzp.cz/cz/legislativa_gmo)

Přestože genetická modifikace rostlin a jejich použití v potravinách je běžná skutečnost, u geneticky modifikovaných zvířat to neplatí. Produkce transgenních zvířat byla primárně omezena na laboratorní myši, které slouží jako testovací subjekty pro lékařství a kosmetický průmysl. Pokud jde o výrobu potravin, tak to v ČR toto není možné. V USA přesný počet společností, které požádaly federální vládu o povolení chovat geneticky modifikovaná zvířata není znám, protože tyto informace jsou důvěrné. Je však známo, že se jistá americká společnost pokusila o získání tohoto povolení pro transgenního lososa, ale takové povolení nebylo vládou spojených států vydáno. Musíme rozlišovat geneticky modifikovaných zvířat a klonovaná zvířata, která by mohla také být vyvinuta pro potravinářský průmysl. Nicméně produkce transgenních a klonovaných zvířat zahrnuje vysoké náklady, čelí skeptické veřejnosti a vyvolává etické potíže.

Dále byly vyvinuty geneticky modifikované hormony, které se v USA podávaly domácím zvířatům. Konkrétně jde o rekombinantní bovinní somatotropin (rBST), hormon který byl schválen v roce 1993 za účelem zlepšení mléka produkce u dojníc. Což se neseťkalo s pochopením veřejnosti.

ISAAA (International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications) založila databázi (GM Approval Database) dokumentující schválení GM plodin ve světě. Souhlasí s těmito technologiemi se

mění v závislosti na potřebách, poptávce a obchodních zájmech. Studie zahrnuje situaci v posledních 23 letech a mapuje i důvody a souvislosti. (<http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/>)

7.3. Léky / zdravotnické prostředky

Výzkum technologie rekombinantní DNA neustále pokračuje a výsledky zkoumání jsou použity k výrobě výrobků, které jsou určeny k léčebným, preventivním a diagnostickým účelům. Tato technologie byla použita k výrobě enzymů, hormonů (například inzulin) a interferonů a jejich hybridů, které byly testovány a používány k léčbě (mimo jiné) diabetu, deficitu růstového hormonu, hepatitidy B, leukémii, roztroušené skleróze atd.

Interferony jsou proteiny nespecifické imunity, působící v protivirové obraně. Působí parakrinně (tj. na buňky ve svém okolí). Interferony se navazují na membrány okolních buněk a zvyšují jejich rezistenci k virové infekci. Zdroj (wikipedie)

Vývoj těchto produktů je však obtížný. Na rozdíl od chemicky syntetizovaných léků, produkty založené na genetické manipulaci s živými organismy nebo buňkami může vést ke vzniku komplexních směsí, které mohou být vyrobeny pouze v malých dávkách, aby byl produkt konzistentní; také může být zaměřena na řešení obtíží pouze u omezeného počtu lidí. Nicméně existují stovky výrobků, které jsou vyráběny nebo jsou založeny na klinickém testování a využívají technologie rDNA. Navíc byly geneticky modifikované bakterie použity k detekci patogenů a existují stovky diagnostických zařízení, která využívají biotechnologie.

7.4. Genové manipulace se zvířaty

Téměř dvakrát více masa na jediném zvířeti má dávat prase s úpravou jediného genu ovlivňujícího tvorbu svalů. Vědci Kang a kol. doufají, že bude prvním modifikovaným zvířetem schváleným pro lidskou konzumaci. Transgenní prase má ve svém genomu záměrně vložený cizí gen, který je konstruován in vitro za použití technologie rekombinantní DNA a genových editací. Cílem je vytvořit novou nebo zlepšit stávající užitkovou vlastnost (např. intenzivní růst svalové tkáně, vysoká konverze krmiva nebo syntéza proteinu s nutriční aplikací). Při růstu svalů jde o gen MSTN, podle kterého se vytváří bílkovina myostatin, regulující (zřejmě mimo jiného) i tvorbu svalů. Stejná mutace genu MSTN se objevuje se stejným důsledkem i u jiných zvířat. Existují například plemena psů (whippet) či skotu, kde se běžně objevuje v důsledku dlouholetého křížení jedinců s vysoce vyvinutou svalovinou.

Biotechnologie ve farmacii

Příchod genetického inženýrství a technologie přípravy monoklonálních protilátek byl podepřen vznikem doslova stovek biofarmaceutických společností na konci 70. a začátku 80. let a tak došlo k rozvoji farmacie. Farmaceutická biotechnologie je mezioborová vědní disciplína jejíž počátky spadají do 20. století. Na základě doporučení Evropské asociace farmaceutické biotechnologie [<http://www.eapb.de/> (The European Association of Pharma Biotechnology, EAPB)] je farmaceutická biotechnologie definována jako „věda, která překrývá všechny technologie nezbytné k vytvoření, výrobě a registraci biotechnologických léčiv“. Je to soubor procesů, které využívají živé organismy nebo jejich součásti k výrobě nebo modifikaci léčiv, ale také metody umožňující šlechtění živočichů, rostlin nebo mikroorganismů pro specifická použití v medicíně. Obor stojí na rozhraní molekulární biologie a genetiky, mikrobiologie, biochemie, farmakognosie, farmaceutické chemie a aplikované farmacie. Farmaceutická biotechnologie využívá metod molekulární biologie, genetiky a genového inženýrství, zejména při vývoji léčiva, metod klasické mikrobiologie, genetiky při jeho produkci a metod biochemie a analytické chemie při purifikaci a charakterizaci výsledných produktů. Kromě toho jsou při úpravách léčiv do jejich konečné podoby využívány vedle biochemických metod také postupy enzymového inženýrství, organické chemie, farmaceutické chemie, technologie léčiv a farmakologie.

Předmětem studia farmaceutické biotechnologie je léčivo vytvořené specifickým postupem, a to s využitím živých organismů, živých buněk nebo jejich součástí, tedy biotechnologicky. Toto léčivo lze označovat za biofarmaceutikum nebo též rekombinantní léčivo.

Léky vyráběné biotechnologickými postupy

Léky vyráběné biotechnologickými postupy lze rozdělit do tří základních skupin:

1. **Přírodní metabolity**, které jsou vyráběny biosynteticky. Všechny informace, které jsou pro takovou výrobu zapotřebí, lze nalézt v genomu buňky. Při tomto způsobu výroby nejsou buňky geneticky nijak manipulovány. Výsledný produkt takové „přirozené“ výroby je následně ještě upravován chemickou cestou. Takto se vyrábějí například antibiotika nebo vitamíny.
2. **Látky připravené biokatalýzou** - jsou látky, které jsou vyráběny biokonverzí (biotransformací) pomocí enzymové katalýzy. Jedná se především o steroidní látky.
3. **Lidské proteiny a polypeptidy** - jsou to látky, které jsou vyráběny s využitím genových manipulací. Jedná se o oblast v současné době nejvíce rozvíjenou, s největší perspektivou.

Farmaceutická biotechnologie se v současné době podílí zejména na výrobě:

- vitaminů (riboflavin - B2, pyridoxin - B6, vitamin B12 atd.)
- aminokyselin a léčiv (antibiotika, steroidy, námelové alkaloidy atd.)
- virotik (virostatika)
- vakcín (hepatitis B, lidský růstový hormon atd.)
- proteinů se specifickými účinky (např. enzymatická přeměna vepřového insulinu na lidský)

Významnou část farmaceutické biotechnologie tvoří genové terapie, sledování vrozených metabolických vad, klonování buněk, biochemická detekce anomálních molekul ve vzorcích amniální tekutiny v prvních týdnech těhotenství. Ve farmaceutickém průmyslu je důležité také uplatnění imobilizovaných buněk a enzymů. Většinu tradičních farmaceutik tvoří nízkomolekulární sloučeniny. Ty jsou vyráběny přímou chemickou syntézou. Vedle toho existují farmaceutické substance typu hormonů, které lze extrahovat z biologických zdrojů (např. krve). Příklady takových látek jsou uvedeny v tabulce 6.

Tabulka 6 - Farmaceutika tradičně získávaná extrakcí z biologického materiálu, v současnosti vyráběná biotechnologicky

Substance	Využití v medicíně
Krevní produkty, např. srážecí faktory	Léčba onemocnění krve, např. hemofilie A a B
Vakcíny	Vakcinace proti různým chorobám
Protilátky	Pasivní imunizace
Inzulín	Léčba diabetes mellitus
Enzymy	Trombolytické substance, digestiva, aj.
Antibiotika	Terapie infekčních agens
Rostlinné extrakty, např. alkaloidy	Tišení bolesti

Farmaceutický průmysl se řadí k high-tech zpracovatelským oddílům náročným na výzkumné a vývojové aktivity (15 až 20% z ročních tržeb). Byl indikován zájem zahraničních firem o budoucí projekty a lze tedy očekávat růst tohoto odvětví. Farmaceutický sektor v České republice je zastoupen převážně společnostmi se zahraniční účastí podílejících se na celkových tržbách zhruba ze čtyř pětín.

V nejbližších letech se očekává uvedení na trh produktů genové terapie, oligonukleotidů na bázi antimediatorová RNA a interferujících RNA obecně. Budou rovněž vyvíjeny nové expresní systémy, alternativní metody transportu léčiv k cílovým strukturám a předpokládá se prudký rozvoj buněčných terapií, zvláště využití kmenových buněk.

Použitá literatura

Mathias Foo, Iulia Gherman, Peijun Zhang, Declan G. Bates, Katherine J. Denby. A Framework for Engineering Stress Resilient Plants Using Genetic Feedback Control and Regulatory Network Rewiring. ACS Synthetic Biology, 2018; 7 (6): 1553 DOI: 10.1021/acssynbio.8b00037

vWalsh G. (2007): Pharmaceutical Biotechnology, Concepts and Applications. John Wiley and Sons, Ltd., Hoboken, USA, ISBN 978-0-470-01245-1

Kayser O., Müller, R.H. (2004): Pharmaceutical Biotechnology, Drug discovery and Clinical Applications. Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. KgaA, Weinheim, Germany. ISBN 3-527- 30554-8.

Ho, R.J.Y, Gibaldi, M. (2003): Biotechnology and Biopharmaceuticals. John Wiley and Sons, Ltd., Hoboken, USA.

KANG, Jin-Dan, Seokjoong KIM, Hai-Ying ZHU, et al. Generation of cloned adult muscular pigs with myostatin gene mutation by genetic engineering. RSC Advances [online]. 2017, 7(21), 12541-12549 [cit. 2020-09-05]. DOI: 10.1039/C6RA28579A. ISSN 2046-2069. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C6RA28579A>

Zdroj: https://www.idnes.cz/technet/veda/gmo-zvirata-vepr-prasata.A150704_224211_veda_mla

8. Biotechnologie v potravinářství

Biotechnologie se využívají v potravinářství už od pradávna. Příklady pocházejí z doby před 10.000 lety a zahrnují domestikaci zvířat, výsadbu, plodin a použití mikroorganismů k výrobě alkoholických nápojů (víno, pivo), mléčných výrobků (jogurt, sýr), chléba, ale také zelí a siláž.

U rostlin, jako jsou rýže, pšenice a ječmen se předpokládalo, že to byly první plodiny, které byly pěstovány jako spolehlivý zdroj potravy. Pro uchování potravin měla sloužit fermentace. Nejpoužívanější organismy v těchto procesech jsou kvasinky, kyselina mléčná a bakterie.

Rozklad organických látek (hlavně cukrů) za účasti mikrobiálních enzymů za vzniku metabolických produktů člověk cíleně využívá ke svému prospěchu už řadu let - výroba, konzervace potravin. Na fermentaci je založena řada potravinářských výrob

- Mlékárenství
- Pekařství
- Výroba kysaného zelí
- Pivovarnictví
- Vinařství
- Výroba octa
- Lihovarnictví

Rozdělení fermentačních procesů

Podle původce:

- kvasinkové
- bakteriální
- plísňové

Podle vztahu k O₂ :

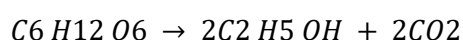
- Aerobní proces - produkt je energeticky chudý, obsahuje více O₂ než zkvašovaný materiál. Jedná se o octové a citronové kvašení
- Anaerobní proces - produkt je ještě energeticky bohatý (hromadí se v prostředí), mikroorganismy už jej nemohou enzymaticky dále rozkládat. Jedná se např. o mléčné a etanolové kvašení.

8.1. Ethanolové kvašení

Jde o nejnámější fermentační proces, při kterém se sacharidy působením mikroorganismů přeměňují na ethanol a oxid uhličitý. Ethanol mohou vytvářet některé mikroorganismy (převážně kvasinky) pomocí biochemického systému enzymů, který je nedílnou součástí jejich životního cyklu.

Mechanismus alkoholového kvašení

Základní stechiometrii lihového kvašení udává Guy – Lussacova rovnice :



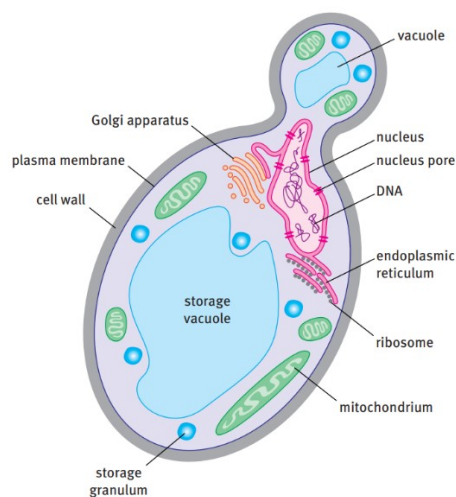
Při lihovém kvašení dochází k postupnému rozkladu sacharidů enzymy mikroorganismů za současného uvolnění energie ve formě tepla. Jde o proces nazývaný se **glykolýza**, který probíhá převážně anaerobně – bez přístupu vzduchu, i když mírné provzdušnění kvasného média na počátku fermentace

je příznivé pro nárůst počtu buněk a jejich fermentační aktivitu. Během glykolýzy dochází ke spotřebě glukosy, regeneraci ADP a produkci pyruvátu a NADH. Protože jsou zásoby NAD⁺ v buňce omezené, je nutné je regenerovat předáním H⁺ z NADH jiné molekule. Tato situace je podstatou ethanolového kvašení: kdy H⁺ je předán acetaldehydu za produkce ethanolu.

Kromě ethanolu může vznikat také malé množství jiných produktů, například glycerol, acetaldehyd, vyšší alkoholy, kyselina octová a další. Produkce glycerolu není při výrobě čistého lihu žádoucí, naopak při výrobě vína nevadí. Při výrobě ovocných destilátů se naopak uplatňuje i jiné než ethanolové kvašení, neboť dochází k produkci cenných aromatických sloučenin, které dodávají destilátu charakteristickou chuť a vůni

Kvasninky

Mikroorganismy lze rozdělit na eukaryotické (řecké: karyon, jádro) a prokaryotické. Zatímco eukaryotické mikroorganismy mají komplexní buněčnou strukturu, prokaryotické jsou poměrně jednoduché. Kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* (pekařské droždí) je eukaryotický modelový organismus. Patří mezi do skupiny vřecových hub *Ascomycetes*. Tato třída se vyznačuje typickými sporangii, nazvanými asci (singulární ascus), které jsou generovány během pohlavního cyklu. Jako u všech ostatních eukaryot je její buněčná struktura komplexní, včetně jádra, mitochondrií, Golgiho aparátu atd.) (viz. obrázek 12).



Obrázek 12 – Stavba kvasinky

Kvasinky se skládají pouze z jediné buňky, která se rozmnožuje dělením a každá dceřiná buňka se může rozdělit do nových buněk. Toto asexuální šíření zahrnuje mitózu a výsledky v duplikaci haploidního nebo diploidního genomu, který je pak rovnoměrně rozdělen mezi mateřskou buňku a dceřinými buňkami. V přírodě existuje *S. cerevisiae* v diploidním stádiu. Za určitých podmínek (např. vymrazování dusíkem) jsou kvasinkové buňky schopny podstoupit životní cyklus s meiotickým dělením, které mají za následek generaci z asci se čtyřmi haploidními ascospory, které nesou jeden z párových vřeců ("alfa" nebo "a"). V laboratoři mohou být tyto haploidní buňky odděleny, aby byl získán haploidní kmen, zatímco v přírodě budou hned dva haploidní kmene jako pojistka po rozmnožování za účelem generování diploidních kmenů. Tento životní cyklus kvasinek je známý jako pohlavní životní cyklus. V biotechnologických aplikacích má však nepohlavní cyklus zásadní význam. Zejména v některých průmyslech, např. během rozmnožování pivovarských kvasinek. Cyklus pohlavního rozmnožování se používá k produkci rekombinantních kmenů s nově získanými vlastnostmi.

Kvasinky rostou heterotrofně, což znamená, že vyžadují externí zdroj uhlíku (glukóza, maltóza, trehalóza) s centrálními metabolickými cestami (glykolýza, cyklus kyseliny citronové (TCA cyklus a Krebsův cyklus) a oxidační fosforylace) za aerobních podmínek. Biotechnologické použití se opírá hlavně o metabolické cesty, které jsou aktivní za anaerobních podmínek. Zde kvasinky fermentují cukr na alkohol (ethanol) a oxid uhličitý, což je proces, který probíhá v cytosolu (vnitrobuněčná tekutina, která je částí cytoplazmy) buňky.

Glykolýza

Během glykolýzy (odbourávání glukózy) probíhá série 10 reakcí přeměňují glukózu na pyruvát s tvorbou dvou molekul adenosin trifosfátu (ATP) a redukcí ekvivalentního počtu nikotinamidenukleotidu (NADH). Glykolýza je účinná při oxidačních i redukčních podmínkách a začíná aktivací glukózy dvěma molekulami ATP a následnou izomerací. Výsledná 1,6-bisfosfátová fruktóza se štěpí aldolázou, čímž se získají triosfosfátové isomery dihydroxyacetonu fosfátu a glyceraldehyd-3-fosfátu. Vyskytuje se energetická extrakce prostřednictvím fosforylace na úrovni substrátu ve dvou reakcích. Nejprve fosfoglycerát kináza konvertuje 1,3-bisfosfoglycerát na 3-fosfoglycerát pod generací z ATP. Druhá reakce je konečným krokem glykolýzy, kde je fosfoenolpyruvát je transformována na pyruvát pyruvát kinázou (obrázek 1.4). Všechny glykolytické enzymy se nacházejí v cytoplazmě kvasinkové buňky. V případě jiných cukrů namísto glukózy jsou buď převedeny na glukózu nebo meziproducty glykolýzy a poté metabolizovány.

V aerobních podmínkách je pyruvát transportován do mitochondria a následně se komplex pyruvát dehydrogenasy převede na acetyl-CoA. Ten vstupuje do cyklu TCA, ve kterém je plně oxidován na oxid uhličitý a elektrony ve formě redukčních ekvivalentů. Během oxidační fosforylace elektronů jsou transportovány v sérii redoxní reakce na konečnou oxidázu, která snižuje kyslík do vody. Během tohoto procesu se protony přesunují přes vnitřní mitochondriální membránu do matrice. Generovaný protonový gradient je pak používán ATP syntézou za účelem generování ATP. Celkově tento proces přináší celkem 36-38 molekul ATP na molekulu glukózy.

Alkoholová fermentace kvasinkami

Při anaerobních podmínkách, kdy je terminální elektronový akceptor pro oxidační fosforylace, kyslík, chybí, mnoho mikroorganismů včetně kvasinek podstoupí fermentaci. Obecný princip fermentace zahrnuje jak oxidační, tak redukční část. V oxidační části je substrát oxidován na meziproducty, které se následně redukují, aby se získal fermentační produkt. Během této reakce redukující části (tj. nikotinamid adenosin dinukleotid, NADH) jsou reoxidovány pro opětovné použití v oxidační části fermentace. ATP je jen generované fosforylací na úrovni substrátu bez účasti ATP syntázy. Proto je celkový energetický výnos fermentací spíše nízký a konečné producty jsou často stále bohaté na energii.

Během alkoholové fermentace kvasinky přemění glukózu na pyruvát v oxidačním procesu (tj. glykolýza). Toto je také okamžik, kdy je generováno ATP. fosfoglycerát kináza:

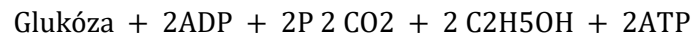


a pyruvát kináza:

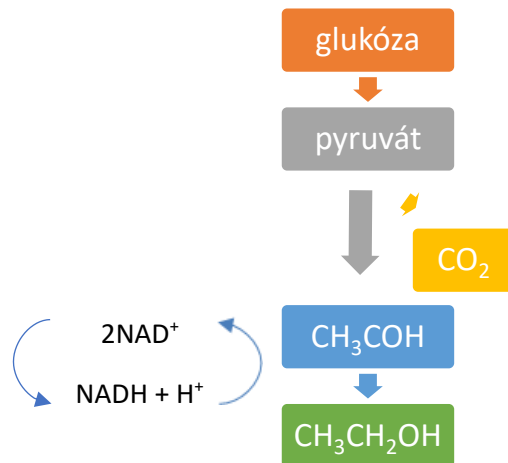


Dále, místo převedení pyruvátu na acetyl-CoA, se pyruvát dekarboxyluje pyruvát dekarboxyláza za vzniku acetaldehydu (obrázek 1.5). Poslední krok je redukční a dochází k alkoholové fermentaci zahrnující reoxidaci NADH a následnou konverzi acetaldehydu na ethanol alkohol dehydrogenázou.

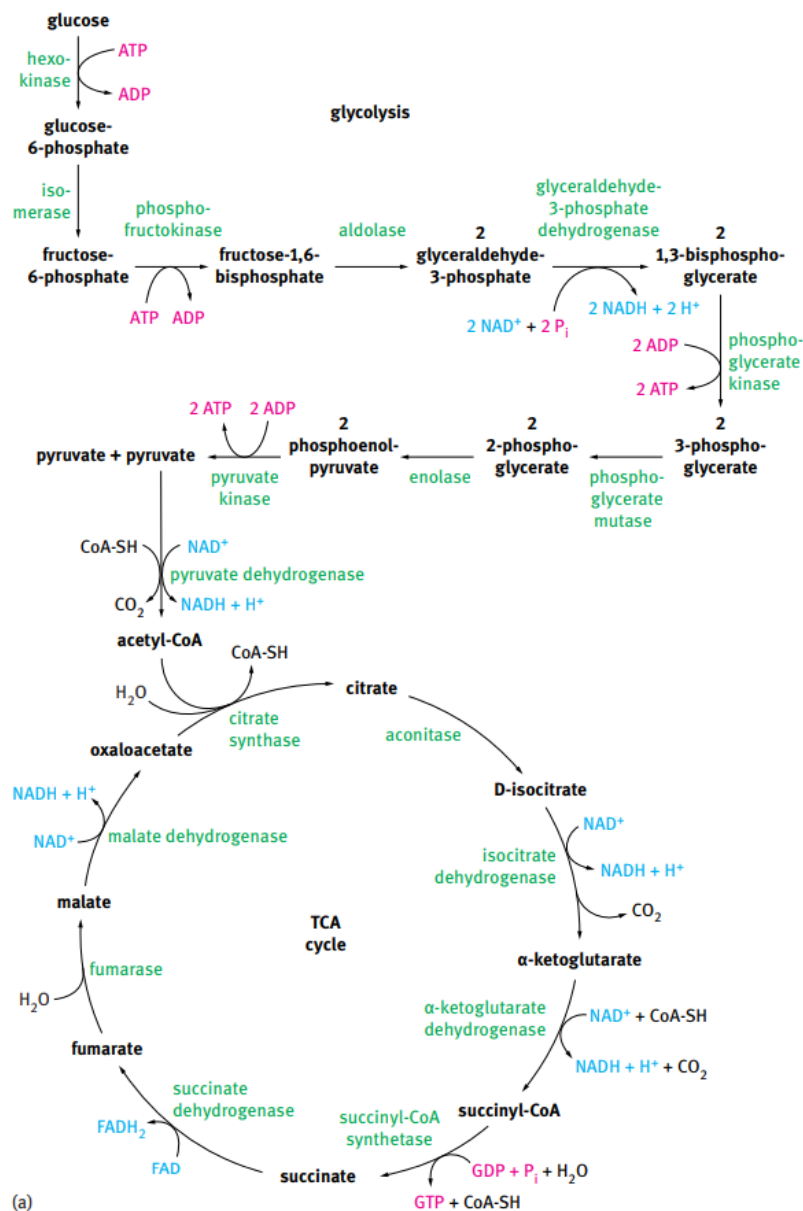
Celkově alkoholová fermentace jedné molekuly glukózy poskytuje celkem dvě molekuly ATP, oxidu uhličitého a ethanolu. Regenerace NADH je důležitá, aby glykolýza probíhala, protože to je jediný způsob, jak je organismus schopen generovat energii (ATP).



Průběh kvašení je znázorněn na následujícím obrázku 13.



Obrázek 13 – Zjednodušené schéma ethanolového kvašení



Obrázek 14 - průběh glykolýzy

Využití kvasinek

Kvasinky jsou modelový organismus v genetice. Jsou schopny syntetizovat vitamíny skupiny B1 a enzymy. Používají se v různých potravinářských odvětvích.

Výroba droždí – využívají se kvasinky *Saccharomyces cerevisiae hansen*. Kvašení probíhá za aerobních podmínek v melasové zápaře, což potlačuje produkci etanolu.

Pekařství – při kynutí těst se využívají kvasinky

- *Saccharomyces cerevisiae hansen* – pšeničná těsta, žitná těsta
- *Torulopsis holmi* – žitná těsta

Mlékárenství – se využívá kvasinek

- *Torulopsis candida* – máslo, rokfór
- *Candida utilis* – sýr zrající pod mazem, krmné kvasnice
- *Candida kefir* – kefir. Při výrobě kefiru se využívá jak homofermentativních, tak heterofermentativních procesů mléčného kvašení a ethanolové kvašení. Poměr mléčného a ethanolového kvašení udává charakter kultury a podmínky kultivace.

Pivovarnictví využívají kvasinky rodu *Saccharomyces cerevisiae*. Během hlavního kvašení lze vyzorovat několik fází. První z nich je zaprašování, během níž se na hladině zakvašené mladiny tvoří pěna. Druhým stupněm je dokvašování a ležení piva. Dochází k dokvašení extraktu. Určité množství zbytkového cukru je potřebné pro karbonizaci piva během procesu zrání piva (sekundární fermentace). Oxid uhličitý je produkován kvasinkami během celého procesu fermentace piva.

Kontaminující mikroorganismy

Pokud není zajištěna potřebná kvalita suroviny, sterilita celého kvasného prostředí, zejména kvasírny a dostatečné množství zákvasu pravých kvasinek, mohou se při kvasném procesu uplatnit i jiné mikroorganismy, které snižují výtěžky ethanolu. Mezi kontaminující kvasinky tzv. nepravé kvasinky u nichž převládá oxidativní metabolismus, přičemž dochází na povrchu kvasného media za přístupu vzduchu k jejich masivnímu nárůstu, což se projeví vznikem kožovitých nebo křísovitých útvarů. Mezi tyto kvasinky řadíme rody *Hansenula*, *Pichia*, *Debaryomyces*, *Geotrichum*. Vážné problémy při lihovém kvašení mohou způsobit bakterie, které přicházejí do kvasu hlavně ze surovin. Častými produkty jejich působení jsou těžké a netěžké organické kyseliny (máselná, mléčná), které jsou pro kvasinky inhibiční až toxické. V obilí a bramborách se vyskytují bakterie máselného kvašení, v havarovaných surovinách hnilobné bakterie. V melase se může vyskytnout bakterie *Leuconostoc mesenterides*, která vytváří sliz (dextran) ucpávající potrubí.

8.2. Mléčné kvašení

Bakterie mléčného kvašení představují specifickou skupinu bakterií, která má mimořádný význam pro potravinářský průmysl. Tyto mikroorganismy mají buněčnou stěnu grampozitivního typu, jsou nepohyblivé a nesporující. Využívají kyslík v prostředí, kde je jeho koncentrace nižší než ve vzduchu (mikroaerofilní bakterie) nebo jsou anaerobní, ale zcela bez kyslíku nerostou. BMK jsou řazeny mezi chemoorganotrofní organismy, protože energii získávají oxidací organických látek. Pro růst BMK jsou nezbytné zdroje uhlíku a dusíku. Bakterie přijímají uhlík ze sacharidů (třtinová a řepná sacharóza, syrovátka s obsahem laktózy, maltózy a glukóza z hydrolyzovaného škrobu), dusík částečně ve formě aminokyselin. Součástí výživy jsou některé vitamíny skupiny B, minerální soli (fosfát důležitý pro růst) a růstové látky. Jsou schopné fermentovat sacharidy za vzniku kyseliny mléčné.

Po biochemické stránce jsou mléčné bakterie rozdělovány na

- **homofermentativní** (např. *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* a některé laktobacily) produkující primárně kyselinu mléčnou,
- **heterofermentativní** druhy (např. *Leuconostoc*, *Weissella* a některé laktobacily), které s kyselinou mléčnou produkují i další látky.

Vzhledem k jejich přirozenému výskytu v nejrůznějších prostředích může fermentace probíhat jak v mase, mléce, tak i v rostlinách, zelenině a cereáliích. Protože kyselina mléčná, která vzniká při fermentaci, zabraňuje množení bakterií způsobujících hnilobu, je činnost BMK odedávna využívána ke konzervaci potravin i krmiv. Fermentace potravin ovlivňuje chuť a zvyšuje nutriční hodnotu. Z mikrobiologického hlediska je funkční význam bakterií mléčného kvašení pro technologii výroby potravin nepostradatelný. Řada zástupců těchto bakterií slouží v potravinářském průmyslu k výrobě

fermentovaných potravin, jako je např. kysané zelí a okurky, v mlékárenství např. příprava sýrů a kvašeného mléka (jogurty, acidofilní mléko), nebo jsou přítomné v pekařském kvásku. V dále jsou tyto bakterie využívány k výrobě potravinových doplňků.

Některé druhy těchto bakterií jsou označovány jako probiotika, neboli bakterie, které příznivě ovlivňují zdraví hostitele. Prospěšné účinky na lidské zdraví vykazují pozitivním ovlivňováním střevní mikroflóry, protizánětlivou či protirakovinovou aktivitou.

Rod *Lactobacillus* patří mezi nejvýznamnější rody pro biotechnologie a potravinářský průmysl. Tyto bakterie jsou rozšířeny v přírodě, ve startovacích kulturách rostlinného i živočišného původu, v nápojích, čisté i znečištěné vodě, kysaném zelí nebo siláži. Lactobacily jsou přítomné v gastrointestinálním traktu (GIT) ptáků i savců a vagině savců. Vytvářejí přirozené prostředí ústní flóry teplokrevných živočichů včetně člověka. Jejich patogenita se vyskytuje vzácně

Fermentace mléčnými bakteriemi

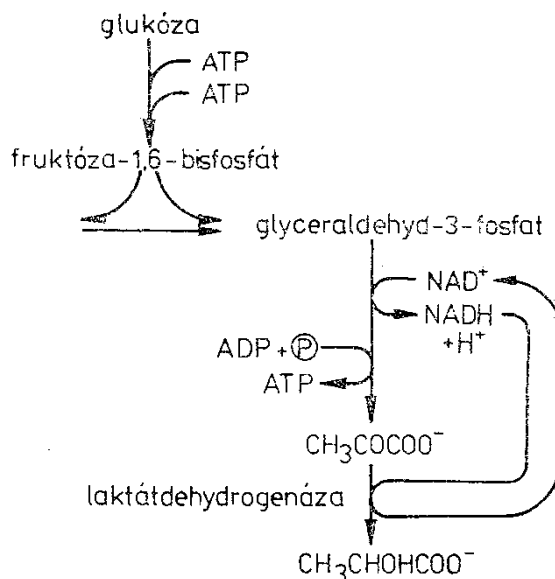
Mléčné kvašení je jedním z mnoha možných způsobů fermentace prováděných bakteriemi. Metabolismus chemoorganotrofních bakterií mléčného kvašení probíhá bez přístupu vzduchu (anaerobně). Jedná se o fylogeneticky nejstarší a nejprimitivnější katabolický děj označovaný jako **fermentace**, neboli kvašení.

Při fermentaci je organická látka (zdroj energie) rozštěpena na dvě látky, z nichž jedna je oxidována a druhá redukována. Druhá tedy slouží jako akceptor vodíkových elektronů odebraných látce první. Fermentace začíná obvykle glykolýzou, která je popsána výše. Glykolýza primárně slouží k získání energie z molekul sacharidů v podobě ATP a druhou hlavní funkcí je získ energeticky bohaté kyseliny pyrohroznové (pyruvát).

Pyruvát, který vznikl procesem glykolýzy je redukován na anion kyseliny mléčné (α hydroxypropionové), tj. na **laktát**. Aby bakterie získala dostatečné množství energie procesem fermentace, musí být splněny tři podmínky:

- Fermentovaná látka (zdroj energie) musí být rozložitelná na dvě sloučeniny v ekvimolárním poměru tak, aby jedna byla donorem a druhá akceptorem elektronů. Zároveň rozdíl elektrodoových potenciálů mezi oběma sloučeninami musí být dostačující pro vznik molekuly ATP. Tento předpoklad splňuje např. glukóza.
- Zdroj energie musí být enzymaticky rozložitelný za vzniku stejného množství donorů a akceptorů. Každá dehydrogenace musí být vyvážena redukcí a každé vytvořené NADH musí být schopné reoxidace na NAD⁺.
- Bakterie musí být geneticky vybavené pro enzymy, které jsou nezbytnou součástí katalýzy při fermentaci.

Proces přeměny pyruvátu na laktát začíná přechodem redukováného koenzymu NADH z glyceraldehyd-3-fosfátdehydrogenázy na apoenzym laktátdehydrogenáza. Apoenzym se reakcí s pyruvátem reoxiduje a pyruvát se redukuje na laktát.



Obrázek 15 - Proces přeměny pyruvátu na laktát

Podle povahy produktů jsou rozlišovány dva druhy kvašení: **homofermentativní** a **heterofermentativní**. Výše popsané mléčné kvašení, kdy vzniká jako konečný produkt pouze kyselina mléčná, je homofermentativní. Jako substrát se zde uplatňují hlavně hexózy. Homofermentativní mléčné kvašení se uplatňuje při konzervaci zelí, okurek a zelené píce (tzv. silážování), jelikož zabraňuje rozvoji hnilobných bakterií. Na mléčném kvašení je založeno také sýrařství a výroba kvašených mléčných nápojů.

Heterofermentativní mléčné kvašení je charakterizováno tím, že v jeho průběhu jsou vytvářeny vedle kyseliny mléčné i další produkty. Nejčastěji se jedná o kyselinu octovou, ethanol, vodík a CO_2 . U většiny bakterií heterofermentativního kvašení chybějí základní enzymy glykolytické dráhy (aldoláza a triózo-fosfátizomeráza). Štěpení hexóz, např. glukózy, probíhá po tzv. fosfoketolázové dráze.

Průmyslové využití bakterií mléčného kvašení

Kultury mléčných bakterií používaných v potravinářství:

1. snižují obsah sacharidů,
2. prodlužují trvanlivost snižováním pH (zabrání růstu jiných mikroorganismů),
3. zvyšují nutriční hodnotu (tvorba vitaminů skupiny B, zvyšují stravitelnost bílkovin),
4. vytváří enzymy účastnící se katalytických nebo hydrolytických procesů.

Mlékárenství

Zákysové kultury jsou čisté kultury živých mikroorganismů nebo jejich směsi. Jsou používány jako očkovací dávka k zahájení fermentace pro zajištění požadovaných funkčních vlastností, jako je chuť, vůně, trvanlivost apod. V závislosti na teplotě růstu rozlišujeme různé druhy mikroorganismů (např. *Lactobacillus*, *Streptococcus* a *Bifidobacterium*). Pro výrobu **sýrů** jsou používány bakterie *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* a *Lactobacillus helveticus*. Mezi mikroorganismy **jogurtových** kultur jsou zastoupeni *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*.

Masný průmysl

K prodloužení trvanlivosti masných výrobků se využívá různých technologických procesů. Základním principem je snížení obsahu vody sušením. Proto se trvanlivé masné výrobky mohou uchovávat při pokojové teplotě a nedojde ke zkažení působením mikroorganismů, které k funkci svého metabolismu vodu potřebují. Trvanlivé masné produkty vyráběné pomocí fermentace jsou trvanlivá sušená masa („pršuty“, sušené šunky) a salámy. Mikrobiální fermentace probíhá v procesu **zrání** masného výrobku. Syrový produkt naražený do střev obsahuje řadu mikroorganismů, které pochází jak ze surovin použitých při přípravě směsi (maso, koření), tak ze startovacích kultur vybraných kmenů mikroorganismů (kmeny bakterií mléčného kvašení), které jsou v kутru přimíchávány. Fermentace masných výrobků má také vliv na konzistenci, chuť a aroma. Nejpoužívanější startovací kultury obsahují rody *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Kocuria*, *Staphylococcus*, z kvasinek rody *Candida* a *Debaryomyces*.

Pekařství

Na výrobu chleba a pečiva se kromě obilné mouky, vody, kuchyňské soli a jiných surovin používají kypřící přípravky. Pro kynutí a kvašení těsta jsou přidávány pekárenské startovací kultury, které obsahují homofermentativní i heterofermentativní bakterie mléčného kvašení z rodu *Lactobacillus*.

Konzervovaná zelenina

Procesem kvašení se nejčastěji konzervuje hlávkové zelí, méně často okurky, papriky a v některých státech olivy a houby. Zeleninu fermentují někteří zástupci z rodu *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*. Čistá kultura BMK je používána při konzervování okurek a oliv. Okurky prochází procesem kvašení v celku a bývají zalévány 8% solným nálevem. Zelené olivy mají hořkou chuť, proto jsou před fermentací opracovávány alkáliemi. Pro kvašení zelí jsou využívány odrůdy pozdní, polopozdní nebo pro kvašení speciálně pěstované.

Probiotika

Probiotika jsou živé mikroorganismy převážně bakteriálního původu, které jsou obsaženy v potravinových doplncích (mikrobiální potravinové ingredience). Nejpoužívanějšími probiotickými mikroorganismy jsou bakterie mléčného kvašení z rodu *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* a *Enterococcus*. Jsou využívány především díky dlouhodobým zkušenostem při zpracování mléka, výrobě fermentované zeleniny a siláže, ale především díky jejich nepatogenitě, netoxicitě a snadné manipulovatelnosti. Např. rod *Lactobacillus* fermentací produkuje peroxid vodíku, snižuje pH prostředí, produkuje bakteriociny, čímž inhibuje aktivitu patogenních mikrobů. Další používané bakteriální rody jsou např. *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Clostridium* nebo *Propionibacterium*. Bifidobakterie tvoří až 25 % bakterií ve střevě dospělého člověka, a patří tak mezi hlavní sacharolytické bakterie tlustého střeva. Produkují silné kyseliny, čímž snižují pH prostředí (laktát, acetát) a působí tak antimikrobiálně. Mezi probiotické mikroorganismy jsou zařazovány i plísně (*Aspergillus*) nebo kvasinky (*Saccharomyces*). Probiotika jsou tedy jednosložkové nebo směsné kultury mikroorganismů, které by měly být podávány v dostatečném množství, aby při osidlování trávicího traktu příznivě ovlivnily mikrobiální rovnováhu ve střevním traktu, zlepšily tak vlastnosti mikroflóry hostitele, a tím příznivě ovlivnily zdravotní stav.

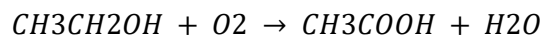
Pro udržení vlastností funkčních probiotik je nezbytná přítomnost nestravitelných složek potravin – tzv. prebiotika. **Prebiotika** jsou nestravitelné potravinářské ingredience, které pozitivně ovlivňují činnost probiotik, jelikož stimulují jejich růst a aktivitu v prostředí trávicího traktu, což má příznivý vliv na zdravotní stav hostitele. Jedním z nejvýznamnějších zdrojů prebiotik je mateřské mléko, které obsahuje přibližně 15 g nestravitelných oligosacharidů v 1 litru. Oligosacharidy z mateřského mléka pozitivně ovlivňují rozvoj nervové soustavy, vstřebávání vápníku, aktivitu bifidobakterií ve střevě kojenců, a zabraňují přilnavosti choroboplodných bakterií na stěnu střeva.

Kombinací probiotik a prebiotik vznikají tzv. **synbiotika**. Jsou to produkty, které pozitivně ovlivňují hostitele selektivní stimulací růstu a aktivací metabolismu jedné bakterie, nebo určitého počtu bakterií. Synbiotika mají mnohonásobně větší účinek, než je prostý součet účinků jednotlivých složek, ze kterých jsou vytvořeny (probiotika, prebiotika) – tzv. synergický účinek.

Synbiotickou potravinou je např. jogurt s obsahem probiotických bifidobakterií a probiotických oligosacharidů.

8.3. Octové kvašení

Octové kvašení je aerobní kvašení alkoholu za vzniku kyseliny octové. Uskutečňují jej bakterie rodu *Acetobacter*. a některými z rodu *Pseudomonas*. Používá se k výrobě octa a kyseliny octové. Mikrobiální produkce kyseliny octové je oxidativní proces, kdy je ethanol oxidován na kys. octovou a vodu. Oxidace probíhá podle rovnice:



V anaerobních podmínkách tvoří kyselinu octovou bakterie rodu *Clostridium*. Octové kvašení je nepřesný název, protože se jedná o dvoustupňovou oxidaci ethanolu přes acetaldehyd na kyselinu octovou.

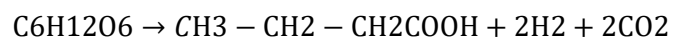
V ostatních potravinářských provozech je nežádoucí. Ohrožuje hlavně výrobu piva a vína při provzdušnění nápojů. Octové bakterie jsou hojně přítomny v ovzduší i rostlinných materiálech. Při octovém kvašení může dojít až k tzv. přeoxidaci na vodu a oxid uhličitý, protože octové bakterie po spotřebování alkoholu, metabolizují vzniklou kyselinu octovou.

Octové bakterie *Acetobacter* (např. *Acetobacter aceti*, *Acetobacter rancens* atd.) jsou krátké tlusté gram pozitivní až gram labilní tyčinky, vyskytují se jednotlivě nebo v krátkých řetězcích, jsou aerobní, proto na tekutých substrátech tvoří povrchovou blanku. Charakter blanky se liší podle druhu octové bakterie.

Výrobky vzniklé octovou fermentací jsou vinné, ovocné (jablečný), obilné, sladové, lihové, rýžové a ochucené octy.

8.4. Máselné kvašení

Máselné kvašení je anaerobní štěpení cukrů nebo kyseliny mléčné na kyselinu máselnou za vývoje oxidu uhličitého a vodíku. Z mnoha druhů bakterií je pro máselné kvašení nejobvyklejší *Clostridium butyricum*. *Granulobacter butyricum* vytváří vedle kyseliny máselné též butanol. Máselné kvašení se uplatňuje při máčení lnu, výrobě pšeničného škrobu kysáním a při zrání některých sýrů, zejména tvarůžku, doplňují mléčné bakterie. Máselné kvašení je nežádoucí např. při přípravě siláže. V přírodě se vyskytuje všude tam, kde je větší množství organických látek a málo kyslíku (bahno, hnůj, rašelina, znečištěné vody).



$C_6H_{12}O_6$ - cukry

$CH_3CH_2CH_2COOH$ - Kys. máselná

8.5. Citrónové kvašení

Citrónové kvašení probíhá za přítomnosti kyslíku, uskutečňuje ho řada druhů heterotrofních hub (např. *Aspergillus*, *Penicillium*), dochází k oxidaci glukózy za vzniku kyseliny citrónové. Výroba probíhá za aerobních podmínek. Důležitá je přítomnost stopových prvků jako jsou Fe, Zn, Cu, Mn. Produkce kys. citrónové je úzce spojena s pH. Při pH < 2 je produkce kys. citrónové silná. Při pH ≥ 3 nadprodukce kys. oxalové a glukonové. Proces výroby probíhá v nerezových vanách umístěných v klimatizovaných komorách ve sterilním mediu kde je přítomna melasa, spory *Aspergillus niger* a kys. fosforečná, která by měla být vyčerpána po skončení tvorby mycelia. Teprve potom dochází k syntéze kys. citrónové. Pokud je koncentrace fosforu vysoká, tvoří se místo kys. citrónové mycelium.

V potravinářském průmyslu se využívá kyselina citrónová k výrobě cukrovinek, nealkoholických nápojů, ovocných šťáv (podporuje účinek antioxidantů, zpomaluje degradaci vitaminů a aromatických látek), konzervační prostředek. Ve farmaceutickém průmyslu se používá jako stabilizátor vitamínu C. Je součástí efervescentních přípravků (šumění plynů uvolněného v kapalině). Používá se při výrobě detergentů, nahrazuje fosfáty.

8.6. Propionové kvašení

Propionové kvašení je anaerobní kvašení způsobované bakteriemi z čeledi *Propionibacteriaceae*, jeho hlavním produktem je kyselina propionová. Navazuje většinou na mléčné kvašení a kyselinu mléčnou dále zpracovává na kyselinu propionovou, kyselinu octovou a oxid uhličitý, díky kterému vznikají plynné výdutě v některých druzích sýrů (např. „oka“ v ementálu).

8.7. Sinice a řasy při výrobě potravin

V průběhu posledních let dochází k významné změně životního stylu a s tím jsou spojeny i změny ve stravovacích návycích a ve složení stravy. Látková přeměna se u člověka vyvíjela a geneticky kódovala tisíce let pod vlivem přírodní stravy. Nesprávná výživa je jednou z tzv. civilizačních chorob. A proto se moderní věda snaží najít zdravé nutriční doplňky. Používání sinic a řas jako možného zdroje výživy se datuje již od období druhé světové války, kdy vzrůstala konzumace hlavně mořských řas. Mořské řasy jsou do dneška považovány za důležitý zdroj živin zejména v asijských a severovýchodních zemích. Mikroskopické řasy zase tvoří základ přírodního potravního řetězce a zelená mikrořasa *Chlorella* se také považuje za důležitý zdroj bílkovin.

Prodej přípravků z řas a sinic lze najít v obchodech se zdravou výživou, kde jsou prodávány jako doplňky stravy ve formě kapslí. Tyto výrobky jsou také doporučeny těm, kteří trpí chorobami způsobenými nedostatkem bílkovin v potravě. Avšak předtím, než je nový potravinářský výrobek prohlášen za bezpečný pro lidskou spotřebu, musí podstoupit řadu podrobných toxikologických testů, které prokážou neškodnost produktu. Doposud provedené výzkumy potvrzují, že biomasa řas nevykazuje známky toxicity a průměrná kvalita bílkovin zkoumaných řas je někdy dokonce lepší než kvalita bílkovin rostlinných i živočišných. Mikroskopické zelené řasy se jako zelený prášek staly součástí různých doplňků stravy především řasy rodu *Chlorella* a *Scenedesmus*. Zpracování konečných produktů (biomasy) probíhá v halách, která je společná pro kultivace mikrořas ve fototrofním i heterotrofním režimu. Jsou zde kultivační zařízení i fermentory pro produkci mikrořas a kompletní linka pro sklizeň řasové biomasy. Rody sinic *Arthrospira* (*Spirulina*), *Anabaena* a *Nostoc* jsou konzumovány člověkem v mnoha státech například v Chile, Mexiku, Peru a na Filipínách. Kmeny *Nostoc* jsou bohaté na vlákninu i proteiny a mohou hrát důležitou fyziologickou a nutriční úlohu v lidské stravě. Rody sinice *Aphanizomenon* jsou shromažďovány z přírodních květů v jezeře Klamath (Oregon, USA), za účelem využití jako plnohodnotný zdroj potravy. *Arthrospira* je často pěstována ve venkovních jezírkách nebo bioreaktorech a prodává se ve formě prášku, vloček, tablet nebo kapslí. Používá se jako doplněk stravy díky své bohaté výživě a stravitelnosti. Tato sinice obsahuje více než 60 % bílkovin a je bohatá i na β-

karoten, thiamin, riboflavin a také je považována za jeden z nejbohatších zdrojů vitamínu B12. Výsledky zkoumání prokázaly, že *Arthrospira* obsahuje vysoké množství bílkovin, enzymů, vitamínů, minerálních látek (Fe, Ca, Na, Mg) a pomáhá při:

- snižování hladiny cholesterolu,
- stimulaci imunitního systému,
- léčbě obezity,
- srdečních chorobách,
- premenstruačním napětí,
- artritidě,
- anemii a osteoporóze,
- zlepšování stavu pleti.

Spirulina je bohatým zdrojem β -karotenu a působí jako antioxidant. V těle jedince je přeměněna na vitamin A, o kterém nedávné studie prokázaly, že může snížit riziko rakoviny. *Spirulina* také snižuje vysoký krevní tlak, potlačuje příznaky cukrovky a pomáhá celkové detoxikaci organismu. *Spirulina* se moderními biotechnologickými způsoby pěstuje v USA v obřích nádržích, ve střední Africe probíhá sběr biomasy tradičními metodami (např. místní ženy v Čadu ručně sklízí tyto sinice z hladin jezera na konci období dešťů).

Mořské sinice se testují na krmení ryb v akvakulturách, které fixují dusík. Ryby, které byly přikrmovány mořskými sinicemi, vykázaly vyšší rychlost růstu při venkovním i vnitřním chovu. Vzhledem k nutričním hodnotám a netoxické povaze byla sinice *Phormidium valderianum* v Indii používána jako kompletní náhrada krmiva pro ryby.

Navzdory vysokému obsahu výživných látek nejsou sušené řasy a sinice považovány jako významně důležité potraviny nebo plnohodnotná náhrada jídelníčku. Hlavními bariérami pro začlenění biomasy řas a sinic do potravinářského průmyslu jsou:

- práškovitá konzistence
- tmavě zelená barva
- mírná rybí vůně

Vědci zkoušeli začlenit biomasu řas a sinic do těsta, ze kterého se vyrábí chléb nebo nudle. Ukázalo se, že i malé množství vysušené biomasy sinic a řas mění konzistenci a chuť potravin natolik, že se často stávají nepoživatelnými.

BECKER E.W. Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances* [online]. 2007, roč. 25, č. 2, s. 207-210, [cit. 2018-03-16]. ISSN: 07349750, DOI: 10.1016/j.biotechadv.2006.11.002 Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S073497500600139X>

ABED R.M.M., S. DOBRETISOV a K. SUDESH. Applications of cyanobacteria in biotechnology. *Journal of Applied Microbiology* [online]. 2009, roč. 106, č. 1, s.1-12, [cit. 2018-03-06]. ISSN: 13645072, DOI: 10.1111/j.1365-2672.2008.03918.x Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2672.2008.03918.x>

EXNAR, Petr, et al. PRAKTICKÁ LIHOVARNICKÁ PŘÍRUČKA. Praha : Agrospoj Těšnov, 1998. Technologie výroby lihu, s. 143-174.

KADLEC, Pavel, et al. TECHNOLOGIE POTRAVIN II. Praha : VŠCHT, 2008. Lihovarnictví a výroba lihovin, s. 159-182. ISBN 978-80-7080-510-7.

GÖRNER, F., VALÍK, L. *Aplikovaná mikrobiológia požívateľín*. 1. vyd. Bratislava : Malé centrum, 2004. 528 s. ISBN 80-967064-9-7.

VODRÁŽKA, Z., ŽĎÁRSKÝ, J., DEMNEROVÁ, K. *Biochemie a mikrobiologie*. 1. vyd. Praha : SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1985. 294 s.

KAMENÍK, J. *Startovací kultury v masném průmyslu*. 1. vyd. Praha : Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1994. 51 s. ISBN 80-851-2046-1.

KVASNIČKOVÁ, A. *Sacharidy pro funkční potraviny: probiotika - prebiotika - symbiotika*. 1. vyd. Praha : ÚZPI - Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2000. 81 s. ISBN 80-727-1001-X.

RADA, V. Probiotika, prebiotika, synbiotika, *Potravinářská revue*, 2008, č. 2, s. 15-16.

9. Biotechnologie ve stavebnictví, biotechnologie při přípravě pigmentů

Biotechnologie ve stavebnictví zaznamenaly v posledních letech velký boom. Hledání udržitelných materiálů se stává posedlostí vědy 21. století. Jedním z hlavních cílů je vytvořit soběstačnou infrastrukturu, schopnou sebekontroly, nebo dokonce samo opravení. Např. "sebezpozorující" se beton, který je ve směsi s uhlíkovými vlákny, trubicemi a niklovým práškem schopen autonomního monitoringu svého stavu a poskytuje informace o prasklinách, vlhkosti, či neobvyklém zatížení. Tato data jsou snímána pomocí připojeného napětí a neustálého snímání elektrického odporu.

Druhým příkladem je výzkum samoopravitelných materiálů, který je inspirován fotosyntézou rostlin. V roce 2019 představili američtí vědci polymer, který se dokáže regenerovat reakcí s oxidem uhličitým, pocházející z okolního vzduchu. Jiné výzkumné skupiny pracují s bakteriemi *Sporosarcina pasteurii*, které při vystavení dešťové vodě vytvářejí z dostupných živin vápno. Přidáním k betonu tak mohou tyto půdní bakterie samy utěsnit vznikající trhliny, podobně jako krevní destičky regenerující poraněnou pokožku. (zdroj: Sedimentary Geology)

Tato kapitola se bude zabývat biokorozí materiálů způsobenou činností mikroorganismů.

9.1. Vymezení pojmů

Biokoroze

je chápána jako rozrušování materiálů působením životních cyklů mikroorganismů. Zabývá se tedy studiem veškerých změn materiálů způsobených organismy. Mění se tedy vlastnosti daného materiálu a tím dochází k snižování jeho kvality. Těchto procesů se účastní bakterie, houby, mikroskopické vláknité houby, řasy, mechy, lišejníky, vyšší rostliny ale také živočichové. Mezi materiály podléhající biodeterioraci, jak je biokoroze také označována, patří dřevo, kovy, anorganické stavební materiály, řezné kapaliny, elektrotechnika, knižní fondy, celulóza, textilní vlákna, zubní sklovina, plasty a sklo. Vznik i průběh biokoroze ovlivňuje řada faktorů, především makroklimatických, které zahrnují podmínky vnějšího prostředí, a mikroklimatických, do kterých spadají podmínky bezprostředního styku na napadeném materiálu. Biokoroze je důležitým a rozhodujícím faktorem pro trvanlivost a použití materiálu.

Biodeteriogen

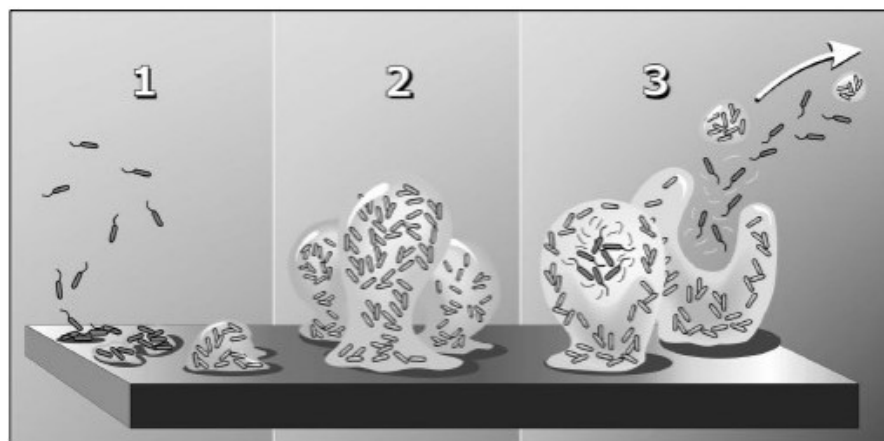
Je to organismus způsobující nežádoucí změny materiálu. Svými orgány nebo buněčnou strukturou se kotví na daném povrchu, kde využívá některé chemické sloučeniny jako živiny. Vyrábí metabolity (enzymy, kyseliny) schopné degradovat substráty. Je konkurenceschopný s dalšími organismy a odolává extrémnímu prostředí. Může rozvinout mechanismy odolávající fyzikálním a chemickým látkám používaných v ochranné léčbě. Biodeteriogeny jsou specifické pro určité typy výrobků v souladu s jejich chemickou strukturou a životním prostředím. Vybírají substrát podle svých schopností jej rozkládat. Mikroorganismy, během kolonizace (mikrobiální sukcese), způsobují biodeterioraci. Hlavní vnitřní vlastnosti odpovídají za stálost mikroorganismů na povrchu, jejich schopnosti adheze, oligotrofie, metabolická flexibilita a toleranci vůči nepříznivým podmínkám. Adhezi mikroorganismů do substrátu je výsledkem hydrofobnosti buněk a vylučováním polymerní látky.

V procesu biokoroze se aktivně uplatňuje biodeteriogen a pasivně technický materiál. Jedná se o otevřený systém, protože umělý technický materiál není schopen aktivní obrany. Růstem organismů je narušovaná celistvost hmot vyvolávajícími tlaky a produkty metabolických přeměn působí na stabilitu minerálních komponentů a rozpouštějí je. Také dochází ke vzniku elektrických polí na rozhraní organismu hmoty a tím k iontové výměně.

Biofilm

je vrstva vzniklá na pevném podkladu tvořena společenstvem mikroorganismů. Pojem biofilm zahrnuje obrovskou škálu mikrobiálních sdružení, která se běžně vyskytují na fázovém rozhraní. Ve vodním prostředí jsou mikrobiální buňky přichyceny k pevnému povrchu včetně kovů. Imobilizované buňky rostou, rozmnožují se a produkují extracelulární polymery, které dohromady tvoří útvar zvaný biofilm. Biofilm je tedy výsledek uskupení, růstu a odtržení (obr. č. 1). Počet buněk, které se přichytí na povrch závisí na povrchových vlastnostech materiálu, fyziologickém stavu buněk a na hydrodynamice. V jednom biofilmu může být pohromadě i několik zástupců různých domén. Význam biofilmu je především v tom, že představuje pro zúčastněné mikroorganismy dodatečnou ochranu.

Vznikem biofilmu se mikroorganismy dostávají do odlišného fyziologického stavu. Bakterie v biofilmu mohou mít výrazně odlišné vlastnosti, kterými se liší od volně plovoucích bakterií. Biofilm jim umožňuje spolupracovat a komunikovat různými způsoby. Buňky začnou produkovat pojivo a své chování a metabolismus podřizují celému společenstvu. Např. buňky v kontaktu s podkladem se snaží na něj co nejlépe upevnit, naopak buňky na povrchu plní spíše obranné funkce. Na buňky v hlubších částech vrstvy se obvykle nedostanou všechny živiny z povrchu, protože jsou zkonsumovány výše umístěnými organismy. Spodní buňky také často využívají odpadních produktů vyšších buněk a obvykle mají nižší metabolickou aktivitu. Vlivem působení mikroorganismů může docházet obecně k znehodnocování, poklesu a zhoršení kvality materiálu, což vede k snižování jeho hodnoty. Tento proces je označován jako degradace. **Bioreceptivita** je termín označující biokorozi technických materiálů, zvláště stavebních, u kterých biologické napadení nemění výrazně jejich technické vlastnosti.



Obrázek 16 - Životní cyklus biofilmu ve třech krocích: (1) přichycení, (2) růst kolonií a oddělení (3)

Jednou z výhod tohoto prostředí je zvýšená odolnost buněk proti saponátům a antibiotikům. Hustá extracelulární matrix a vnější buněčná vrstva chrání celé toto společenství mikroorganismů.

Pozitivní funkce biofilmu:

- Užitečná mikroflóra – filtrovací systémy, loužení rud, inhibitory patogenů atd.
- Produkce enzymů a metabolitů – biodegradace, bioremediace
- Spoluvýstavba ekosystémů

Negativní funkce biofilmu:

- Degradace potravin
- Příčina chronického onemocnění organismu
- Spoluúčast na degradaci materiálů
- Ochranné prostředí patogenů na povrchu implantátů a protetických pomůcek

Biokorozi technických materiálů lze rozdělit následovně.

Rozdělení podle prostředí: atmosférická biokoroze

- v mírném pásmu v kryptoklimatu vytvořeném člověkem půdní biokoroze
- včetně bioremediace půd znečištěných uhlovodíky
- vodní biodeteriorace
- mořská biodeteriorace
- biokoroze ve speciálním prostředí

Rozdělení podle materiálů na biokorozi:

- silikátů,
- plastů,
- pryží,
- kovů,
- nátěrů

Rozdělení podle oborů:

- stavební biokoroze
- elektrotechnická biokoroze
- biokoroze dopravní a letecké techniky
- biokoroze archivních materiálů

9.2. Faktory ovlivňující biokorozi

- **Živiny** – zdroj živin pro chemoautotrofní organismy jsou anorganické látky, pro chemoorganotrofní (heterogenní) organismy jsou to látky organického původu
- **Vlhkost** – mikroorganismy ke své existenci potřebují vodu
- **Teplota** – podle vztahu k teplotě se rozlišují mikroorganismy psychrofilní (6 - 10 °C), mezofilní (26 - 40 °C) a termofilní (40 - 55 °C).
- **pH** – ovlivňuje aktivitu mikrobů a tím i příjem živin. Vysoké pH způsobuje zastavení růstu mikrobů, což bylo dříve využíváno k sanaci stavebních objektů
- **O₂** – z hlediska vztahů kyslíku v prostředí mikroby rozdělujeme:
 - obligátně aerobní - k životu potřebují vzdušný kyslík
 - obligátně anaerobní - za přítomnosti vzdušného kyslíku nerostou
 - fakultativně anaerobní - žijí v aerobních i anaerobních podmínkách
 - mikroaerofilní - snášejí malé množství vzdušného kyslíku

Mikroorganismy způsobující korozi materiálů patří především do obligátně aerobní skupiny, mohou se vyskytovat také fakultativně anaerobní mikroby. Existují i striktně anaerobní mikroorganismy, které se však vyskytuje pouze v ojedinělých případech.

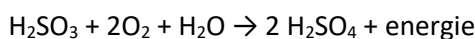
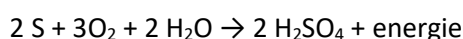
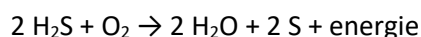
- **CO₂** – ovlivňuje sporulaci mikromycet, vysoká koncentrace cca. 30 - 40 % sporulaci inhibuje. Odolné proti CO₂ jsou parazitické druhy tvořící plodonosné orgány při 70 % CO₂.
- **UV záření** – sluneční záření má na bakterie destruktivní vliv, především v případě pokud nejsou pokryty organickými látkami jako je sliz a pigment. Účinnost je závislá na přítomnosti kyslíku. Účinkem světla vznikají organické peroxidy a peroxid vodíku.

9.3. Bakterie způsobující korozi – biodeterigeny

Pro stavební materiály představují bakterie největší nebezpečí. Biodeteriorace může být způsobena mnoho bakteriemi, zejména v oblasti chemoautotrofních oxidujících bakterií a sírných nitrifikačních bakterií, heterotrofních bakterií a aktinomycet. Tyto organismy jsou obzvláště aktivní ve vztahu k vápenci a vápenatém pískovci.

Sírné bakterie

Patří mezi chemolitotrofní aerobní autotrofní bakterie, které za účelem získání energie oxidují síru nebo její anorganické sloučeniny. Jejich metabolickou činností vzniká kyselina sírová a sirovodík. Oxidace bakterií v rovnicích č. 1, 2, 3 [17]:



Tyto bakterie způsobují rozpad stavebního kamene, snižují životnost fasád a způsobují korozi betonu zejména v kanalizaci. Vyskytují se v prostředí s dostatečnou vlhkostí, při optimálním pH 3-6 a optimální teplotě 25 - 30 °C [1].

Jedná se bakteriální kmeny: *Acidithiobacillus (A.) thioparus*, *A. denitrifikans*, *A. thiooxidans*, *A. thermophilus*, *A. concretivorus*, *A. novellus*

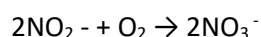
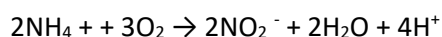
Desulfurizační bakterie

Jsou to striktně aerobní nebo fakultativně autotrofní bakterie. Mají schopnost redukovat sloučeniny obsahující síru ve vyšším oxidačním stupni až na H₂S. Kyslík, který tímto získají, využívají pro vlastní růst. Vyskytují se především v půdě, pronikají odtud spolu se spodní vodou do pórů stavebních materiálů. Teplotní rozmezí je 25°C - 50 °C, pH cca. 7.

Jedná se bakteriální kmeny: *Desulfovibrio desulfuricans*, *D. vulgaris*, *D. gigas* a *D. afrikans*, *Desulfotomaculum nigrificans*, *D. ruminis* a *D. orientis*

Nitrifikační bakterie

Jsou aerobní chemolitotrofní organismy, které získávají energii oxidací amoniaku a amonných iontů. Nitrifikační bakterie jsou obvykle děleny na bakterie nitritační, které tvoří dusitany, a bakterie nitratační, oxidující dusitany na dusičnany (viz následující rovnice).

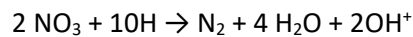


Takto vzniklý dusičnanový a dusitanový anion reaguje s vápenatými složkami stavebních materiálů, přičemž dochází k vyloužení vápenné složky. Pro nitrifikační bakterie je optimální teplota 25 – 30 °C a optimální pH 8 –9.

Jedná se bakteriální kmeny: *Nitrosomonas*, *Nitrosobolus*, *Nitrosospira*, *Nitrosovibrio*, *Nitrobacter*

Denitrifikační bakterie

Jsou to fakultativními anaeroby, získávají energii oxidací organických látek, k čemuž využívají kyslík, vázaný v dusičnanech či dusitanech. Dusík z těchto solí je tak redukován na plynné produkty NO, N₂O a volný dusík, což je vyjádřeno rovnicí:



Denitrifikační bakterie se vyskytují na mramoru, travertinu a také na pískovci. Teplota je v širokém rozmezí (2°C - 65 °C). Optimální teplota je 25 °C. Hodnota pH se pohybuje 3 – 9.

Jedná se bakteriální kmeny: *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescen*, *Escherichia coli*, *Achromobacter*, *Bacillus Micrococcus*, *Chromobacterium*, *Mycoplana*, *Serratia*, *Vibrio*

Silikátové bakterie

Jsou širokým souhrnem chemoorganotrofních bakterií, které jsou schopné uvolňovat draslík z těžko rozpustných draselných alumosilikátů, hornin a minerálů. Upřednostňují růst na hrubozrnných pískovcích a jílových minerálů, ojediněle i na jemnozrnných pískovcích. Zvláštností je, že dobře přežívají na zdivu s vyšší koncentrací soli. Optimální teplota je 15 až 30 °C, u některých psychrofilních bakterií i 5 °C. Optimum pro hodnotu pH je 7.

Jedná se bakteriální kmeny: *Bacillus circulans*, *B. mucilaginosus*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. oxalicus*, *P. putida*, *P. aeruginosa*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*

Příklady biokoroze

Biokorozi betonu většinou způsobují chemoautotrofní bakterie, mezi které patří sirné, desulfurikační, nitrifikační, denitrifikační a silikátové chemoorganotrofní bakterie. Spolupůsobením mikroorganismů probíhají na betonu korozní procesy I. a III. typu. Faktory ovlivňující průběh biokoroze beton :

- Pevnost a porozita
- Příměsi
- Izolační vrstva
- Poměr agresivních látek
- Složení cementu

9.4. Řasy a sinice

Obě tyto skupiny řas a sinic získávají energii pomocí fotosyntézy, k jejímuž průběhu jsou přizpůsobeny barvivy, zejména různými typy chlorofylu. Odlišují se v zastoupení barviv a také v produkci zásobních látek.

Řasy

Jsou jednoduché formy rostlin. Jednotliví zástupci se liší chemickým složením zásobních látek i buněčných stěn a kombinací fotosyntetických barviv. Patří mezi vodní rostliny a představují předchůdce rostlin vyšších. Mezi řasy patří tři vývojové větve, červená, hnědá a zelená, mezi něž je rozřazeno několik oddělení.

Řasy se teplotně přizpůsobí nejrůznějším extrémním prostředím, kde nejen přežívají ale i aktivně metabolizují. Celá řada druhů je schopna přetrvat v extrémních teplotách od -195°C do +1000 °C. Dobře snášejí osluněné zdivo s tepelnými výkyvy 0 až 850 °C. Optimální pH je od 3,5 až 9. Tvoří bohaté porosty

na vlhkém zdivu, ale vystačí si i se vzdušnou vlhkostí. Jsou schopny několik desítek let snášet vyschnutí. Jsou také odolné proti vysoké salinitě.

V průběhu vědeckých výzkumů se prokázala spoluúčast řas na degradaci uměleckých kamenných artefaktů, archeologických objektů, fasád domovních objektů i na určitých typech střešních krytin. Řada sochařských děl především z pískovce jsou napadeny řasami *Trentepohlia aurea* (oranžová řasa) a zelené řasy oddělení *Chlorophyta*, nejběžnější *Protococcus vulgaris*. Velmi často se řasy vyskytují na dodatečně upravovaných stavebních objektech (*Navicula*).

Zástupci řas: *Calothrix braunii*, *Gloeocystis*, *Gloeocapsa turgida*, *Tetracystis*, *Cystomonas*, *Muriella*, *Chlorella*, *Stichococcus*, *Scenedesmus*, *Klebsormidium*, *Apatococcus*, *Trebouxia*, *Trentepohlia*, *Pleurococcus*, *Haematococcus pluvialis*, *Hantzschia*, *Heterococcus*, *Heterothrix*, *Navicula*

Sinice

Sinice jsou nejstarší skupina mezi řasami. Patří mezi autotrofní, fotolitotrofní prokaryotické organismy, které obsahují chlorofyl. Při fotosyntéze využívají jako donor elektronů vodu. Při tomto procesu je uvolňován kyslík. Některé sinice jsou schopny při fotosyntéze fixovat vzdušný dusík. Sinice jsou tvořeny prokaryotickými buňkami. Obsahují lipofilní fotosyntetická barviva jako chlorofyl a β -karoten, dále fykoerytrin či fykocyanin. Součástí buněčné stavby je kyselina muramová, diaminopimelová, glutamová a alanin. Pochva sinic je slizová, má vláknitou strukturu, je složena z pektinových kyselin a mukopolysacharidů a bývá inkrustována uhličitánem vápenatým.

Produkty vylučované sinicemi jsou vystavovány cyklickému vysušování a zvlhčování, což vede k opakovanému napínání a uvolňování, a způsobují tak biofyzickou biodeterioraci kamene. Krom toho, biofilmy vytvořené sinicemi podporují růst heterotrofických organismů jako jsou houby nebo bakterie obsahující velký destrukční potenciál a vytváří tak pro ně zdroj potravy. Vyskytují se na fasádách, střešních krytinách, kde připravují podmínky pro růst dalších organismů.

Zástupci sinic: *Aphanothece*, *Lyngbya*, *Leptolyngbya*, *Nostoc*, *Synechococcus*, *Plectonema*, *Phormidium*, *Chroococcus*, *Myxosarcina*, *Pleurocapsa*, *Scytonema*, *Apatococcus*, *Stichococcus*, *Phormidium*, *Calothrix*, *Scytonema*

9.5. Mikromicety – Plísňe

Patří do skupiny mikroskopických hub. Mají aerobní metabolismus. Tělo plísni označované jako stélka je rozděleno na vegetativní část tvořenou vlákny neboli hyfy a reprodukční část tvořenou rozmnožovacími orgány. Plísňe mají aerobní metabolismus, mohou tedy růst a rozmnožovat se jen v místech, kde je zajištěn přívod kyslíku, tj. na povrchu napadeného materiálu. Schopnost růstu je v širokém rozmezí teplot, ve většině případech rostou dobře při teplotách 18 - 25 °C. Mohou žít i v intervalu teplot od 0 °C do 60 °C. Hodnota pH prostředí je mírně kyselé, až neutrální, optimální hodnota je cca pH 5-7 v závislosti na druhu plísni. Na živiny jsou plísňe nenáročné, v některých případech jim postačuje prach a organické nánosy.

Plísňe zapříčiňují rozpouštění, re-krytalizaci a redepozici kalcitu a dolomitu, což vede k zpráškování stavebního a dekorativního kamene. Projevuje se jako lístkování nebo šupinkování odlupujícího se kamene. Pronikají hyfami podél zvětralých minerálů. Produkty metabolismu plísni uvolňují z minerálu prvky (Al^{3+} , Mg^{2+} , Si^{4+} , Fe^{2+} , Mn^{2+}) za vzniku vodorozpustných komplexů. Zhruba 70 % hub z vápenců a 30 % z pískovců je schopno oxidovat Mn^{2+} . Na mramorech a vápenci vytváří černé, červené, žluté a hnědé deposity, sádrové krusty s příměsí hmyzu a sazí. Plísňová biokoroze se může vyskytovat jak ve starých zanedbaných budovách, tak v nových a komfortních bytech. Hrozí tedy všude tam, kde jsou technické nedostatky.

Zástupci plísní: *Acremonium (murorum, strictum, Aspergillus (flavus, fumigatus, niger, ventii), Aureobasidium pullulans, Alternaria (např. alternata), Fusarium, Cladosporium (např. herbarum, sphaerospermum), Chrysosporium panorum, Mucor mucedo, Penicillium (např. brevicompactum), Scopulariopsis, Stachybotrus (např. atra), Trichoderma*

9.6. Nanomateriály - ochrana proti biokorozi

Ve stavebnictví jde především o nové materiály. Jedná se o nanočástice, které lze použít jako příměsi do nátěrů, omítek, betonů a podobně nebo o nanovlákná, která plní funkci buď transportní bariéry (například tepelná izolace) nebo výztužnou (rozptýlená výztuž, karbonové nanotrubičky a podobně). Ze stavební chemie lze uvést nátěrové hmoty či impregnace, které regulují prodyšnost, hydrofobicitu, nasákavost, mohou působit antibakteriálně (s částicemi TiO_2 , Ag), antigraffiti spreje a podobně. Nutno uvést, že veškerá tato chemie je pro masové použití zatím značně drahá. Jako příměsi do omítkovin či betonu se osvědčily částice TiO_2 , které působí fotokatalyticky, což v praxi znamená, že působením ultrafialového záření se částice TiO_2 postarají o redukcii škodlivin v ovzduší, rozloží bakterie a prachové částice. Ošetřený povrch si zachovává svoji barvu a čistotu. Mezi částicemi ovlivňujícími hydrataci lze uvést například nanosiliku či částice na bázi karbonu. Mezi prvními kandidáty šlo o karbonové nanotrubičky. Jejich cena je však stále značná a jejich využití například v betonu je omezené. Nemusí však jít nutně o drahé nanotrubičky, ale například částice na bázi obyčejného grafitu.

Rizika nanotechnologií

Každá technologie s sebou nese nějaká zdravotní rizika. Samotná velikost částic či vláken je nebezpečím pouze v případě, že se nějakým způsobem dostanou do živého organismu a to vdechnutím nebo s potravou. Podle typu částic mohou tyto objekty vyvolat karcinogenní reakci. Nicméně nanočástice nejsou pouze výtvorem člověka. Existují na této planetě od nepaměti jako prachové částice, barviva, částice jílu a podobně. Se všemi těmito částicemi se příroda umí vypořádat. Jakmile jsou například částice vázány ve vodním či jiném roztoku, nepředstavují takový problém. Podobně je tomu v případě nanočástic používaných do nátěrů či jako příměs do betonu. Jakmile jsou vázány v roztoku, nemohou se volně pohybovat a dostat se tak do živých organismů vzdušnou cestou. Částice s nanorozměry mají také obecně tendenci ke shlukování do větších celků v důsledku povrchových sil. Jejich oddělení je často možné pouze ve speciálním prostředí (tzv. funkcionalizace). Největší nebezpečí v podobě uvolnění částic do okolí je v době jejich výroby a na konci životnosti. V obou případech jde většinou o kontrolované procesy. Možné uvolnění během provozního života konstrukce tu je jistě také v závislosti na charakteru používání a vystavení konstrukce povětrnosti, abrazivům a podobně. Tato oblast zatím není plně prozkoumána.

Biocihly - Zajímavost

BioMason je startup ze Severní Karolíny, který by rád spustil revoluci ve stavebních materiálech. Pracují na biotechnologii, která by mohla razantně omezit emise uhlíku ve stavebnictví.

Dělají biocihly, které nevypalují, ale nechávají je „růst“. Jsou totiž z písku a bakterií. Podle všeho našli mezeru na trhu, kterou teď vyplňují. Kdyby se všechny cihly vyráběly tímto způsobem ušetřilo by to každoročně 800 milionů tun uhlíkových emisí. Společnost BioMason provozuje zkušební továrnu v severokarolinském Durhamu, která produkuje 1.500 biocihel za týden.

Použitá literatura

WASSEBAUER R. Biologické znehodnocení staveb. 1.vyd., Praha: ABF, a.s., Nakladatelství ARCH, 2000. 280 s. ISBN 80-86165-30-2.

GOMOIU, Ioana; RADVAN, Roxana; SARANTOPOULOU, Evangelia. Lasers in Biodeterioration : The National Institute of Materials Physics. National Institute of Research and Development for Optoelectronics [online]. Bukurešť, Chapter 2.5.

SEDLÁKOVÁ, Marie. Biokoroze stavebních hmot. Předneseno na konferenci VÚSH [online]. 2001-11-21, s. 9-12.

Mikrobní ekologie. Rozklad dřeva. Univerzita Jana Evangelista Purkyně v Ústí nad Labem, Fakulta životního prostředí [online].

Kučerová, Irena. Úvod do problematiky biokoroze materiálů památkových objektů. Biologické poškození památek: Ústav chemické technologie restaurování památek [online]. VŠCHT PRAHA. 2001, Seminář STOP, [cit. 2010-04-03.

LEDEREROVÁ J. et. al. Biokorozní vlivy na stavební díla, 1. vyd.. Praha: Silikátový svaz, 2009. 273 s. : il., mapy ISBN 978-80-86821-50-4.

Sedimentary geology:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0037073899000299?via%3Dihub>

10. Biotechnologie v ŽP- odstanění kovů, bioremediace a fytoremediace

10.1. Bioremediace

Bioremediace je děj, kterým se odstraňují polutanty ze zasažených půd a podzemních vod a to za pomoci mikroorganismů. Tato metoda je využita při odstraňování znečištění především ropnými uhlovodíky, polychlorovanými bifenyly, pesticidy a dále polyaromatickými uhlovodíky. Při procesu bioremediace je využíváno aerobních procesů, které dovedou mineralizovat celou řadu organických látek a to dokonce až na koncové produkty CO₂ a H₂O. U vícechlorovaných sloučenin začíná remediace nejprve anaerobním procesem přičemž dochází k reduktivní dehalogenaci a je ukončena aerobní mineralizací uhlíkatého skeletu se snížením atomů halogenu.

U bioremediací jde většinou o podporu přirozeného bakteriálního osídlení v místě zamořeného polutanty. Mezi prostředky zajišťující podporu mikroflóry patří:

Důležité je zajistit vyhovující podmínky pro činnost mikrobů a to pH a teplotu pokud je to možné.

Dále se musí přivádět kyslík a to provzdušněním anebo vnášením kyslíku pomocí slabých roztoků peroxidu vodíku nebo okysličenou vodou.

Rovněž je nezbytný přívod minerálních živin a to zejména dusíku a fosforu. Polutanty jsou charakteristické nerovnováhou mezi N a P vůči C a z tohoto důvodu je nezbytný přísun dusíku a fosforu, tímto přidavkem se významně urychlí biologický rozklad. Nejčastěji je uplatňován poměr C:N:P a to 100:10:1.

Dodání minerálních živin a to zejména malé množství snadno rozpustných a použitelných živin, způsobí podporu růstu a zmnožení buněk mikroorganismů a tím i k rychlejší degradaci. Je důležité zvolit určitý typ živin a množství tak, aby se nedostavila katabolická represe a k přednosti využívání minerálních živin před cizorodými látkami.

Některé výsledky také ukazují na kladný vliv aplikace nerozpustných organických především celulózních látek do kontaminovaných půd.

Pokud jsou výše uvedené primární zásahy na podporu přirozeně se vyskytujících mikroorganismů nedostačující je nutno usilovat o podporu biodegradace jinými metodami a to:

Použití specifických mikroorganismů s jistými degradačními schopnostmi. Tato metoda se používá u cizorodých látek, které jsou často perzistentní a přirozeně se vyskytující osídlení mikrobů by tyto látky degradovaly pomalu nebo vůbec ne a nebo pokud je přirozená mikroflóra zničena jinými činiteli anebo pokud je mikroflóra nedostatečná.

Mnohé mikrobiální kmeny ovšem nemají schopnost v daném prostředí přežít a proto se musí vnášet opakovaně.

Inokulace má opodstatnění u čerstvých kontaminací, kde vzhledem ke krátké době ještě nedošlo k výběru degradačních mikroorganismů z autochtonních druhů. Inokulace se však mnohdy provádí i v případě kdy je schopnost degradovat polutanty autochtonními mikroorganismy dostatečná. Jedná se například o degradaci některých ropných produktů jako je benzín, motorová nafta aj. Většinou se k inokulaci používají gramnegativní aerobní bakterie a bakterie rodu *Rhodococcus*.

Ve většině Evropy a tedy i ČR se kterenní inokulaci nesmí používat geneticky upravené mikroorganismy. Někdy se doporučuje použití detergentů a to v případě je-li látka kontaminující prostředí nerozpustná ve vodě. Vhodnou variantou k tomuto postupu je využití mikroorganismů, které přímo tvoří detergenty tedy biosurfaktanty. Do skupiny mikroorganismů tvořících biosurfaktanty patří bakterie z rodu *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Sphingomonas* aj. I různé druhy aktinomycet tvoří vázané surfaktanty, jelikož jejich buněčná stěna obsahuje hydrofobní skupiny.

10.2. Bioremediace

Četné uhlovodíky alifatické, rozvětvené, cyklické, alicyklické i mnohé aromatické jsou díky procesu aerobní respirace rozkládány.

Alifaické uhlovodíky dovedou oxidovat gramnegativní typy bakterií zejména z rodů *Pseudomonas* a *Acinetobacter* ale i mnohé mykobakterie a aktinomycety a to například rod *Nocardia*.

Při mechanismu oxidace se nejprve přemění koncový uhlík nebo oba koncové uhlíky na alkohol, dále pak na aldehyd a poté na karboxylovou skupinu, tedy vzniká mastná kyselina. Kyselina podléhá β - nebo ω - oxidaci. Někdy je enzymem atakován subterminální uhlík nebo prostřední uhlík v řetězci a vzniká tak keton. Postupnou oxidací se řetězec odštěpuje a tvoří se dvě molekuly kyselin.

Při degradaci alifatických uhlovodíků je významný počet atomů uhlíku v molekule. Methan je tedy snadno odbouratelný a využitelný je zejména methylotrófními bakteriemi, který ho využijí jako zdroj uhlíku a energie.

Oxidací alkanů s dvěma až devíti atomy uhlíku vznikají toxické kyseliny a mikroorganismy je degradují špatně, přesto je některé bakterie dovedou využívat.

Ovšem mezi snadno degradovatelné uhlovodíky patří alkany s 10 až 20 atomy uhlíku. Tyto uhlovodíky mohou posloužit jako výborná živná půda pro růst u mnoha bakterií a mikroorganismů například pro kvasinky a plísně.

Degradační schopnost se opět snižuje u alkanů s delším alifatickým řetězcem. Rozklad bakteriemi je nízký kvůli špatné rozpustnosti.

U rozvětvených uhlovodíků je degradace mikroorganismy pomalejší než u alifatických uhlovodíků.

Mnohé druhy bakterií jsou schopné oxidace isoalkanů s jednou methylovou větví například rody *Nocardia* a některé gramnegativní druhy. Malá část bakterií dovede ovšem velmi pomalu oxidovat isoalkany s alkylovou větví v řetězci, ale uhlovodíky s dvěma methylovými skupinami nejsou degradovány vůbec anebo při oxidaci poskytují dead-end produkty.

Bakterie, které degradují alicyklické uhlovodíky nejsou tak běžné jako bakterie rozkládající alkany a rychlost rozkladu je závislá na vlastnostech molekuly. Rod *Acinetobacter* a některé půdní bakterie je schopen oxidace těchto uhlovodíků za vzniku vedlejších meziproduktů jako jsou mono- nebo dikarboxylové kyseliny.

Lehce oxidovatelné jsou cykloalkylkarboxylové kyseliny, pomaleji se oxidují cykloalkany, jenž mají substituci delším uhlíkatým řetězcem.

Mnohé monoaromatické uhlovodíky a jejich deriváty jsou oxidovány celou řadou gramnegativních bakterií rodu *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Chryseobacterium*, *Comamonas* aj., pak některými aktinomycetami a gramozitivními druhy bakterií rodu *Rhodococcus*, *Nocardia*, *Bacillus*. Degradace se děje několika dráhami přes katechol, kyselinu protokatechovou nebo kyselinu gentisovou přičemž vždy vznikají organické kyseliny, které jsou pak využity v Krebsově cyklu.

Polyaromatické uhlovodíky jsou více odolné vůči oxidaci, s počtem benzenových jader rezistence stoupá. Vlivem rezistence vůči oxidaci jsou aromatické uhlovodíky jedny z nejobtížnějších polutantů. I přesto jsou mnohé dvou-, tří- a vícejaderné uhlovodíky degradovatelné určitými druhy bakterií. Tato schopnost rozkládat aromatické uhlovodíky je známa u bakterií *Pseudomonas putida* nebo rod *Chryseobacterium* (dříve *Flavobacterium*) a rod *Mycobacterium* rozkládá pyren a benzo(a)pyren, druh *Sphingomonas paucimobilis* rozkládá fluoranten či 2-methylfenantren atd.

Schopnost štěpit bifenyly je známá u bakterie rodu *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Rhodococcus* a jiných. Rozkladné cesty jsou známé u naftalenu nebo fenantrenu, dochází k postupnému rozkladu aromatických jader a poslední je převeden na katechol nebo kyselinu gentisovou. Při degradaci bifenyly vzniká katechol.

Při štěpení uhlovodíků hrají důležitou úlohu enzymy nazvané oxigenasy. Jsou to enzymy, které katalyzují včlenění jednoho nebo dvou atomů kyslíku do molekuly a tím započne mikrobiální degradace. Kyslík má velký význam při aerobním rozkladu uhlovodíků kde je potřebný jako akceptor elektronů a protonů ale zároveň i při reakcích urychlených oxigenasami.

Oxigenasy získávají název podle počtu vnášených atomů kyslíku a podle uhlovodíku na kterého působí například methanmonooxigenasa, toluendioxigenasa, xylenmonooxigenasa apod.

10.3. Degradace přírodních a cizorodých sloučenin aerobní respirací

Procesem aerobně – respiračním lze degradovat téměř veškeré přírodní organické látky a mnoho organických látek umělých. Přírodní látky jsou štěpeny pomalu a pouze některými skupinami mikroorganismů a specifickými druhy. Chitin je rozložen určitými půdními druhy bakterií a aktinomycet například rodem *Pseudomonas*, *Chryseobacterium*, *Cytophaga*, *Bacillus*, *Streptomyces*. Agar některými mořskými druhy bakterií například rody *Pseudomonas*, *Cytophaga*, *Chryseobacterium*, *Alcaligenes* a *Bacillus*. Lignin je rozkládán přednostně dřevokaznými houbami apod.

Rozložení umělých organických sloučenin je závislé na jejich stavbě. Většinou jsou rozkládány běžnou půdní nebo vodní mikroflórou, která je využije jako zdroj živin.

Je již znám mikrobiální degradace u většiny cizorodých látek jako jsou herbicidy (dinitrofenoly, fenoxycetové kyseliny, karbamáty, triaziny, močovinné herbicidy), dále insekticidy (organofosfáty, karbamáty), ropné paliva a mazadla, barviva, konzervační prostředky (v nižších než účinných koncentracích), průmyslové chemikálie apod.

Avšak zejména v minulosti se vyráběly mnohé látky, které jsou v životním prostředí neodbouratelné nebo nerozložitelné a degradují se pomalu a s komplikacemi. Mezi tyto perzistentní látky patří například: DDT, polychlorované bifenyly (PCB), lindan, cyklodienové insekticidy (aldrin, dieldrin aj.), chlorované propany, některá azobarviva nebo trinitrotoluen.

Celá řada cizorodých organických látek je rozložitelná aerobními respiračními procesy než je tomu u látek odbourávaných anaerobními pochody. Tato výhoda aerobně respiračních pochodů je dána enzymovým vybavením mnohých druhů mikroorganismů většinou oxigenasami.

Existují, však výjimky což jsou například sloučeniny s vysokým obsahem atomů chloru a za aerobních podmínek nedochází k dechloraci nebo jen velmi špatně. V anaerobním prostředí jsou dechlorovány na látky s nižším množstvím chloru a tyto látky se pak mohou oxidovat aerobní respirací částečně nebo úplně a mezi tyto látky se řadí kongenery PCB s mnoha atomy chloru v molekule, hexachlorcyklohexan (lindan) nebo tetrachlorethylen.

Jistou nevýhodou biodegradace umělých organických látek je možnost vzniku konečných a nerozložitelných produktů tzv. dead-end products. Konečné produkty vznikají důsledkem neschopností mikroorganismů rozkládat meziproducty vznikající při degradaci.

Účinnost aerobní respirace degradovat organické látky až na oxid uhličitý a vodu je příčinou průmyslového uplatnění při čištění odpadních vod, odpadního vzduchu nebo při bioremediaci půd a podzemních vod.

10.4. Bakterie rozkládající NEL, PAU, PCB

Nejvíce používanými mikroorganismy při biodegradacích jsou bakterie. Především bakterie z rodu *Pseudomonas* jsou známé a používané biodegradační mikroorganismy jenž mají širokou substrátovou specifitu. U bakteriálních kmenů tohoto rodu je znám biodegradační potenciál, ale některé z nich vykazují podmíněně patogenní a patogenní vlastnosti. Bakterie *Pseudomonas* jsou rovněž nejvíce zkoumanými mikroorganismy. Široká degradační škála látek především aromatických byla popsána i u jiných rodů bakterií a to například u *Comamonas testosteroni*, *Streptomyces* sp., *Alcaligenes* sp., *Mycobacterium* sp., *Paracoocus* sp., či *Rhodococcus* sp. Na degradaci ropných uhlovodíků se mohou použít rody: *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Citrobacter*, *Flavobacterium* a *Chromobacter*. Jednotlivá prostředí jsou často určena extrémní teplotou, aciditou nebo alkalitou,

vysokou salinitou nebo vysokým tlakem. V takových prostředích mají své uplatnění především bakterie rodu *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Sphingomonas*, *Bacillus*, *Thermus*, *Acidophilium*, *Acidocella*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Thiobacillus*, *Halobacterium*, *Halomonas*, *Methylomicrobium*, *Aeromonas* a jiné. Nicméně jsou známy i eukaryotní mikroorganismy, které mají schopnost rozkládat řadu látek znečišťujících životní prostředí.

Pseudomonas putida

Do čeledi Pseudomonadaceae patří gramnegativní rody bakterií s přímým nebo zakřiveným tyčkovitým tvarem buňky a aerobním metabolismem někdy i anaerobní respirací (denitrifikací). Většina bakterií je chemoorganotrofní, některé fakultativně chemolitotrofní a některé druhy využívají vodík jako zdroj energie. Velikost bakteriální buňky je v rozsahu 0,5 – 1,0 μm x 1,5 – 4,0 μm. Jejich pohyb je umožněn jedním nebo několika polárními bičíky. Rostou na běžných živných půdách a tvoří nepravidelné kolonie v malých shlucích nebo tvoří řetízky. Rostou za optimálních teplot 35°C ale mohou růst v rozmezí teplot od 0°C do 42 °C.

Rod *Pseudomonas* má proteolytické a lipolytické vlastnosti. Mnohé druhy těchto bakterií dovedou oxidovat některé obtížně degradovatelné látky, jako jsou ropné uhlovodíky, chlorované fenoly, toluen, a pesticidy. U některých bakterií existuje odolnost vůči těžkým kovům a antibiotikům. Některé produkují extracelulární látky známé jako surfaktanty, což umožňuje degradaci ve vodě špatně rozpustných látek. Některé druhy produkují extracelulární pigment (pyocyanin a fluorescein) jenž je rozpustný ve vodě a prostupuje do okolního prostředí, které pak zbarvuje do zelených, žlutých nebo namodralých barev, u starších kultur tmavě hnědých barev. Čeleď je známá díky dobrým degradačním schopnostem u řady cizorodých látek. Činnost enzymů je dána ekologickými podmínkami na místě izolace bakterií. Bakterie používají některé cukry, z kterých tvoří kyseliny ale ne plyny. Některé kmeny oxidují glukózu na kyselinu glukonovou, 2-ketoglukonovou a jiné. Větší množství kmenů dokáže redukovat dusičnany na dusitany. Bakterie se nacházejí v půdě nebo vodě a žijí se saprofyticky. *Pseudomonas* jsou příbuzné s rodem *Vibrio* a *Xantomonas*.

Rhodococcus species

Bakteriální druh *Rhodococcus* náleží do skupiny aktinomycet (obr. 17). Patří mezi typické půdní a vodní mikroorganismy. Půdám přináší typický zemitý zápach. Mnoho aktinomycet tvoří antibiotika (streptomycin, tetracykliny, neomycin). V půdách degradují cizorodé a organické látky. Bakterie nemají moc větvené buňky a ty se navíc cyklicky rozpadají na koky. Jsou známé svou pigmentací oranžovou, růžovou nebo fialovou. Dovedou využívat alifatické a některé aromatické a polycyklické uhlovodíky, chlorované fenoly, nitrované aromatické sloučeniny, pyridin, steroidy, benzoan, některé pesticidy i pentachlorfenol. Tyto bakterie se vyznačují celou škálou cizorodých látek, které dovedou degradovat, snad nejvíce mezi bakteriemi. Patří mezi grampozitivní, chemoorganotrofní, obligátně aerobní bakterie. Metabolismus mají aerobně respirační. Tvar buněk je kulovitý. Bakteriální buňky existují buď samostatně, nebo se seskupují po dvou či více buňkách do shluků, tetrad nebo balíčků. Velikost buňky je v rozmezí od 0,5 do 3,5 μm. Rostou v aerobních podmínkách na běžných živných půdách, kde tvoří lesklé kolonie o velikosti 2 – 4 μm. Bakteriální kolonie tvoří barevný pigment (růžový, žlutý, oranžový). Optimální teplota pro jejich růst je v rozmezí 25 – 35 °C. Žijí se saprofyticky.



Obrázek 17: *Rhodococcus* species

Využití sinic a řas v bioremediacích

Mnoho zdrojů uvádí, že sinice jsou schopny oxidovat složky ropy a další komplexní organické sloučeniny (jako jsou např. herbicidy a tenzidy). Nicméně, nedávné studie ukázaly, že to nejsou sinice samotné, které jsou zodpovědné za degradaci těchto sloučenin. Aby byly schopny tyto látky rozložit, musí se nacházet v přítomnosti sinic i aerobní organotrofní bakterie, a pak je možné docílit úspěšné biodegradace ropných látek. Zatímco aerobní bakterie přímo degradují tyto komponenty, sinice tvoří spíše podpůrná konsorcia v biodegradaci ropy: \emptyset dodávají bakteriím kyslík (vedlejší produkt fotosyntézy), který je potřebný k rozkladu aromatických kruhů, \emptyset poskytují bakteriím jednoduché organické látky, získané procesem fotosyntézy a fermentace, \emptyset poskytují bakteriím vázaný dusík (pouze kmeny fixující N_2), který je omezen v závislosti na různém druhu prostředí. Bylo prokázáno, že bakterie pokrývající povrchy stélek makroskopických řas jsou schopny degradovat ropné sloučeniny. Ve spojení se sinicemi by tak mohly být ideálním řešením bioremediace znečištěných lokalit ropou (Abed a kol., 2009). Sinice a k nim přidružené bakterie se dnes již úspěšně využívají při čištění odpadních vod. Například zástupci *Oscillatoria* a *Aphanocapsa* v kombinaci s bakteriemi *Halobacterium US101* byly úspěšně použity k čištění továrních odpadních vod; jejich činností došlo k redukci vápníku a chlóru na úroveň, která již neinhibovala přežití a množení ryb. Na snížení koncentrací fenolu se využívá *Phormidium valderianum* BDU30501, zatímco *Oscillatoria boryana* BDU92181 se dnes používá k odstranění pigmentu melaninu z odpadních vod celé řady lihovarů. Řasy byly zkoumány pro využití při čištění odpadních zemědělských vod, které vznikají při pěstování ve sklenících. Například Hultberg a kol. (2013) shromáždili tuto odpadní vodu a využil ji ke kultivaci *Chlorella vulgaris* i jiných řas, aby zhodnotili jejich schopnost pro použití při čištění a recyklaci odpadních vod. Výsledky ukázaly, že koncentrace dusíku i fosforu byly po takové úpravě významně sníženy.

10.5. Biosorpce

Biosorpce je považována za inovativní technologii k odstranění iontů těžkých kovů z odpadních vod použitím převážně neživé biomasy řas. Živé řasy se k biosorpci nepoužívají, protože ionty těžkých kovů často živé buňky usmrcují. Neživé buňky řas však vážou ionty kovů na povrchu buněčné stěny, tento proces probíhá tedy extracelulárně. Většina absorpcí kovových iontů probíhá při nízkém pH (3 – 5). Hodnota pH roztoku má významný vliv na disociaci povrchových funkčních skupin neživé biomasy řas a na chemické složení roztoků iontů těžkých kovů. Bylo prokázáno, že proces biosorpce iontů těžkých

kovů probíhá nejlépe v prvních 120 minutách procesu. Na základě srovnání různých kmenů řas byly vyhodnoceny jako nejvhodnější pro bioremediace hnědé řasy. Buněčné stěny hnědých řas obsahují algináty, které mají vysokou afinitu k biosorpci olovnatých a dalších iontů a proto představují vhodnou biomasu pro sorpci iontů těžkých kovů.

10.6. Těžké kovy a rostliny

Nejčastěji jsou jako těžké kovy označovány prvky, jejichž hustota je větší než 5 g.cm⁻³. Jedná se tedy o prvky: La, Ce, Pr, Zr, Hf, Th, V, Nb, Ta, Cr, Mo, W, U, Mn, Re, Fe, Co, Ni, Rh, Ru, Pd, Os, Ir, Pt, Cu, Ag, Au, Zn, Cd, Hg, Ga, In, Tl, Ge, Sn, Pb, As, Sb, Bi, Te, Fm. Dále tam patří i kovy jako Al a Se, které mají nižší hustotu. Proto se místo označení těžké kovy používá spojení toxický kov.

V přírodě se těžké kovy vyskytují v několika formách: jako volné ionty kovů a rozpustné půdní komplexy, ionty kovů specificky adsorbované na anorganické složky půdy, sraženiny nebo nerozpustné sloučeniny (oxidy, uhličitany, hydroxidy) nebo jako křemičité minerály.

10.7. Fytoremediace

řecké phyto = rostlina; *latinské* remedium = čistit

Fytoremediace je technologie, která využívá zelených rostlin a s nimi asociovaných mikroorganismů, půdních doplňků a anorganických technik pro odstranění nebo transformaci kontaminantů z životního prostředí. Remediací založená na působení rostlin není zcela novou technologií. Jedná se o časté využívání vegetace např. podél silnic k zachycení polutantů z provozu aut apod. Umělé rákosové moře, mokřady a další rostlinné systémy se používají k čištění odpadních vod již mnoho let. Lokální kontaminace jsou obrovským problémem. Zamoření půd těžkými kovy negativně ovlivňuje zemědělskou produkci a potravní řetězce v přírodě.

Metody fytoremediace lze rozdělit do dvou skupin technologií: fytodekontaminační a fytostabilizační. Fytodekontaminace spočívá v přímém odstranění kontaminantu. Patří sem fytoextrakce, rhizofiltrace, fytodegradace a fytovolatilizace. Při fytostabilizaci není kontaminant přímo odstraněn, ale je znemožněn jeho přenos do okolí jeho stabilizací přímo v rostlinných orgánech.

Fytoextrakce (fytoakumulace, fytoabsorpce)

Metoda, při které rostliny akumulují kontaminant, pak jsou sklizeny a zpracovány (např. termicky, mikrobiálně nebo chemicky). Tímto způsobem se odstraňují hlavně kovy nebo také mataloidy, radionuklidy nebo nekovy. Ideální pro fytoextrakci, jsou rostliny, které snášejí vysoké koncentrace kovů, akumulují velké množství kovů v nadzemních částech a mají rozsáhlý kořenový systém. Používané rostliny se nazývají hyperakumulátory. Např. z čeledi *Brassicaceae* (brukovité).

Rhizofiltrace

Metoda, která využívá k absorpci, koncentraci a precipitaci xenobiotik z proudící vody kořeny živých rostlin. Čištěným médiem je povrchová, odpadní nebo extrahovaná podzemní voda obsahující nízké koncentrace kovů nebo radionuklidů. Při rhizofiltraci se akumulace kontaminantu objevuje v kořenech nebo v částech rostliny nad vodou. Pro rhizofiltraci je možné využít suchozemské i vodní rostliny.

Ideální rostlina pro tuto metodu by měla rychle růst, hlavní podíl biomasy by měl být soustředěn v kořenech, a především musí být schopná odstraňovat kontaminanty z roztoku. Efektivní je použití rostlin jako jsou brukev sítinovitá (*Brassica juncea*) nebo slunečnice roční (*Helianthus annuus*) především díky jejich rozvinutému kořenovému systému s velkou plochou zajišťující zvýšený příjem kovů. Možné je využít i vodních rostlin, jejich častou nevýhodou je opět malý vzrůst a také krátké kořeny – vodní hyacinth (*Eichhornia crassipes*) nebo okřehek menší (*Lemna minor*).

Fytodegradace

Je metoda, která využívá rostliny a s nimi asociovanou mikroflóru k degradaci kontaminantů na netoxické látky. Fytodegradaci lze využít při dekontaminaci půdy, sedimentů, kalů, podzemní vody i povrchové vody znečištěné organickými látkami, chlorovaná rozpouštědla, herbicidy nebo insekticidy.

Anorganické látky degradovatelné nejsou. Kontaminanty jsou převedeny na méně toxickou nebo zcela nefytotoxickou látku za pomoci enzymů (dehalogenázy, mono- a dioxygenázy, peroxidázy, peroxigenázy, karboxylesterasy, lakázy, fosfatázy, nitroreduktázy).

Fytovolatilizace

U této metody nejde o přímé odstranění kontaminantu, pouze je zabráněno jeho šíření především v místech eroze půdy nebo při riziku jeho vyplavování. Toxické látky jsou imobilizovány především činností kořenového systému, kde dochází k jejich akumulaci, srážení nebo redukci. Příkladem může být redukce rizikového Cr^{VI} na nerozpustný Cr^{III}.

Použitá literatura

Edice Věda kolem nás, Pro všední den [online katalogový list]. *Fytoremediace a možnost její aplikace*. ©2017. Dostupné z: <https://www.academia.cz/uploads/media/preview/0001/04/6296b0868c0a62f1a9758e1bc96861f6d7f131b4.pdf>.

Adriano, D.C. Trace elements in the terrestrial environment. New York, 1986.

Macková M. Využití rostlin k eliminaci xenobiotik z životního prostředí. 2005. www.phytosanitary.cz

Cunningham D. S, Berti W. R, Huang W. J. Phytoremediation of contaminated soils. Trends in Biotechnology. 1995; 13 (9): 393-397

Dushenkov V, Kumar P, Motto H, Raskin I. Rhizofiltration – the use of plants to remove heavy – metals from aqueous streams. Environmental Science & Technology. [Article]. 1995 May;29(5):1239-45.

Kay SH, Haller WTaG, L.A. Effect of heavy metals on water hyacinths [Eichhornia crassipes (Mart.) Solms]. 1984. 117-128.

MO SC, CHOI DSaR, J.W. Uptake of mercury from aqueous solution by duckweed: the effect of pH, copper, and humic acid. 1989. p. p. 135-46.

Prasad MNV, Freitas HMD. Metal hyperaccumulation in plants – Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. Electronic Journal of Biotechnology. [Review]. 2003 Dec;6(3):285-321.

Shah K, Nongkynrih JM. Metal hyperaccumulation and bioremediation. Biologia Plantarum. 2007 Dec;51(4):618-34.

11. Kontaminanty v ŽP - nejrozšířenější zástupci, rozdělení (organické, anorganické), jejich vlastnosti a chování v prostředí, toxicita

11.1. Staré ekologické zátěže, resp. kontaminovaná místa

Odstraňování těchto látek z životního prostředí je velmi náročné. Ekologicky velmi výhodnou metodou je degradace těchto látek pomocí bakteriálních mikroorganismů. Tato metoda je ekonomicky výhodná – je levná a šetrná k životnímu prostředí neboť zpracovává jinak nevyužité odpady z průmyslové činnosti. Další výhodou je nepřeborný počet bakteriálních kmenů, u kterých byla prokázána schopnost degradace těchto polutantů a mnoho dalších kmenů, u kterých ještě nebyly objeveny jejich možnosti využití.

Za starou ekologickou zátěž považujeme závažnou kontaminaci horninového prostředí, podzemních nebo povrchových vod, ke které došlo nevhodným nakládáním s nebezpečnými látkami v minulosti (zejména se jedná např. o ropné látky, pesticidy, PCB, chlorované a aromatické uhlovodíky, těžké kovy apod.). Zjištěnou kontaminaci můžeme považovat za starou ekologickou zátěž pouze v případě, že původce kontaminace neexistuje nebo není znám.

Kontaminovaná místa mohou být rozmanitého charakteru – může se jednat o skládky odpadů, průmyslové a zemědělské areály, drobné provozovny, nezabezpečené sklady nebezpečných látek, bývalé vojenské základny, území postižená těžbou nerostných surovin nebo opuštěná a uzavřená úložiště těžebních odpadů představující závažná rizika.

Odbor environmentálních rizik a ekologických škod rovněž zastřešuje gesci a koordinaci postupu MŽP podle zákona o předcházení ekologické újmě a o její nápravě.

Tato rubrika shrnuje veškeré kompetence oddělení sanace odboru environmentálních rizik a ekologických škod. Na prvním místě jsou předkládány informace o jednotlivých oblastech, ve kterých MŽP, resp. oddělení sanace v rámci procesu odstraňování starých ekologických zátěží aktivně působí. Vzhledem k tomu, že tento proces není financován z centrálního zdroje, a že i další resorty tuto problematiku řeší samostatně, z tohoto pohledu je úloha MŽP v rámci celé ČR především metodická. V dalších úrovních této rubriky lze proto nalézt seznam metodických pokynů, příruček, doporučení a metodických pomůcek pro řešení problematiky odstraňování starých ekologických zátěží, resp. managementu kontaminovaných míst.

Nedílnou součástí těchto aktivit je také poskytování informací o konkrétních lokalitách, sběr údajů a prezentace těchto dat. Hlavním zdrojem těchto informací je evidence starých ekologických zátěží, resp. kontaminovaných míst, a to veřejně přístupná databáze Systém evidence kontaminovaných míst (SEKM). (www.mzp.cz)

11.2. Kontaminanty a jejich chování v ŽP

Ohrožení životního prostředí závisí primárně na fyzikálních a chemických vlastnostech kontaminantu. Zásadní rozdíly v chování kontaminantů lze vysledovat v závislosti na jejich skupenství. Plynné kontaminanty představují přímé ohrožení kvality ovzduší, zatímco ostatní složky (půda, voda) moc neovlivňují. Tuhé kontaminanty, pokud jsou nerozpustné, zůstávají z převážné části deponovány ve svrchních několika centimetrech povrchové vrstvy. Do spodnějších vrstev nebo podzemních vod se dostávají srážkovými vodami. Migrace z místa původní kontaminace nastává větrnou erosi a přenosech jemných půdních částic. Zejména organické polutanty mohou být ve větší míře jako páry transportovány vzdušnými masami do vzdálenějších míst. Rozpustné pevné kontaminanty jsou vodami (srážkovými) transportovány do spodních vrstev půdního horizontu a tím představují riziko. Kapalně rozpustné kontaminanty jsou vždy akutním ohrožením po podzemní vody, protože jejich transport je rychlý.

Kontaminanty všeobecně lze posuzovat podle určitých kritérií. Nejdříve se dělí podle jejich fyzikálních nebo chemických vlastností, způsobu použití, samotném chování v životním prostředí a v neposlední řadě podle sanace zasažených lokalit. Kontaminanty dělíme na

Organické - Rozložitelné látky až na ekologicky neutrální (H_2O ; CO_2) nebo neškodné sloučeniny jako chloridy, dusičnany nebo sírany).

Anorganické – Většina těchto kontaminantů podléhá biologickému nebo chemickému rozkladu zřídka. Je nutno tyto látky buď z velkých objemů kontaminovaných materiálů extrahovat a po zakoncentrování bezpečně uložit nebo chemicky či jinak imobilizovat.

Z hlediska sanací se rozdělují do několika skupin:

- Těkavé organické látky (VOCs)
- Semitěkavé organické látky (SVOCc)
- Ropné látky
- Anorganické látky včetně radioaktivních prvků
- Výbušniny

11.2.1. Těkavé organické látky (VOCs)

Nejčastěji se nachází v zařízeních chemických výroby a v manipulačních prostorech, v kontaminovaných sedimentech, vrtech, vsakovacích prostorech, po elektropokovování a povrchové úpravě kovů, skládkách, uložistiích, prostorech pro manipulaci s odpady v lagunách, oxidačních rybnících, v areálech s barvivem a lakoven nebo odmašťovacích zařízeních pomocí rozpouštědel a jiné techniky.

Dělí se na nehalogenované a halogenované sloučeniny. Ze skupiny nehalogenovaných těkavých kontaminantů jsou aceton, aktrolein, sirouhlík, ethylether, styrenm vinylacetát. Do halogenované skupiny se řadí chloroform, terechlormethan, dichlorethylen, trichlorethylen, tetrachlorethylen a vinylchlorid.

11.2.2. Semitěkavé organické látky (SVOCs)

Podobně jako VOCs mohou se SVOCs vyskytovat v zařízeních chemických výroby, v sedimentech, manipulačních vrtech a vsakovacích prostorech, v areálech elektropokovování a povrchové úpravy kovů, skládkách a uložistiích, v blízkosti netěsných skladovacích nádrží (tanky), v prostorech pro manipulaci s odpady, oxidačních rybnících a lagunách, areálech barvíren a lakoven, areálech mísíren herbicidů a pesticidů, areálech k odmašťování pomocí rozpouštědel, povrchových nádrží, prostorech pro údržbu vozidel a jiné techniky.

Mezi semitěkavé kontaminanty se řadí halogenované i nehalogenované látky, pesticidy a polyaromatické látky. Mezi halogenovanými kontaminanty tohoto typu můžeme uvést chloranilin, chlorkresol, chlornaftalen, dichlorfenol, dichlorbenzen. Příklady semitěkavých nehalogenovaných kontaminantů jsou benzidin, dimethylftalát, dibenzofuran, isoforon, nitroanilin. Příklady pesticidů jsou Aldrin, Chlordan, Dieldrin, Endosulfan Ethion, Heptachlor. Příklady polyaromatických látek jsou pyren, naftalen, fluoren, anthracen.

Zvláštní skupinou přísně sledovaných persistentních chlorovaných kontaminantů jsou polychlorované bifenyly (PCBs). Podobně sledovaným kontaminantem je pentachlorfenol (PCP), který byl řadu let používán jako prostředek pro ochranu dřeva. Jsou rezistentní vůči působení tepla, chemickým činidlům a vůči mikroorganismům. Jeho schopnost tvořit při vyšším pH ve vodě rozpustné soli ovlivňuje významným způsobem jeho migraci či naopak depozici v složkách životního prostředí. Limity jejich obsahu po vyčištění jsou obecně přísné, což představuje potíže při jejich odstraňování biologickými technologiemi. Řada vícemolekulárních PAHs z různých důvodů není půdními mikroorganismy prakticky vůbec degradována. Některé vykazují specifické interakce s organickými

složkami půdy. Oba tyto důvody způsobují jejich persistenci. Úplná mineralizace PAHs je velmi pomalá. Jejich metabolity, které mohou vykazovat toxické efekty, setrvávají v půdě po významně dlouhou dobu. Skupina pesticidů je chemicky velice heterogenní soubor téměř tisíce chemických individuů (insekticidy, fungicidy, herbicidy, nematocidy, rodenticidy, akaricidy) a při výběru vhodné dekontaminační technologie je zcela nutný přísně individuální.

11.2.3. Ropné látky

Typickými zástupci ropných produktů jsou benzín, nafta, letecký petrolej, topný olej.

11.2.4. Anorganické látky

Anorganické kontaminanty se nejčastěji nacházejí se na skládkách chemických odpadů, při elektropokovování a povrchové úpravě kovů. Vyskytují se na skládkách baterií (akumulátorů), spáleništích, kontaminovaných sedimentech, manipulačních vrtech a ve vsakovacích prostorech. Kontaminované mohou být i skládkovací plochy pro radioaktivní a smíšené odpady, oxidační rybníky a laguny, areály, povrchové nádrže.

Patří zde těžké kovy (olovo, rtuť, kadmium, chrom, měď), kyanidy, fluoridy a v neposlední řadě radioaktivní kontaminanty. Anorganické kontaminanty neochotně v prostředí vstupují do biochemických destruktivních procesů. Nejprve se musí látky zakonzentrovat a poté převést do formy buď k dalšímu využití nebo ke správnému uložení.

Olovo

Nejvýznamnějšími zdroji olova jsou akumulátory, olovnatý benzín a výroba barev. Přirozený obsah v zeminách se pohybuje v rozmezí od 10 do 30 mg/kg. V zeminách lze olovo nalézt ve třech oxidačních stavech Pb^0 , Pb^{2+} , a Pb^{4+} . Toxicita olova

Rtuť

Nejvýznamnějšími zdroji rtuti v životním prostředí jsou zpracování rud, elektrotechnický průmysl, elektrochemické výroby, spalování uhlí a výroba ochranných přípravků pro zemědělství. Přirozený obsah rtuti v zeminách se pohybuje v jednotkách až desítkách mikrogramů na kilogram. Všechny sloučeniny rtuti jsou pro člověka mimořádně toxické. Rtuť se u člověka koncentruje v ledvinách, játrech a ve slezině.

Kadmium

Nejdůležitějšími zdroji kadmia v životním prostředí jsou metalurgický průmysl, výroba pigmentů a elektrotechnický průmysl. Přirozený obsah kadmia v zeminách zpravidla nepřevyšuje 1 mg/kg. Kadmium není esenciálním prvkem, může však v biochemických strukturách organismu nahrazovat zinek a narušovat tak funkci některých enzymů. Zvyšuje krevní tlak, poškozuje ledviny, vyvolává destrukci červených krvinek a může způsobit rakovinu plic.

Chrom

Vyznačuje se mimořádně nízkou reaktivitou a vysokou chemickou odolností. Nejvíce se vyskytuje v metalurgickém průmyslu a kožedělném průmyslu. Obsah chromu např. v půdách se pohybuje v širokém rozmezí. Toxicita chromu se projevuje sníženými výnosy na silně kontaminovaných půdách. Hodnoty chromu v půdním prostředí se zvyšují hlavně na místech jako jsou skládky. Nejvíce toxickou formou je trojmocný a šestimocný chrom, který je v těchto stavech nejstálejší. Toxicita v obou oxidačních stavech je rozdílná. Trojmocný chrom patří mezi esenciální stopové prvky nacházející se v metabolismu. Pomáhá tělu využívat inzulín. Kromě toho se účastní štěpení bílkovin a tuků. Je tedy prospěšný jen v určitém množství, při vyšších dávkách je zdraví škodlivý. Šestimocný chrom je více toxičtější forma a karcinogenní. Při expozici může u člověka způsobovat nádorové onemocnění nosní dutiny, plic a zažívacího traktu.

Měď

Nejvýznamnějším zdrojem mědi je elektrotechnický průmysl. Měď se spolu s ostatními kovy uvolňuje do ovzduší např. při těžbě a zpracování měďnatých rud nebo při spalování fosilních paliv a odpadů. Z ovzduší se pak atmosférickou depozicí dostává do ostatních složek životního prostředí. Např. v půdě je měď vázána na organické látky a jílové částice, proto se vyskytuje především na povrchu a méně častěji hlouběji v půdě. Toxicitu mědi určuje množství. V malém množství je důležitá pro lidský organismus a při vyšších koncentracích může způsobovat poškození jater a ledvin.

Radionuklidy

Radionuklidy mají stejné chemické vlastnosti jako příslušné těžké kovy. Tím není řečeno, že všechny radionuklidy jsou těžkými kovy, ale že většina míst vyžadujících remediaci radioaktivních materiálů je kontaminována radionuklidy, které mají podobné vlastnosti. Podobně jako kovy, radioaktivní kontaminanty jsou typicky netěkavé a méně rozpustné ve vodě než některé jiné kontaminanty. Na rozdíl od organických kontaminantů, radionuklidy nemohou být zničeny nebo rozloženy. Proto remediační technologie aplikovatelné na radionuklidy vyžadují separaci, koncentraci/snížení objemu a/nebo imobilizaci. Protože radionuklidy nejsou zničeny, ex situ technologie vyžadují případně uskladnění radioaktivních odpadů. Tyto odpady musí splňovat kritéria přijatelnosti příslušného úložiště.

Použitá literatura

SINGH, Ajay a Owen P. WARD, ed. Biodegradation and bioremediation. Berlin: Springer, 2004. Soil biology, 2. ISBN 3-540-21101-2.

ALLOWAY, Brian John, ed. Heavy metals in soils. 2nd ed. London: Blackie Academic & Professional, 1995. ISBN 0-7514-0198-6.

MATĚJŮ, Vít. Integrované sanační technologie. Chrudim: Vodní zdroje Ekomonitor spol. s r.o., 2016. ISBN 978-80-86832-91-3.

ČERNÍK, Miroslav. Chemicky podporované in situ sanační technologie. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2010. ISBN 978-80-7080-767-5.

FEKETEOVÁ, Zuzana, Alexandra ŠIMONOVÍČOVÁ, Katarína SCHWARZKOPFOVÁ a Hana VOJTKOVÁ. Mikrobiálne indikátory a mikroorganizmy v substrátoch environmentálnych záťaží [CD-ROM]. Ostrava: Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava, 2017. ISBN 978-80-248-4129-8.

Autor	Ing. Iva Janáková, Ph.D.
Název	Úvod do minerálních biotechnologií
Vydavatel	VŠB-TU Ostrava
Rozsah	86 stran
Rok	2019
Copyright	© Iva Janáková
ISBN	ISBN 978-80-248-4376-6