

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Martina Holomková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Získávání polyfenolických sloučenin z vybraných složek biomasy

Bakalářská práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Martina Holomková**
Osobní číslo: **C21112**
Studijní program: **B0531A130025 Chemie**
Téma práce: **Získávání polyfenolických sloučenin z vybraných složek biomasy**
Zadávající katedra: **Ústav environmentálního a chemického inženýrství**

Zásady pro vypracování

1. Zpracujte literární rešerši (od roku 2020 včetně) o separaci polyfenolů z biomasy. Pozornost zaměřte především na možnost využití na v ČR běžně dostupnou odpadní biomasu.
2. Získané poznatky konfrontujte s laboratorním ověřením na vybraném odpadním zdroji biomasy, vyhodnoťte výsledky s ohledem na jednoduchost získávání polyfenolické frakce.
3. Bakalářskou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPa č. 7/2019 "Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací" v platném znění.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **prof. Ing. Tomáš Weidlich, Ph.D.**
Ústav environmentálního a chemického inženýrství
Konzultant bakalářské práce: **Ing. Barbora Kamenická, Ph.D.**
Ústav environmentálního a chemického inženýrství
Datum zadání bakalářské práce: **26. ledna 2024**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

L.S.

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Anna Krejčová, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. ledna 2024

Prohlašuji:

Práci s názvem Získávání polyfenolických sloučenin z vybraných složek biomasy jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 25. 06. 2024

Martina Holomková

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych tímto poděkovala prof. Ing. Tomáši Weidlichovi, Ph.D., který mi byl během celého vzniku bakalářské práce oporou a skvělým mentorem. Děkuji za jeho trpělivý přístup, který mu s úsměvem a grácií udržel po celou dobu naší spolupráce.

Děkuji snoubenci, rodině a přátelům za snahu mi celý proces psaní usnadnit a za jejich obrovskou trpělivost a podporu.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zabývá optimalizací procesu separace polyfenolických sloučenin z odpadní biomasy, kterou je kávová sedlina. Zaměřuje se především na lignin. Zkoumá potenciál sloučeniny vázat na její strukturu antropogenní oxid uhličitý. Vznikajícím produktem jsou příslušné deriváty salicylových kyselin použitelné v zemědělství jako hnojivo. Práce zkoumá celý postup přípravy a snaží se najít výhodná řešení jednotlivých kroků přípravy.

KLÍČOVÁ SLOVA

Biomasa, polyfenolické látky, lignin

TITLE

Recovery of polyphenolic compounds from selected biomass components

ANNOTATION

This bachelor thesis deals with the optimization of the separation process of polyphenolic compounds from waste biomass, which is coffee grounds. It mainly focuses on lignin. It investigates the potential of the compound to bind anthropogenic carbon dioxide to its structure. The resulting product is corresponding salicylic acid derivative, which could be used as fertiliser in agriculture. The thesis examines the whole preparation process and tries to find advantageous solutions for the different preparation steps.

KEYWORDS

Biomass, polyphenolic substances, lignin

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ, TABULEK, ROVNIC A GRAFŮ	10
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	11
ÚVOD	12
TEORETICKÁ ČÁST	13
1.1. Biomasa	13
1.1.1. Průmyslové využití biomasy.....	13
1.1.1.1. Zdroj energie.....	13
1.1.1.2. Výroba papíru	13
1.1.2. Polyfenolické látky	14
1.1.2.1. Rozdělení polyfenolických látek	14
1.1.2.1.1. Flavonoidy	15
1.1.2.1.2. Lignany	15
1.1.2.1.2.1. Lignin.....	16
1.1.2.1.3. Fenolické kyseliny	17
1.1.2.1.4. Stilbeny	17
1.1.3. Huminové látky.....	18
1.2. Káva	18
1.2.1. Kávové boby	18
1.2.1.1. Technologie zpracování	19
1.2.1.2. Chemické složení kávových zrn	19
1.3. Technologie separace polyfenolů z odpadní biomasy	20
1.3.1. Separace polyfenolů z kávové sedliny	20
1.3.2. Separace polyfenolických látek ze semen a výlisků hroznů.....	21
1.3.3. Separace polyfenolických látek z odpadní biomasy obilí.....	22

1.3.4.	Separace polyfenolických látek z bylin	22
1.3.5.	Separáční procesy	22
1.3.5.1.	Filtrace	22
1.3.5.1.1.	Laboratoř.....	23
1.3.5.2.	Pr�myslov� praxe	23
2.	EXPERIMENT�LN� �AST	24
2.1.	Cíl práce.....	24
2.2.	D�l�i procesy p�r�pravy	24
2.2.1.	Separace ligninu.....	24
2.2.2.	Sycení filtrátu CO ₂	25
2.2.3.	Termick� rozklad KHCO ₃ a karboxylace	25
2.2.4.	Vykyselení	26
2.2.5.	Separace produktu.....	27
2.2.6.	Chemick� spotřeba kyslíku CHSK	27
2.3.	Proveden� experimenty.....	28
2.3.1.	Násada KOH + k�vov� sedlina.....	28
2.3.2.	Násada KOH + mo�čovina + k�vov� sedlina.....	29
2.3.3.	Výsledky CHSK – souhrn.....	31
2.3.4.	Elementární analýza.....	32
3.	Závěr	34
	POUŽIT� LITERATURA	38

SEZNAM ILUSTRACÍ, TABULEK, ROVNIC A GRAFŮ

Obrázek 1, Flavonové jádro	15
Obrázek 2, Deriváty kyseliny skořicové	16
Obrázek 3, Základní stavební jednotky ligninu	16
Obrázek 4, Chemická struktura resveratrolu jako příklad polyfenolu se stilbenovou strukturou [13].....	17
Obrázek 5, Aparatura pro termický rozklad	25
Obrázek 6, Testy CHSK	27
Obrázek 7, Nekonečný sáček.....	29
Obrázek 8, Filtrát před přidáním kyseliny mravenčí	37
Obrázek 9, Filtrát po přidání kyseliny mravenčí	37
Tabulka 1, Chemické složení kávových zrn [19]	19
Tabulka 2, Výsledky CHSK	31
Tabulka 3, Popis vzorků v tabulce 2.....	32
Tabulka 4, Výsledky elementární analýzy.....	33
Graf 1, Porovnání vlivu způsobu míchání na rychlost filtrace	34
Graf 2, Porovnání rychlosti filtrace a promývání	35
Graf 3, Porovnání vlivu doby extrakce na filtrovatelnost.....	35
Graf 4, Závislost hodnoty CHSK na době extrakce.....	36
Rovnice 1, Demethylace synapylalkoholu.....	24
Rovnice 2, Sycení oxidem uhličitým.....	25
Rovnice 3, Termický rozklad.....	25
Rovnice 4, Karboxylace.....	26
Rovnice 5, Vykyselení.....	26

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

CHSK chemická spotřeba kyslíku

CNS centrální nervová soustava

CGA chlorogenová kyselina

ÚVOD

V dnešní konzumní době je velkým problémem nakládání s odpady. Odpady z domácností a průmyslu končí buď na skládkách odpadu, ve spalovnách a v minimálním množství jsou recyklovány, a to včetně odpadní biomasy. Biomasa je organickou součástí přírodních zdrojů a až 25 % z ní tvoří lignin. Doposud nebylo vynalezeno efektivní využití ligninu, a proto ve výrobcích, kde je odpadní látkou, je využívána pouze jako palivo. Při spalování odpadů vzniká oxid uhličitý, který přispívá ke globálnímu oteplování. Neopomenutelnou součástí biomasy jsou také polyfenolické látky, které se těší velkému zájmu díky jejich léčebným účinkům a vlivu na lidský organismus. Jedná se o sekundární metabolity rostlin a je známo až 8000 druhů. Tyto látky tvoří barvu, chuť a mnohdy i vůni složek biomasy, tedy např. rostlin a stromů. Polyfenoly mají antimikrobiální účinky, zamezují vzniku rakoviny, přidávají se jako pomocné látky do léčiv či mají stimulační účinky na organismus. Nalézt je můžeme ve většině druhů ovoce a zeleniny.

TEORETICKÁ ČÁST

1.1. Biomasa

Biomasa je živou složkou přírody. Jedná se o organické látky, které jsou součástí rostlin a živočichů, např. cukry a škroby, tuky, polyfenolické látky jako je lignin, dále vláknina, do které řadíme celulózu a pektiny. Je zásobárnou energie a hmoty, zároveň je nedílnou součástí koloběhu uhlíku. Nejvyšší podíl uhlíku v biomase zastávají rostliny. Jedná se až o 450 Gt C. Většina biomasy se nachází na souši, oceány i přes svůj 71 % podíl na rozloze světa, mají až 100násobně nižší podíl biomasy než suchozemské prostředí. [1]

1.1.1. Průmyslové využití biomasy

V převážné většině se biomasa používá jako zdroj energie, dalším využitím je potravinářství, stavebnictví, chemický průmysl, výroba papíru a celulózy, a neopomenutelnou součástí tvoří využití pro lékařské účely. [2]

1.1.1.1. Zdroj energie

V dnešní době jsou v největší míře jako zdroj energie využívána fosilní paliva, a to například v průmyslu, ve spalovacích motorech, pro vytápění domů a bytů, nebo při výrobě elektřiny. Při jejich spalování je produkováno velké množství oxidu uhličitého, který přispívá ke globálnímu oteplování. Oproti tomu při použití obnovitelných zdrojů energie v podobě biomasy sice oxid uhličitý vzniká, ale zelené rostliny ho během fotosyntetického procesu zpětně využívají k růstu a ukládají ho v přeměněné podobě do svých struktur.

Energii lze z biomasy získávat několika způsoby. Mezi nejobvyklejší patří spalování dřeva či zplyňování, což je oxidace v přítomnosti podstechiometrického množství kyslíku pyrolýza, tedy zahřívání bez přístupu vzduchu. Produktem pyrolýzy je tuhý uhlíkatý zbytek, syntézní plyn a bio-olej. [2] Dalším způsobem je anaerobní rozklad bakteriemi, ze kterého je získáván bioplyn, což je směs především methanu, a to z 50–75 % a oxidu uhličitého z 20–45 %. Dalšími složkami mohou být vodní pára, kyslík, sulfan či dusík aj., které tvoří už pouze minoritní složku bioplynu. [3] Tento plyn je velmi hořlavý a využívá se pro výrobu elektřiny a tepla. Jako zdroj energie je hojně využíván v čističkách odpadních vod, kde vzniká při zpracování odpadní složky kalu. Aerobní rozklad (kompostování) je též zdrojem nízkopotenciálového tepla, ale příliš se pro získávání tepla nevyužívá.

1.1.1.2. Výroba papíru

Papír je vyráběn dvěma základními způsoby. Dělíme je podle činidel použitých pro separaci celulózy, ligninu a ostatních složek dřeva. Jsou to sulfátový způsob, kde činidla pro

separaci jsou NaOH, Na₂S a Na₂CO₃. Druhý způsob je sulfitový, u kterého se používá Mg(HSO₃)₂. Dřevo je nejdříve zbaveno kůry, a poté namleto na tzv. štěpky. Tyto štěpky jsou umístěny do varného roztoku kde se rozpustí lignin a po filtraci a dalších úpravách zůstává pouze celulóza. Lignin je tedy odpadní složkou, kterou zatím neumíme komplexně surovinově využívat a v celulózkách bývá využíván jako palivo. [4]

1.1.2. Polyfenolické látky

Polyfenolické látky jsou podskupinou organických látek. Charakteristickým znakem je jedno nebo více benzenových jader a na něm navázané dvě a více – OH skupiny. Polyfenoly jsou látky obsažené v pletivech rostlin, které mají vliv na chuť, barvu a vůni dané rostliny. Jedná se o velmi unikátní skupinu látek, která se využívá díky jejím léčebným účinkům. Mimo jiné mají tyto látky antioxidační účinky, které mají též pozitivní vliv na zdraví člověka.

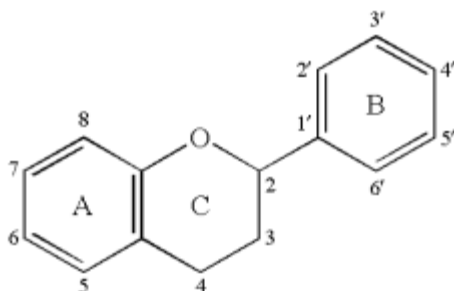
1.1.2.1. Rozdělení polyfenolických látek

Dělit tuto skupinu látek můžeme různými způsoby, a to například dle jejich chemické struktury, počtu benzenových jader a způsobu jejich napojení, či podle počtu uhlíků v řetězci. Nejvíce používaným dělením je do tříd podle počtu benzenových jader a způsobu jejich napojení.[5] Tyto skupiny jsou:

- Flavonoidy
- Lignany
- Fenolické kyseliny
- Stilbeny [5]

1.1.2.1.1. Flavonoidy

Flavonoidy jsou charakteristické flavonovým jádrem (obr.1), které může mít na sobě navázané různé substituenty. Základem flavanového jádra je difenylpropan, který je spojen kyslíkem do heterocyklu. Flavonoidy se dále dělí podle toho, do které polohy je fenyl navázán. Umístění do polohy 2 je charakteristické pro flavonoidy, poloha 3 isoflavonoidy a poloha 4 neoflavonoidy. Tyto jednotky jsou propojeny do větších celků převážně přes cukerné molekuly, možné je i spojení přes karboxylové kyseliny, lipidy a aminy. [5]



Obrázek 1, Flavonové jádro

Tyto látky dávají rostlinám jejich barvu a chrání je tak pře UV zářením. Jako sekundární metabolity, byly tyto látky rostlinami vyvinuty tak, aby ovlivňovaly fungování živých buněk. Proto se strukturou mnohdy podobají hormonům, ligandům, neurotransmiterům, či jiným látkám, nacházejícím se v těle lidí a zvířat. Z tohoto důvodu jsou flavonoidy schopné ovlivňovat pochody v buňkách a plynou z toho i jejich léčebné účinky.

Bylo zjištěno, že celkem do této skupiny můžeme zařadit až 8000 sloučenin. U všech těchto látek nelze přesně určit mechanismus účinku, ale co můžeme s jistotou říci je, že tyto látky fungují jako antioxidanty, mají antibakteriální a antivirotické účinky a mají vliv na různá onemocnění. Výrazným příkladem je diabetes. Bylo dokázáno, že příjem flavonoidy v potravě působí jako prevence vzniku diabetu a v případě, že pacient diabetem již trpí, zmírňuje komplikace, které u tohoto onemocnění mohou vznikat. [6]

1.1.2.1.2. Lignany

Lignany jsou nejvíce produkovány sekundárními metabolity v rostlinách. Mají ochrannou funkci a účastní se růstu rostlin. Jedná se o hydroxyderiváty odvozené od kyseliny skořicové. Příkladem těchto látek je pinosresinol, sesamin, matairesinol a v neposlední řadě lignin. Lignany mají mnoho pozitivních účinků na lidské zdraví, mezi něž patří antivirotické účinky, dále fungují jako antiastmatika, zabraňují vzniku tumorů a mnoho dalších. [7]

Struktura kyseliny skořicové (R₁₋₄ = H)

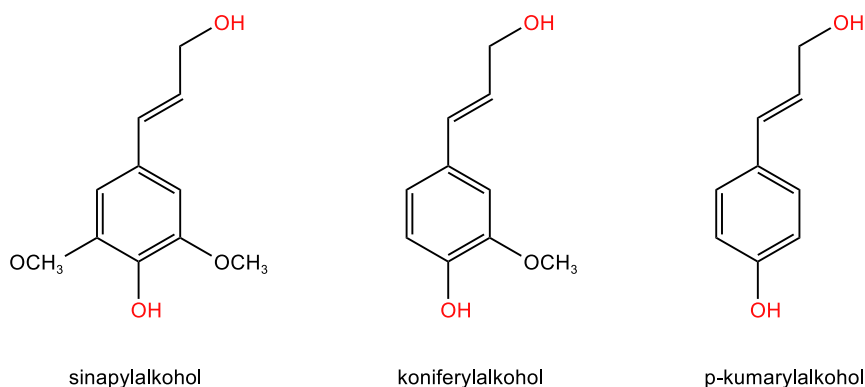
R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Název
H	OCH ₃	OH	H	ferulová kyselina
H	OH	OH	H	kávová kyselina
H	OH	OH	OH	hydroxykávová kyselina
H	OH	H	H	m-kumarová kyselina
H	H	OH	H	p-kumarová kyselina
H	OCH ₃	OH	OCH ₃	sinapová kyselina

Obrázek 2, Deriváty kyseliny skořicové [8]

1.1.2.1.2.1. Lignin

Lignin je organická látka ze skupiny heteropolymerů. Je součástí rostlin a dřevin, kde slouží jako adhezivní složka a pomáhá ke zpevnění a pružnosti materiálu. Dřevo, kromě celulózy 40-50 %, hemicelulózy a doprovodných látek v podobě vosků, tuků a pryskyřic, obsahuje 20-30 % této látky. Celkem lignin tvoří až 25 % veškeré biomasy. Ročně je na světě rostlinami produkováno až 20x10⁹ tun ligninu. Toto množství skrývá velký potenciál pro využití v biotechnologiích. [9]

Lignin dále řadíme do skupiny polyfenolů, respektive fenylypropanoidů. To znamená, že základní řetězec je tvořen aromatickým kruhem a jednou nebo více hydroxylovými skupinami – OH. Látka má různorodou strukturu, kterou nelze přesně definovat. Lze pouze identifikovat základní stavební jednotky, kterými jsou *p*-kumarylalkohol, koniferylalkohol a sinapylalkohol. Tyto jednotky jsou navzájem spojeny pomocí etherových můstků, anebo vazbou mezi dvěma uhlíky. Dále se vážou na polysacharidy, a proto nelze jednoznačně určit jejich základní strukturu. [10]



Obrázek 3. Základní stavební jednotky ligninu

1.1.2.1.3. Fenolické kyseliny

Fenolické kyseliny jsou svou strukturou velmi podobné kyselině skořicové. Dále mohou být odvozeny i od kyseliny benzoové. Jsou charakteristické aromatickým kruhem a obsahují vždy alespoň jednu karboxylovou a jednu hydroxylovou skupinu. Příkladem fenolických kyselin jsou kyselina kávová, kyselina kumarová, kyselina vanilová, kyselina salicylová aj. Tyto kyseliny lze nalézt nejen v rostlinách, ale jsou přítomny i v některých druhách hub. [11]

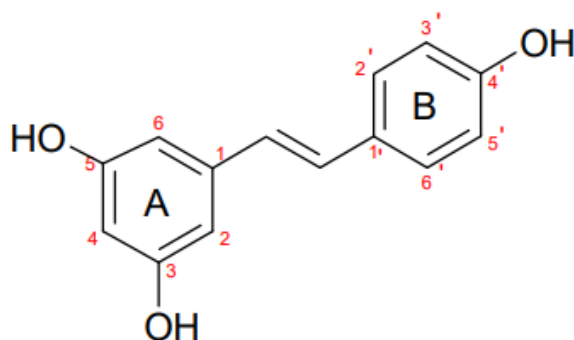
1.1.2.1.4. Stilbeny

Vědci se již desítky let snaží nalézt léčebné látky na lidské choroby. Ukázalo se, že je vhodné inspirovat strukturou léčivých látek produkovaných rostlinami. Skupinou s největším potenciálem jsou stilbeny.

Jedná se o látky, které mají v základní struktuře obsažené dva aromatické kruhy, které jsou spojeny přes vinylen, respektive jsou to jejich hydroxyderiváty. Nachází se v obou možných konfiguracích *cis*- a *trans*-. [12]

Od roku 1829, kdy byla tato skupina látek poprvé popsána, bylo již syntetizováno mnoho jejich derivátů. Bylo zjištěno, že mají antimikrobiální účinky, zamezují vzniku rakoviny a mnoho dalších. Můžeme je nalézt např. v hroznovém vínu, borůvkách, brusinkách či v reveni.

Nejvíce známou a zkoumanou látkou z této skupiny je resveratrol (*trans*-3,4,5-trihydroxystilben). Tato látka má antimikrobiální účinky a její deriváty dokonce i fungicidní. Antimikrobiální účinky sloučeniny získává díky hydroxylovým skupinám na aromatickém jádře. [13]



Obrázek 4, Chemická struktura resveratrolu jako příklad polyfenolu se stilbenovou strukturou [13]

1.1.3. Huminové látky

Humínové látky jsou organickou složkou půdy a jsou zásobárnou uhlíku na světě. Je to jeden z nejvíce opomíjených polymerů na světě, s velkým potenciálem proti globálnímu oteplování. Vznikají v půdě při rozkladu rostlin, a vyrůstající rostliny z nich čerpají živiny. Na světě je v půdě uloženo až $870 \cdot 10^9$ t uhlíku. Proto je půda neopomenutelnou součástí koloběhu uhlíku. [14]

Humínové látky nelze přesně specifikovat chemickým vzorcem, o jejich chemické struktuře dokonce panují značné rozkoly. Dle struktury je lze humusové kyseliny rozdělit do tří základních celků.

1. Humusové kyseliny
 - a. Huminové kyseliny
 - b. Fulvokyseliny
 - c. Hymatomelanové kyseliny
2. Huminy

1.2. Káva

Káva je nápoj konzumovaný lidmi již více jak 1000 let. V dnešní době je dokonce nejvíce konzumovaným nápojem a denně se vypije až 2,4 miliardy šálků. Jedná se o nápoj připravovaný z pražených plodů kávovníku. Největšími producenty jsou Brazílie, Vietnam a Columbie. Celkem tvoří až 55 % světové produkce kávy. [15]

1.2.1. Kávové boby

Kávové boby neboli též kávové třešně, produkované rostlinou zvanou kávovník, je druh ovoce. Na světě se pěstují dvě odrůdy. První odrůdou je kávovník arabský (lat. *coffea arabica*) a druhou odrůdou je kávovník statný (lat. *coffea canephora*). Podle použité odrůdy se obchodně káva nazývá buď arabica či robusta. Robusta tvoří asi 40 % celkové produkce, zbylých 60 % tvoří arabica.

Kávovník je rostlina, která má raději teplejší podnebí, a proto svědčí jí vlhké tropické oblasti. Robusta je na pěstování méně náročná než arabica, jelikož snese i vyšší teploty. Navíc rychle roste, a proto má vyšší výnosy. Dalším rozdílem je místo, kde lze plodinu pěstovat. Robustu lze pěstovat v nadmořských výškách 250-1500 m.n.m. Arabica ke svému růstu potřebuje větší rozdíly teplot ve dne a v noci, a proto se pěstuje v nadmořských výškách 1100-1500 m.n.m. [16, 17]

1.2.1.1. Technologie zpracování

Kávové boby lze v oblasti rovníku sklízet během celého roku. V severní polokouli sběr probíhá na podzim a na jižní polokouli jsou pro sběr vhodné jarní měsíce. Sklizeň se provádí buď mechanicky pomocí česacích strojů či ručně. Pro sklizeň jsou vhodné pouze zralé plody, které mají rudou barvu. Během zrání se barva plodů mění ze zelené, přes žlutou až k rudé. Plody musí být v perfektním stavu, aby nebyla ovlivněna chuť a kvalita kávy.

Po sklizni se plody očistí a dále se zpracovávají dvěma způsoby. Prvním je suchá cesta, kdy jsou plody sušeny na slunci po dobu 4 týdnů či v sušárnách, během nichž jejich vlhkost klesne na 12 %. Druhá cesta je mokrá a její technologie je výrazně složitější. Nejdříve je odstraněna slupka s dužinou a zbytky dužiny se odstraňují fermentací. Ta probíhá 12-36 hodin. Po této době jsou již zrna připravena na sušení. To probíhá do dosažení 12 % vlhkosti. Mokrou cestou je dosaženo mnohem vyšší kvality výsledného produktu. [18]

Pražením kávy jsou z kávových zrn uvolňována aroma typická pro kávu. Pražení dělíme do několika stupňů. Tyto stupně se liší použitou teplotou, která se pohybuje v rozmezí nejčastěji 200-230 °C. Stupeň pražení ovlivňuje chuť kávy. Celý proces pražení je rozdělen do teplotních fází. [19]

Káva v je v obchodních řetězcích k dostání ve formě celých či mletých pražených zrn, nebo jako instantní káva. Instantní káva sušený extrakt z mletých pražených kávových zrn.

1.2.1.2. Chemické složení kávových zrn

Kávová zrna se skládají především z polysacharidů, lipidů, kofein aj. Složení se liší podle druhu kávy a zda je káva pražená či nikoliv. [20]

Složka	Arabika		Robusta	
	zelená kávová zrna	pražená kávová zrna	zelená kávová zrna	pražená kávová zrna
Polysacharidy	50,0 – 55,0	24,0 – 39,0	37,0 – 47,0	–
Oligosacharidy	6,0 – 8,0	0 – 3,5	5,0 – 7,0	0 – 3,5
Lipidy	12,0 – 18,0	14,5 – 20,0	9,0 – 13,0	11,0 – 16,0
volné aminokyseliny	2,0	0	2,0	0
Bílkoviny	11,0 – 13,0	13,0 – 15,0	11,0 – 13,0	13,0 – 15,0
CGA	5,5 – 8,0	1,2 – 2,3	7,0 – 10,0	3,9 – 4,6
Kofein	0,9 – 1,2	0 – 1,0	1,6 – 2,4	0 – 2,0
Trigonelin	1,0 – 1,2	0,5 – 1,0	0,6 – 0,8	0,3 – 0,6
mastné kyseliny	1,5 – 2,0	1,0 – 1,5	1,5 – 2,0	1,0 – 1,5
minerální látky	3,0 – 4,2	3,5 – 4,5	4,0 – 4,5	4,6 – 5,6
Melanoidiny	–	16,0 – 17,0	–	16,0 – 17,0

Hodnoty jsou uvedeny v % suché hmotnosti.

Tabulka 1, Chemické složení kávových zrn [19]

Během přípravy kávy jsou však některé tyto látky vyplavovány (extrahovány) a podílejí se tak na celkovém složení nápoje. Těmito látkami jsou kofein, polyfenolické látky (ty ovlivňují chuť a vůni) a organické kyseliny.

1.3. Technologie separace polyfenolů z odpadní biomasy

Polyfenolické látky jsou sekundární metabolity rostlin a podle jejich zastoupení je dělíme do dvou složek. Na majoritní, nazývanou lignocelulózová, mezi které řadíme lignin, celulózu, hemicelulózu aj., a minoritní složky, kterými jsou polyfenolické látky jmenovitě např. flavonoidy a stilbeny. Lignin, celulózu a hemicelulózu můžeme nalézt v listech, slupkách plodů či cévních tkáních rostlin. Studie ukazují, že nejvýhodnější cestou pro separaci minoritních složek biomasy, je nejvhodnější volit cestu organického rozpouštědla, a to převážně alkoholu. Materiál je pomlet a poté je nechán po určitou dobu, volenou podle materiálu, ponechán macerovat. Tímto procesem jsou složky převedeny do rozpouštědla. Tento postup je využíván pro polyfenolické látky s léčivými účinky. [21]

Z environmentálního a ekonomického hlediska je pro Českou republiku výhodné využívat odpadní biomasu dostupnou na jejím území. Pro separaci majoritních lignocelulózových složek jsou výbornými zdroji odpady z výroby papíru, kávová sedlina získaná při výrobě instantní kávy či z kaváren a možným zdrojem jsou i odpady ze zpracování obilí. Oproti tomu minoritní složky polyfenolických látek lze získávat z odpadních slupek a semen hroznů z výroby vín, dále můžeme využít čajová rezidua a pro lékařské účely je velmi výhodné využít byliny jako je heřmánek aj.

1.3.1. Separace polyfenolů z kávové sedliny

Ročně je na světě spotřebováno až 8 milionů tun kávových bobů a tím pádem i ekvivalentní množství odpadní sedliny. Z tohoto důvodu je logické se na tuto složku zaměřit a zkoumat její hlubší využití.

Kávová sedlina je produkt, který obsahuje celou škálu polyfenolických látek. Ve většině prací je pozornost zaměřena na separaci polyfenolických látek pomocí organických rozpouštědel jako je například ethanol, methanol či aceton. Proměnnými faktory procesů u většiny prací jsou převážně doba macerace, teplota a pH. Ve vzorcích je poté kvantifikován celkový obsah polyfenolů a jejich oxidační vlastnosti.

Při extrakci polyfenolických látek do 60 % ethanolu bylo zjištěno, že obsah polyfenolických látek je 24,25 mg/g vysušené kávové sedliny. Pro porovnání slupky od brambor, olivové a jablečné výlisky mají tento obsah okolo 10 mg/g. Výlisky z bílých a červených hroznů mají oproti tomu mnohem vyšší obsah polyfenolických látek, který se pohybuje okolo 50 mg/g. Převážná většina studií se zabývá použitím ethanolu jako rozpouštědla a jeho kombinacemi s anorganickými solemi. [22]

Další variantou separace ligninu a polyfenolických látek je použití eutektické, iontové kapaliny. Tyto kapaliny byly speciálně připraveny tak, aby byly schopny rozpouštět jednu ze složek lignocelulózy, či obě naráz. Iontové kapaliny jsou biodegradovatelné a nízkonákladové, proto se výborně hodí pro využití na odpadní biomasu.

Byl zdokumentován obsah ligninu pro různé složky biomasy. Pro kávové plevy (slupky) je to 21 %, kukuřičné stonky obsahují 17 % ligninu. Bylo porovnáváno použití iontové kapaliny směsí cholin chloridu a vždy některé z kyselin mléčné, octové a kyseliny mravenčí. Ukázalo se, že největší výtěžky vykazuje použití iontové kapaliny směs cholin chloridu a kyseliny octové. Z kávových plev bylo získáno 14,8 % celkového obsahu ligninu a z kukuřičných stonků 20,6 %. [23]

Opačným pólem, oproti výše zmíněným variantám, je využití anorganických činidel pro separaci. Tento proces je využíván v papírenském průmyslu, kde se využívá pro odseparování celulózy a ligninu. Separace je prováděna za použití hydroxidu sodného a sulfidu sodného či síranu sodného. Lignin se rozpustí a vznikne tak tmavý roztok ligninu. Celulóza zůstává v pevné formě. Takto získaný lignin po úpravách dosahuje vysoké čistoty až 95 %. [24]

1.3.2. Separace polyfenolických látek ze semen a výlisků hroznů

Jelikož je na území České republiky hojně rozšířené pěstování hroznů a výroba vína, je na místě zkoumat efektivní využití odpadní biomasy z výroby. Na 1 l vína totiž připadá 1,3 - 1,5 kg odpadů. Při separaci byly použity semena hroznů z výlisků. Z této odpadní biomasy lze separovat kromě polyfenolických látek ještě také lipidy (oleje). V hroznech je nejvíce obsažen polyfenol rutin, který má antioxidační účinky a je prevencí proti kardiovaskulárním onemocněním. Další hojně zastoupenou látkou je kyselina sinapová a kumarová. Obě tyto látky působí proti vzniku rakoviny.

Separace těchto látek opět probíhá s využitím organických rozpouštědel. Během procesu se používá 60 % ethanol, methanol, aceton a kyselina mravenčí. [25]

1.3.3. Separace polyfenolických látek z odpadní biomasy obilí

Jak už bylo zmíněno v kapitole 1.3.1. polyfenolické látky lze z odpadních složek obilí separovat za použití iontové kapaliny. Další variantou je použití organických rozpouštědel ethanolu, methanolu a acetonu. Podmínky, a koncentrace roztoků těchto látek jsou variovány podle druhu materiálu, ze kterého jsou polyfenolické látky extrahovány. Vzorek odpadní biomasy nejdříve projde přípravou, kdy je vysušen a pomlet, aby byl zajištěn co nejlepší kontakt roztoku rozpouštědla a materiálu. Pro využití v České republice se hodí postup separace z otrub. Nejeфективnějším postupem se v tomto případě ukázalo použití 40-80 % ethanolu při teplotách v rozmezí 30-70 °C, čímž bylo získáno až 30 000 mg/ 100 g. [26]

1.3.4. Separace polyfenolických látek z bylin

Léčivé účinky bylin jsou známy již od pradávna a jejich léčivé účinky byly využívány pomocí odvarů a tinktur. Dnes se k tomuto použití přidala ještě kosmetika a esenciální oleje. Hojně využívanou bylinou je například heřmánek, lat. *Chamaemelum nobile*. Mezi jeho léčivé účinky patří antibakteriální a antioxidační účinky. Pro separaci se opět využívá organických rozpouštědel. [27]

1.3.5. Separační procesy

Separační procesy se věnují dělení směsi látek různého skupenství. Na rozdělení látek využívají znalosti fyzikálních zákonů. Nejčastěji jsou to gravitace, rozdíl tlaků a odstředivá síla. Použitá technologie se také dělí podle skupenství látek ve směsi. Suspenze se dělí pomocí filtrace či sedimentace, emulze například usazováním. Další separační procesy se již používají spíše v průmyslové praxi.

1.3.5.1. Filtrace

Pojmem filtrace se rozumí separační proces suspenzí a koloidních látek. Na rozdělení složek je využívána filtrační přepážka, která může být vyrobena z různých materiálů. Použité materiály a aparatury se liší podle objemu výroby. Prvním účelem jsou filtrace v laboratorním prostředí, jedná se o malé objemy a aparatura proto není složitá. Druhou odnoží jsou průmyslové výroby, kde se již jedná o mnohonásobně větší objem suspenzí. Aparáty jsou mnohonásobně větší a použité filtrační přepážky musí být použitelné opakovaně.

1.3.5.1.1. Laboratoř

Pro laboratorní účely se využívají jednodušší materiály, především filtrační papír, který se vyrábí z celulózy. Další velmi užívanou metodou je filtrace přes frity.

Filtrační papír je pórovitý materiál, velikost póru je variabilní a liší se dle potřeb a účelu užití. Velikostí pórů je ovlivněna rychlost filtrace a dokonalost odseparování pevného podílu od kapalného. Dle velikosti pórů se tedy filtrační papíry dělí na skupiny 0-5, kdy název je uvozen označením KA a poté následuje číslo. Se zvyšující se skupinou se rychlost filtrace snižuje. [28] Problematikou filtračních papírů je možnost jejich použití. Celulóza není příliš odolný materiál, a tak lze filtrační papír použít jen v omezeném rozsahu pH, anebo za extrémních podmínek jen po krátkou dobu. V ideálním případě by filtrovaná směs měla obsahovat velké shluky částic, aby nedocházelo k zanášení pórů a filtrace probíhala rychle. V chemické technologii se využívá flokulantů, jež shlukují částice do větších celků. Příkladem této praxe je čištění odpadních a průmyslových vod. Jako flokulační činidlo je zde používán např. chlorid hlinitý. Další příklady lze nalézt v analytické chemii u srážecích reakcí, kde je shlukování částic způsobeno přebytkem srážedla.

Filtrace lze provádět za atmosférického tlaku, k tomu se využívá běžně dostupné laboratorní sklo, kterým je nálevka, a to buď hladká anebo s vnitřním žebrováním. Podle toho je volen způsob skládání filtračního papíru.

Druhou možností jsou filtrace za sníženého tlaku. Ty lze provádět jak za použití filtračního papíru, tak při použití skleněných frit. Zde je již laboratorní vybavení o trochu složitější, na vytvoření podtlaku se využívají vodní nebo olejové vývěvy, či kompresor.

Frity jsou skleněné nálevky nebo nádoby opatřené filtrační přepážkou z pórovitého skla. Frity slouží k filtraci agresivních směsí, u kterých nelze použít filtrační papír.

1.3.5.2. Průmyslová praxe

Průmyslová praxe se značně liší od té laboratorní. Je to nejen rozdílem objemu výroby, ale především jsou to zcela rozdílné nároky, kladené na použitou technologii. Při výběru technologie separace je nutné zhodnotit několik faktorů. Z ekonomického hlediska je to samozřejmě nákupní cena, náklady na údržbu, nebo životnost. Z toho technologického je tento úkol mnohem složitější. Faktory, které technolog musí vzít při výběru v potaz, jsou skupenství látek ve směsi, velikost částic, objem výroby atd. Častým řešením průmyslové filtrace je filtrace pod tlakem nebo pomocí odstředivek. Čas separace se tak výrazně sníží a způsob je proto výhodný i pro velkoobjemové výroby.

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1. Cíl práce

Účelem experimentální části je separace polyfenolických látek, především ligninu, z odpadních složek biomasy, konkrétně kávové sedliny a jeho následným využitím. Využití spočívá ve snaze zakotvit molekuly CO₂ do základních struktur ligninu a připravit tak humínové kyseliny, využitelné v oblasti hnojiv v zemědělství. Experimentální část se dále zabývá optimalizací celé přípravy z pohledu chemického inženýrství, tzn. zkrácení doby přípravy a zdokonalení efektivity celého procesu.

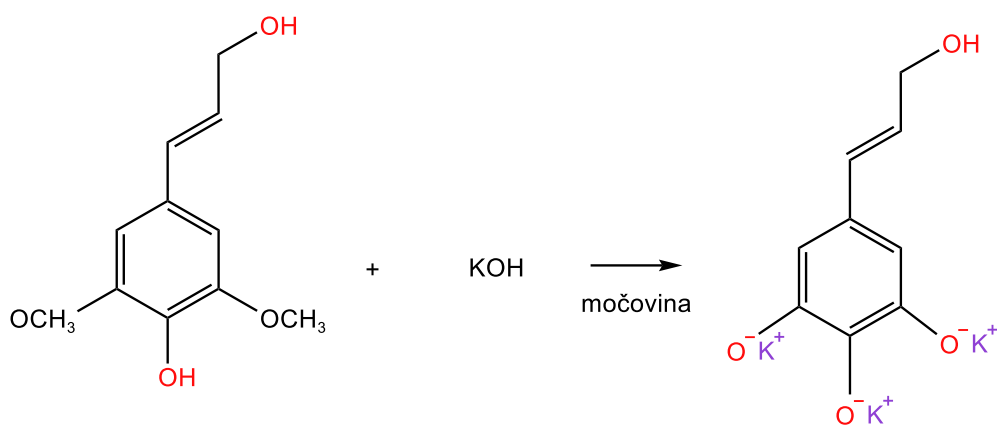
Separace ligninu je vedena anorganickou cestou, a to alkalickým loužením vodným roztokem KOH. Pro zefektivnění separace byla použita močovina (karbonyldiamid).

2.2. Dílčí procesy přípravy

2.2.1. Separace ligninu

Jak už bylo řečeno, separace ligninu z kávové sedliny byla prováděna roztokem KOH a bylo provedeno více variant tohoto procesu. Proměnné procesu byly složení násady, způsob míchání, doba extrakce a způsob filtrace.

Byly provedeny dvě variace složení násady. První variací byla směs v poměru 2 g KOH: 40 ml destilované vody: 10 g kávové sedliny v násobkách 1 a 10. Druhou variací byla směs 19,6 g KOH: 400 ml destilované vody: 100 g kávové sedliny: 24 g močoviny. Močovina byla do směsi přidána z důvodu zlepšení extrahovatelnosti ligninu a dále napomáhá demethylaci struktury, a tím zvyšuje její reaktivitu.

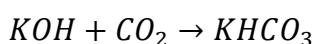


Rovnice 1, Demethylace synapylalkoholu

Pro míchání bylo použito elektromagnetické míchadlo a mechanické promíchání skleněnou tyčinkou. Doba extrakce byla zkoumána v rozmezí 22,5 h–10 dní. Filtrace násady byla prováděna přes skládaný filtrační papír a přes síťovinu („nekonečný sáček“ Kaufland).

2.2.2. Sycení filtrátu CO₂

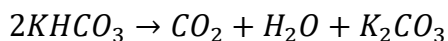
Aby bylo možné provést karboxylaci základních struktur ligninu, bylo nutné do směsi zavést oxid uhličitý. Zavádění probíhalo probubláváním filtrátu oxidem uhličitým z tlakové láhve po dobu dvou hodin. Pro orientaci v průběhu procesu bylo sledováno měnící se pH v rozmezí cca od 13 do 5,5. pH vlivem sycení oxidem uhličitým se snižovalo. Ve filtrátu probíhala tato reakce:



Rovnice 2, Sycení oxidem uhličitým

2.2.3. Termický rozklad KHCO₃ a karboxylace

Byla sestavena aparatura se zpětným chladičem viz obr. 7 pro var a při něm probíhající termický rozklad KHCO₃ ve směsi dle rovnice:

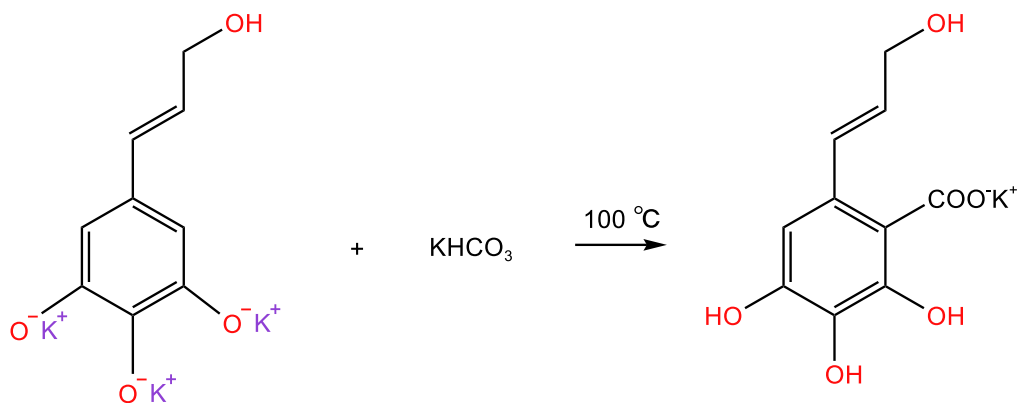


Rovnice 3, Termický rozklad



Obrázek 5, Aparatura pro termický rozklad

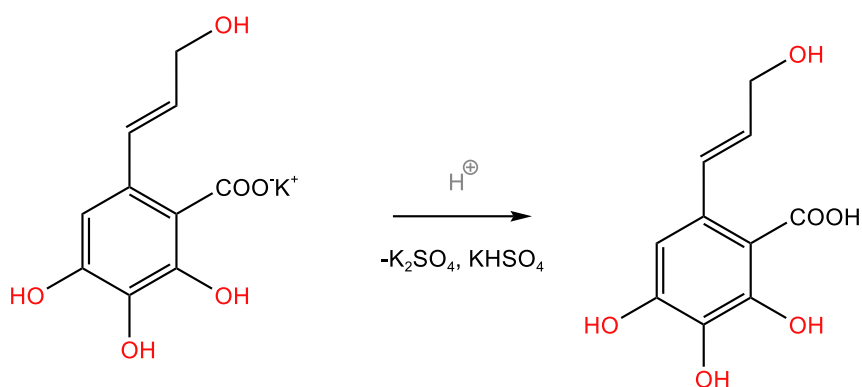
Uvolněné CO₂ při tepelném rozkladu bylo navázáno do základní struktury ligninových jednotek a došlo tak ke karboxylaci. Reakce je nazývána Kolbe-Schmittova.



Rovnice 4, Karboxylace

2.2.4. Vykyselení

Jelikož při předchozí reakci vznikla sůl karboxylové kyseliny, bylo v této fázi nutné tuto sloučeninu převést na karboxylovou kyselinu. To bylo provedeno tzv. vykyselením směsi, kdy byla přidávána 16 % kyselina sírová do dosažení neutrálního pH. Vedlejším produktem reakce byly především K₂SO₄ a KHSO₄. Došlo k vysrážení produktu ve směsi.



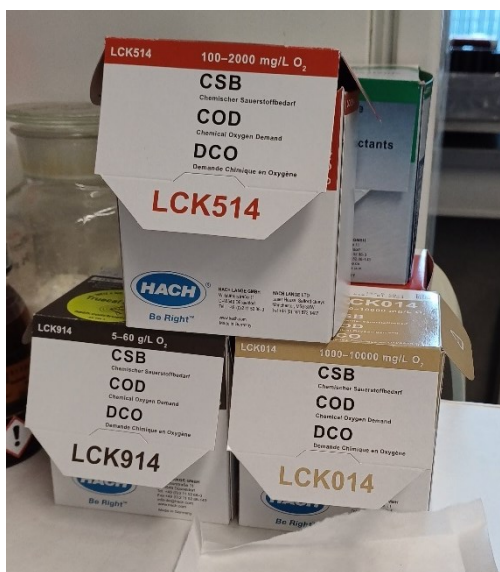
Rovnice 5, Vykyselení

2.2.5. Separace produktu

Na separaci produktu, převážně humínových kyselin, byla použita filtrace přes Büchnerovu nálevku, tedy při sníženém tlaku. Použitým filtračním papírem byl KA 4 (medium fast). Poté byl produkt promýván, a to dvěma způsoby. Prvním způsob byl pouze destilovanou vodou, čímž ale docházelo k velkým ztrátám produktu z důvodu velké rozpustnosti produktu v samotné vodě. Proto byl zvolen druhý způsob, při kterém byla do promývací vody přidána kyselina mravenčí, a to v poměru 100 ml destilované vody a 2 ml kyseliny mravenčí, čímž bylo z velké části zamezeno rozpouštění produktu. Produkt byl ponechán na vysušení na vzduchu.

2.2.6. Chemická spotřeba kyslíku CHSK

Během celého procesu byly odebírány vzorky pro zkoušku CHSK, za účelem přibližného zhodnocení celého průběhu reakcí. Byly použity testy od výrobce HACH LANGE s.r.o. LCK014 s rozsahem 1000-10000 mg/l O₂, LCK514 s rozsahem 100-2000 mg/l O₂ a LCK914 s rozsahem 5-60 g/l O₂.



Obrázek 6, Testy CHSK

2.3. Provedené experimenty

2.3.1. Násada KOH + kávová sedlina

Byly připraveny dvě násady tohoto složení.

- a) 2 g KOH + 40 ml vody + 10 g lógru – násada AA
- b) 10x a) – 20 g KOH + 400 ml vody + 100 g lógru – násada AB

Násada AA byla ponechána 30 minut reagovat a průběžně byla tyčinkou promíchána. Násada AB byla ponechána 30 minut reagovat ale po celou dobu byla míchána na elektromagnetickém míchadle.

Po míchání byly obě směsi přefiltrovány přes skládaný filtrační papír. Směs AB byla na filtraci rozdělena na dvě části, na 40 ml a 360 ml. Zároveň byl filtrační koláč promyt DEMI vodou. Byla zaznamenávána rychlost jednotlivých filtrací. Z dat filtrace 40 ml AA a AB byl sestaven graf pro porovnání vlivu míchání na reakci.

Objem veškerých filtrátů KOH + lógr celkem činil 255 ml, z čehož bylo 10 ml odebráno na analýzu CHSK.

Pro analýzu byl připraven 10x zředěný roztok do 25 ml odměrné baňky. Byl použit test o rozsahu 5-60 g/l. Test určil hodnotu spotřeby kyslíku na 8,24 g/l, tudíž skutečná spotřeba vzorku byla 82,4 g/l.

Dalším krokem bylo sycení filtrátu CO₂, které probíhalo po dobu 6 h a 40 minut.

Po sycení byl proveden termický, který probíhal ve dvou částech (125 ml a 120 ml) rozklad při teplotě v rozmezí 100-120 °C po dobu 2 h.

Kvůli velmi zásaditému pH ve směsi byla nezbytná neutralizace směsi 16 % kyselinou sírovou. Na neutralizaci bylo spotřebováno 25 ml. Došlo k vysrážení směsi.

Byla provedena filtrace přes Büchnerovu nálevku, použitý filtr: KA 4 (medium fast). Tato filtrace probíhala velmi pomalu.

CHSK filtrátu – výsledek 30,5 g/l – to značí velké rozpouštění filtračního koláče v promývací vodě.

Po vysušení filtračního koláče byl patrný velký obsah solí, proto bylo nutné filtrační koláč promýt vodou, což bylo provedeno 200 ml.

Směs byla opět filtrována přes Büchnerovu nálevku.

CHSK filtrátu – 14,6 g/l

Po vysušení filtračního koláče byl produkt zvážen, jeho hmotnost činila 4 g.

2.3.2. Násada KOH + močovina + kávová sedlina

Násada tohoto složení byla připravena třikrát, avšak u násad se lišila doba extrakce.

Násada BA

24 g močoviny + 19,6 g KOH + 400 ml DEMI vody + 100 g kávový lógr

Směs byla promíchána a nechána v uzavřené lahvi po dobu 10 dnů reagovat.

Po této době byla provedena filtrace přes skládaný filtr a byla zaznamenána rychlost filtrace. Zásobní lahev a filtrační koláč byl promyt 100 ml DEMI vody. Filtrací bylo získáno 86 ml, promýváním dalších 43,3 ml.

Byl proveden test CHSK s výsledkem 170 g/l

Násada BB

Dle vzoru BA byla připravena směs a byla ponechána 22,5 h extrahovat.

Po této době byla směs přefiltrována přes síťku („nekonečný sáček“ Kaufland).



Obrázek 7, Nekonečný sáček

Filtrace byla velmi rychlá a snadná. Volnou filtrací bylo po 20 minutách získáno 135 ml filtrátu. Po této době byla směs „vymačkána“ a takto byl celkový objem směsi zvýšen až na 200 ml. Filtrační koláč byl promyt vodou (cca 150 ml) a tak byl získán objem ještě 125 ml. Celkový objem po filtraci tedy činil 325 ml. Záměrem bylo získat obdobný objem s objemem vkládaným do násady, a proto byla směs promyta ještě 100 ml vody. Takto bylo získáno dalších 75 ml filtrátu. Celkový objem tedy činí 400 ml.

Byl proveden test CHSK s výsledkem 132 g/l. Po zředění spotřeba kyslíku klesla na 109 g/l.

Bylo provedeno sycení filtrátu CO₂ (vstupní objem 370 ml) a to po dobu 2 h, během kterých bylo sledováno pH. pH na počátku sycení bylo 12,2 a po dvou hodinách kleslo na 7,6.

Směs po sycení byla rozdělena na dvě části, u kterých byl proveden termický rozklad, a to po dobu 1,5 h.

Před a po rozkladu byly odebrány vzorky pro analýzu.

Směs byla neutralizována 16 % kyselinou sírovou, jejíž spotřeba činila 43 ml.

Vzniklá sraženina byla filtrována přes Büchnerovu nálevku. Filtrát byl analyzován na CHSK s výsledkem 29,7 g/l.

Po filtraci byl filtrační koláč přemístěn do kádinky, kde byl promíchán s roztokem 200 ml DEMI vody a 2 ml kyseliny mravenčí (kvůli srážení, resp. Potlačení rozpouštění). Směs byla nechána míchat na elektromagnetickém míchadle po dobu 2 h. Poté byla filtrována přes Büchnerovu nálevku.

Po filtraci a vysušení filtračního koláče byl produkt zvážen. Jeho hmotnost byla 9,4 g. Tento vzorek byl umístěn na elementární analýzu výsledky viz Tabulka 1; elementární analýza, vzorek 4.

Násada BC

Byla připravena 2x násada podle BB. Ta byla 3 dny míchána na elektromagnetickém míchadle. Míchání bez problémů.

Po uplynutí této doby byla násada zfiltrována přes sítku. Bylo získáno 575 ml. Bylo provedeno promývání filtračního koláče 400 ml DEMI vody. Celkový získaný objem byl 900 ml.

U filtrátu byl proveden test CHSK s výsledkem 132 g/l.

Polovina získaného filtrátu, tedy 450 ml bylo syceno CO₂ po dobu 2 hodin, pH dosáhlo hodnoty 5,1 a to už po 1 hodině, poté beze změny.

2.3.3. Výsledky CHSK – souhrn

Tabulka 2, Výsledky CHSK

Číslo	Násada	Výsledek CHSK [g/l]	V filtrátu [ml]	Přepočet CHSK na výchozí objem [g/l]
1	AB	14,6		
2	AB	30,5		
3	AB	82,4		
4	BA	170		
5	BB	12,5		
6	BB	16,2		
7	BB	29,7	300	
8	BB	109	400	
9	BB	132	325	
10	BC	131	900	147,35

Tabulka 3, Popis vzorků v tabulce 2

Číslo	Popis
1	filtrát po promývání filtračního koláče na Büchnerově nálevce z násady s KOH + lógr
2	filtrát po filtraci přes Büchnerovu nálevku sraženiny z násady s KOH + lógr po termickém rozkladu a neutralizaci
3	filtrát násady s KOH + lógr
4	filtrát násady s KOH + lógr + močovina (extrakce 10 dní)
5	filtrát po promývání filtračního koláče na Büchnerově nálevce z násady s KOH + lógr + močovina (extrakce 22,5 h)
6	zbytek po filtraci násady KOH + lógr + močovina, po maceraci 30 minut v DEMI vodě
7	filtrát po filtraci přes Büchnerovu nálevku sraženiny z násady s KOH + lógr + močovina po termickém rozkladu a neutralizaci (extrakce 22,5 h)
8	filtrát násady s KOH + lógr + močovina (extrakce 22,5 hodiny) + filtrát po promývání 100 ml DEMI vody
9	filtrát násady s KOH + lógr + močovina (extrakce 22,5 hodiny)
10	filtrát násady s KOH + lógr + močovina (extrakce 3 dny)

2.3.4. Elementární analýza

Příprava pevných vzorků na analýzu spočívala v umístění vlhkého substrátu do sušárny, vyhřáté na 100. Takto připravené vzorky byly vloženy do nádobek a odevzdány na analýzu.

Na elementární analýzu byly připraveny 4 vzorky.

1. Lógr bez jakékoliv úpravy (vstupní látka)
2. Pevný podíl (lógr) po extrakci a filtraci z násady KOH + lógr + močovina (extrakce 22,5 h) – násada BB
3. Extrakt z násady KOH + lógr (odfiltrovaný kapalný podíl) po sycení CO₂, termickém rozkladu, vykyselení, filtraci a promývání (odsolení) vysráženého pevného podílu – směs polyfenolických látek – násada AB
4. Extrakt z násady KOH + močovina + lógr (odfiltrovaný kapalný podíl) po sycení CO₂, termickém rozkladu, vykyselení, filtraci a promývání (odsolení) roztokem voda + kyselina mravenčí vysráženého pevného podílu – směs polyfenolických látek – násada BB

Tabulka 4, Výsledky elementární analýzy

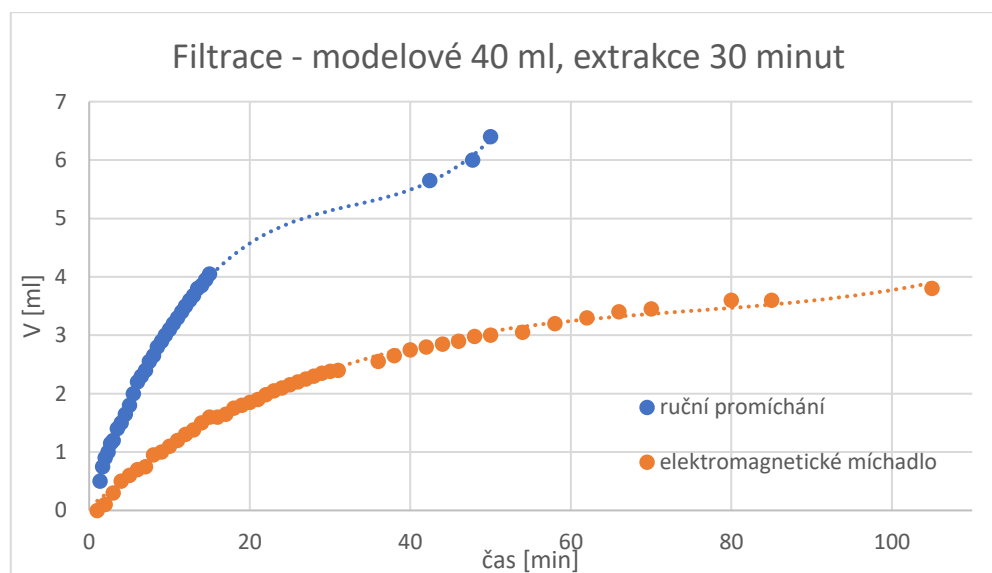
Vzorek č.	Prvek		
	C [%]	H [%]	N [%]
1. Vstupní lógr sušený	52,48 ± 0,27	7,36 ± 0,01	2,14 ± 0,02
2. Nerozpustný podíl po extrakci lógru s KOH + močovina – násada BB	42,18 ± 0,1	6,43 ± 0,03	5,34 ± 0,11
3. Produkt karboxylace rozpustného podílu z lógru s KOH – násada AB	52,64 ± 0,22	6,43 ± 0,17	5,66 ± 0,06
4. Produkt karboxylace rozpustného podílu z lógru s KOH a močovinou – násada BB	53,99 ± 0,02	7,88 ± 0,14	5,00 ± 0,05

3. Závěr

Cílem práce bylo optimalizovat proces separace ligninu a jiných alkalickým vodným roztokem extrahovatelných polyfenolických sloučenin z kávové sedliny, a dále zmapovat a popsat dílčí kroky možné přípravy huminových kyselin.

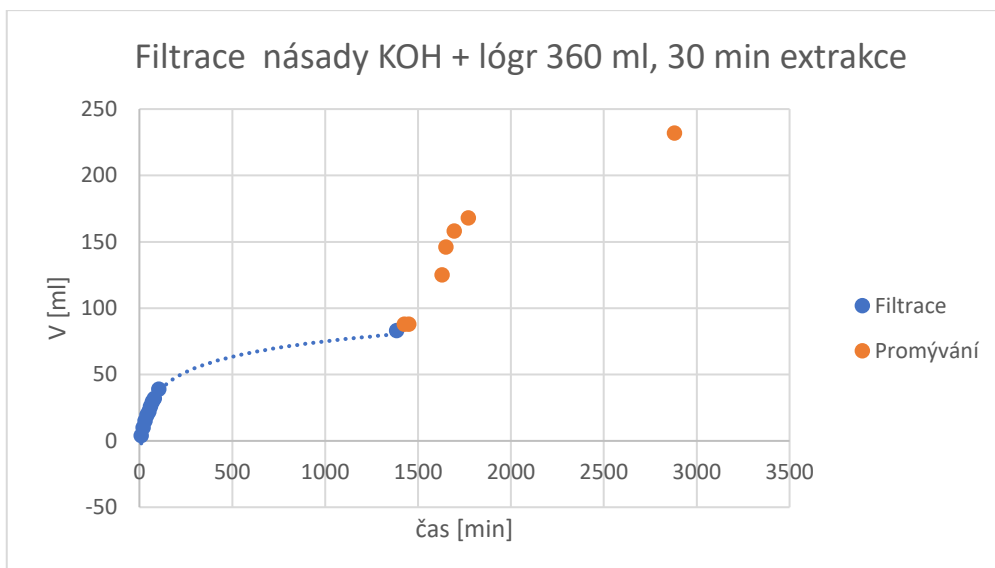
V první části jsem se zabývala separací ligninu a zkoumanými faktory ovlivňujícími výsledek byly způsob míchání, doba extrakce, složení násady a způsob filtrace.

Míchání směsi bylo buď mechanické ruční, anebo elektromagnetickým míchadlem. Bylo zjištěno, že způsob míchání má velmi značný vliv na extrakci. Volba způsobu míchání ovlivnila dobu filtrace a výsledný objem filtrátu. Tento jev byl pravděpodobně zapříčiněn lepším kontaktem jednotlivých složek směsi, a tudíž lepší homogenizací. To způsobilo vyšší narušení povrchu částic, které poté více ucpávaly póry filtračního papíru a filtrace se tak značně zpomalila.



Graf 1, Porovnání vlivu způsobu míchání na rychlost filtrace

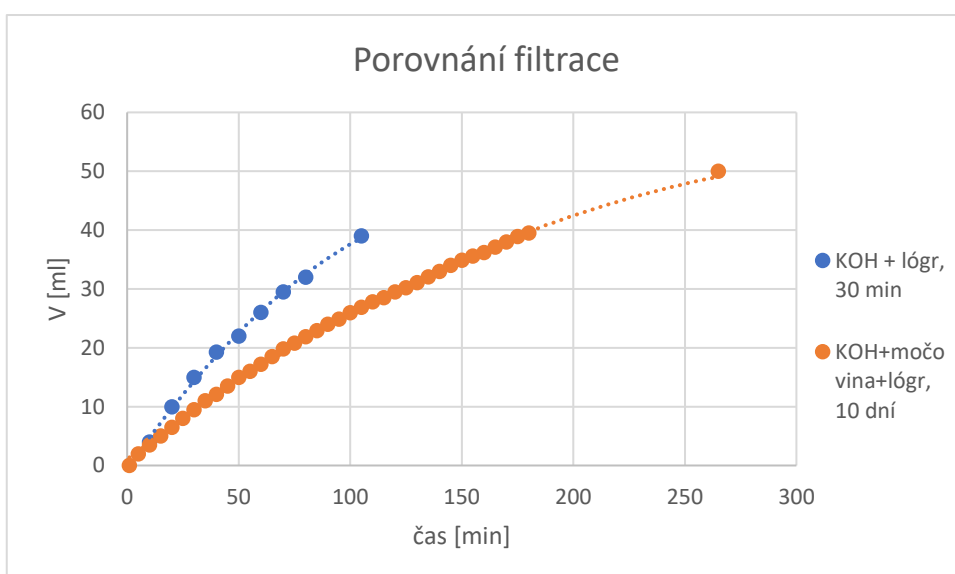
Získané objemy filtrátu byly pouze zlomkem kapalného podílu směsi, proto bylo nutné do procesu dále zařadit promývání filtračního koláče. Dalším důvodem promývání bylo odstranění zbytků KOH z filtračního koláče, aby tato odpadní složka byla biodegradovatelná a nebyla škodlivá pro životní prostředí. Průběh promývání byl zaznamenáván a pro sledování trendu byl vytvořen graf porovnání rychlosti filtrace a rychlosti promývání.



Graf 2, Porovnání rychlosti filtrace a promývání

Vkládaným objemem směsi na filtraci bylo 360 ml, ze kterých bylo získáno pouhých 83 ml filtrátu. Filtrační koláč byl promyt třikrát 50 ml destilované vody. Takto byl objem filtrátu navýšen na 232 ml. Z grafu vyplývá, že promývání koláče probíhalo mnohem snáze a rychleji než filtrace.

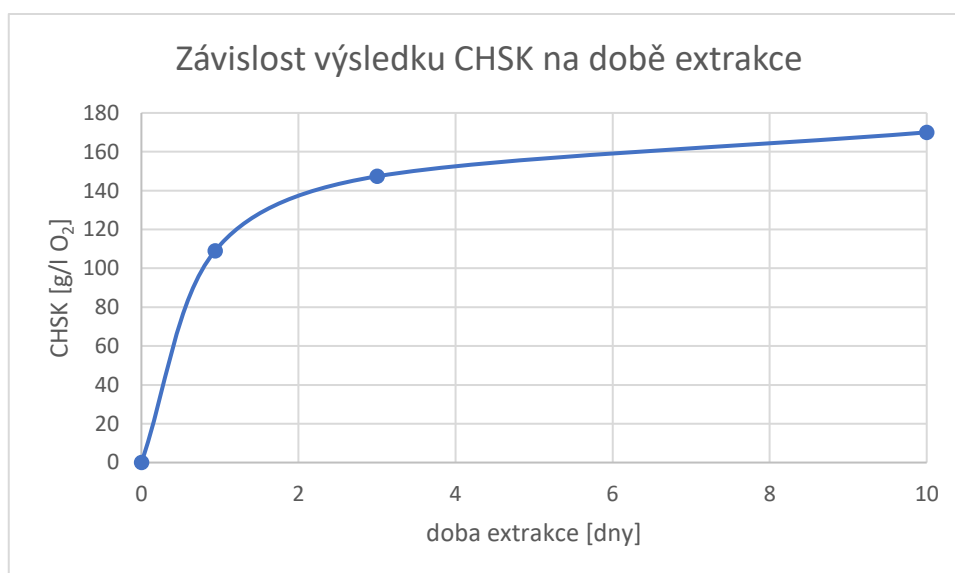
Dále byl hodnocen vliv složení směsi a doba extrakce na proces separace. Z hlediska rychlosti filtrace bylo zjištěno že doba extrakce a složení směsi na rychlost nemá velký vliv. Pro porovnání byl sestaven graf rychlosti filtrace násady KOH + kávová sedlina extrahovaná po dobu 30 minut za míchání elektromagnetickým míchadlem a násada KOH + močovina + kávová sedlina extrahovaná po dobu 10 dní.



Graf 3, Porovnání vlivu doby extrakce na filtrovatelnost

Při všech těchto filtracích byl použit skládaný filtrační papír. Z časů trvání jednotlivých filtrací je patrné, že bylo nutné optimalizovat i tento faktor, proto byla místo filtračního papíru použita síťovina. Záměrem práce bylo použít snadno dostupné materiály a chemikálie, proto jako filtrační materiál byl použit tzv. „nekonečný sáček“ z obchodního řetězce Kaufland. Tyto dvě metody měly absolutně nesrovnatelné výsledky, čas filtrace byl zkrácen až na 20 minut a zvýšil se i objem filtrátu. Promývání filtračního koláče sice bylo prováděno i nadále, ale už nemělo takový vliv na výsledný objem filtrátu.

Z výsledků CHSK filtrátu bylo zjištěno, že optimální dobou extrakce ligninu z kávové sedliny jsou 3 dny. Množství extrahovaných organických látek sice s časem rostlo, ale tempo růstu se zpomalovalo.



Graf 4, Závislost hodnoty CHSK na době extrakce

Při sycení filtrátu oxidem uhličitým byla otázkou doba sycení. Proces byl hodnocen pomocí měněního se pH. pH v oblasti neutrální až mírně kyselé značilo, že je filtrát již dostatečně nasycen. Díky tomuto pozorování byl čas sycení upraven z řádově několika hodin (při prvním experimentu téměř 7 hodin) až na pouhou 1 hodinu, která se ukázala jako dostačující.

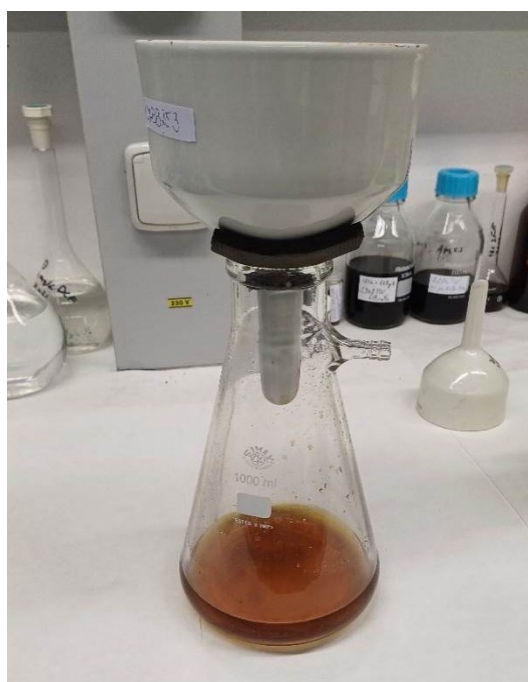
Termický rozklad KHCO_3 a zároveň karboxylace byla zprvu prováděna podle modelové reakce, a to ohřev na 100-130 °C po dobu 2 hodin. Pro sledování uvolňování oxidu uhličitého ze směsi byla na aparaturu připevněna hadice napojená na stopku nálevky. Nálevka byla umístěna 1 cm pod hladinu vody v kádince. Díky této úpravě bylo možné pozorovat unikající bublinky plynu, a tak omezit dobu termického rozkladu na 0,5 hodiny. Po této době již nebyl patrný únik CO_2 .

Kyselina, použitá na neutralizaci směsi, tedy kyselina sírová, se ukázala jako vhodná možnost pro tyto účely, nevylučují ani použití jiné silné kyseliny, a to podle využitelnosti vedlejších produktů reakce, kterými jsou především KHSO_4 a K_2SO_4 . Neopomenutelný je také rozdíl spotřeby kyseliny, který se zvýšil téměř na dvojnásobek při použití močoviny v zásadě. To svědčí o větším obsahu nakarboxylovaných sloučenin.

Poslední fází procesu byla separace produktu, která se ukázala, jako velmi komplikovaná. Probíhala za sníženého tlaku, a i tak to z časového hlediska byla operace nejnáročnější. Docházelo ke snadnému ucpávání pórů filtračního papíru a separace trvala několik hodin. Z časových důvodů nebylo prozatím možné tento proces optimalizovat. Dále se jako problém separace ukázala velké rozpustnost produktu, díky které při promývání docházelo ke ztrátám. Řešením problému bylo přidání 2 ml kyseliny mravenčí na 100 ml destilované vody. Výsledky byly patrné jak při testech CHSK filtrátu, tak již z vizuálního hlediska, viz obr.9 a 10 Tato úprava zamezila rozpouštění produktu a napomohla většímu shlukování částic. Tím se zlepšila i filtrovatelnost směsi.



Obrázek 8, Filtrát před přidáním kyseliny mravenčí



Obrázek 9, Filtrát po přidání kyseliny mravenčí

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Bar-On, Y. M.; Phillips, R.; Milo, R.; *The Biomass Distribution on Earth*; Biological Sciences; 2018; 115 (25) 6506-6511; <https://doi.org/10.1073/pnas.1711842115>
- [2] Pastorek, Z.; Kára, J.; Jevič, P.; *Biomasa obnovitelný zdroj energie*; FCC PUBLIC s.r.o.; Praha; 2004; pp 136-146
- [3] Techmania Science Center O.P.S.; *Věda a technika v pozadí*; <https://edu.techmania.cz/cs/katalog/obnovitelne-zdroje-energie/287/bioplyn>. [cit. 2024-05-27].
- [4] PCC GROUP; *Celulózový a papírenský průmysl*; <https://www.products.pcc.eu/cs/k/celulozovy-a-papirensky-prumysl/>. [cit. 2024-05-27].
- [5] Zhang, Y.; Cai, P.; Cheng, G.; Zhang, Y.; *A Brief Review of Phenolic Compounds Identified from Plants: Their Extraction, Analysis, and Biological Activity*; Natural Product Communications. 2022;17(1). doi:10.1177/1934578X211069721
- [6] Safe, S., Jayaraman, A., Chapkin, R. *et al.* *Flavonoids: structure–function and mechanisms of action and opportunities for drug development*. Toxicol Res. **37**, 147–162 (2021). <https://doi.org/10.1007/s43188-020-00080-z>
- [7] Cui, Q.; Du, R.; Liu, M.; Rong, L.; *Lignans and Their Derivatives from Plants as Antivirals*. Molecules 2020, 25, 183. <https://doi.org/10.3390/molecules25010183>
- [8] Pechová, M.; Stanovení vybraných fenolických látek v ovoci; Diplomová práce; Hradec Králové: Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta; Hradec Králové 2017.
- [9] González-González, R. B.; Iqbal, H. M. N.; Bilal, M.; Parra-Saldívar, R.; *(Re)-Thinking the Bio-prospect of Lignin Biomass Recycling to Meet Sustainable Development Goals and Circular Economy Aspects*; Current Opinion of Green and Sustainable Chemistry; 2022; 38; 100699; <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2022.100699>
- [10] Zhang, L.; Larsson, A.; Moldin, A.; Edlund, U.; *Comparison of Lignin Distribution, Structure and Morphology in Wheat Straw and Wood*; Industrial Crops and Products; 2022; 187 B; 115432; <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115432>

- [11] KLÍŽOVÁ, Lucie. *Fenolické kyseliny v rostlinách*. Online, Diplomová práce, vedoucí PharmDr. Jana Karličková, Ph.D. Hradec Králové: Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta, 2021. Dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/148025/120402109.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. [cit. 2024-05-29].
- [12] Pecyna, P.; Wargula, J.; Murias, M.; Kucinska, M. More Than Resveratrol: New Insights into Stilbene-Based Compounds. *Biomolecules* **2020**, *10*, 1111. <https://doi.org/10.3390/biom10081111>
- [13] Kluska, M.; Jabłońska, J.; Prukała, W. Analytics, Properties and Applications of Biologically Active Stilbene Derivatives. *Molecules* **2023**, *28*, 4482. <https://doi.org/10.3390/molecules28114482>
- [14] F. Yang, M. Antonietti, Artificial Humic Acids: Sustainable Materials against Climate Change. *Adv. Sci.* 2020, *7*, 1902992. <https://doi.org/10.1002/advs.201902992>
- [15] Pancsira, J. (2022). International Coffee Trade: a literature review. *Journal of Agricultural Informatics*, *13*(1). <https://doi.org/10.17700/jai.2022.13.1.654>
- [16] Hoskovec, L.; *COFFEA ARABICA L. – kávovník arabský*; 2011; <https://botany.cz/cs/coffea-arabica/>; [cit. 2024-05-29].
- [17] Grulich, V.; *COFFEA CANEPHORA Pierre ex A. Froehner – kávovník statný*; 2019; <https://botany.cz/cs/coffea-canephora/>; [cit. 2024-05-29].
- [18] Das, S.; *Post-harvest Processing of Coffee: An Overview*; Coffee Science; 2021; e161976; <https://doi.org/10.25186/.v16i.1976>
- [19] ZIMOVÁ, Michaela. *Stanovení vybraných látek v různých fázích pražení kávy*. Online, Diplomová práce, vedoucí Ing. Soňa Řezková, Ph.D. Pardubice: Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, 2023. Dostupné z: <https://dk.upce.cz/handle/10195/81867>. [cit. 2024-05-29].
- [20] Das, S.; *Post-harvest Processing of Coffee: An Overview*; Coffee Science; 2021; e161976; <https://doi.org/10.25186/.v16i.1976>
- [21] Dzah, C. S.; Duan, Y.; Zhang, H.; Boateng, N. A. S.; Ma, H.; *Latest Developments in Polyphenol Recovery and Purification from Plant By-products: A Review*; Trends in Food Science & Technology; 2020, pp 375-388; <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.003>

- [22] Zuorro, A.; *Optimalization of Polyphenol Recovery from Espresso Coffee Residues Using Faktorial Design and Response Surface Methology*; Separation and Purification Technology; 2015; 152; pp 64-69; <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.08.016>
- [23] Owhe, E. O.; Kumar, N.; Lynam, J. G.; *Lignin Extraction from Waste Biomass with Deep Eutectic Solvents: Molecular Weight and Heating Value*; Biocatalysis and Agricultural Biotechnology; 2021; 32; 101949; <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.101949>
- [24] Chen, P.; Dai K.; Wang, Z.; Zhuang W.; Yang P.; Ying H.; Wu, J.; *Separation and Recovery of Alkali Lignin and NaOH Based on Size Exclusion Methology*; Separation and Purification Technology; 2021; 257; 117852; <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.117852>
- [25] Salem, Y.; Rajha, H. N.; van den Broek, L. A. M.; Safi, C.; Togtema, A.; Manconi, M.; Manca, M. L.; Debs, E.; Hobaika, Z.; Maroun, R. G.; *Multi-Step Biomass Fractionation of Grape Seeds from Pomace, a Zero-Waste Approach*; Plants, 2022; 11; 2831; <https://doi.org/10.3390/plants11212831>
- [26] Khosravi, A.; Razavi, S. H.; Fadda, A. M.; *Advanced Assessment on Innovative Methods to Improve the Bioaccessibility of Polyphenols in Wheat*; Process Biochemistry; 2020; 88; pp 1-14; <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.09.005>
- [27] Baranuskienė, R.; Venskutonis, P. R.; Ragažinskienė, O.; *Valorisation of Roman Chamomile (Chamaemelum nobile L.) Herb by Hydrodistilled Aroma and Residual Non-volatile Fractions*; Food Research International; 2022; 160; 111715; <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111715>
- [28] VERKON. *Filtrační papíry*. Online. 2024. Dostupné z: <https://www.verkon.cz/filtracni-papiry-pro-kvalitativni-analyzu-vyseky-kruhove/>. [cit. 2024-06-03].