

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Vliv zatížení reaktoru na stabilitu nitrifikační
teplotních výkyvů**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Jana Žůrková

Vedoucí práce: Ing. Pavel Švehla, Ph.D.

Konzultant: Ing. Helena Hrnčířová

© 2015 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv zatížení reaktoru na stabilitu nitritace při teplotních výkyvech" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 9.4.2015

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala svému vedoucímu práce, panu Ing. Pavlu Švehlovi, Ph.D., za jeho odborné vedení a za čas, který mi věnoval. Dále děkuji Ing. Heleně Hrnčířové a Ing. Josefu Radechovskému za pomoc při získávání dat k praktické části této práce a vytvoření přátelského pracovního prostředí v laboratoři.

Moje velké poděkování patří mojí rodině, především mým rodičům, mému bratrovì, dědovi a prastrýci, kteří mě bezvýhradně podporovali a kteří mi vytvořili zázemí pro studium na vysoké škole.

Vliv zatížení reaktoru na stabilitu nitrifkace při teplotních výkyvech

Souhrn

Kalová voda z anaerobní stabilizace kalu je charakteristická vysokým obsahem amoniakálního dusíku. Její čištění může probíhat ve vedlejším proudu technologické linky čištění odpadních vod, například pomocí zkrácené nitrifikace (nitritace). Udržení zkrácené nitrifikace je teplotně závislé a v našich podnebných podmínkách komplikuje praktické využití této technologie kolísání teplot během roku. Odolnost zkrácené nitrifikace proti náhlým teplotním výkyvům při různém objemovém zatížení amoniakálním dusíkem byla zjišťována experimentálně v laboratorním reaktoru simulujícím biologické čištění. Reaktor o objemu 0,75 l pracující v režimu semikontinuálního průtoku (SBR) obsahoval suspendovanou biomasu. Režim SBR zajišťoval udržení zkrácené nitrifikace díky střídání pH během provozních cyklů. Doba trvání pokusu byla rozdělena do osmi etap po čtyřech dvojicích, kdy jednotlivé dvojice pracovaly při stejném nastaveném zatížení a došlo během nich k teplotnímu výkyvu. Sledované období experimentu trvalo 307 dní a objemové zatížení bylo během něj postupně zvyšováno průměrně z 0,49 kg N/(m³·d) v prvních dvou etapách na 1,32 kg N/(m³·d) v posledních dvou etapách. Teplota byla během výkyvu snížena průměrně z 24,3 °C na 17,8 °C. Bylo zjištěno, že systém odolal těmto výkyvům a i v etapě s nejvyšším zkoumaným zatížením fungoval po teplotním šoku s účinností odstranění N-amon 51 %. Během celého pokusu byl NO₂⁻ mezi oxidovanými formami dusíku na odtoku zastoupen průměrně z 96 % a ani po teplotním šoku jeho zastoupení neklesalo. Průměrné koncentrace N-amon a N-NO₂⁻ na odtoku byly v poměru 1,12:1, což nabízí možnost využití systému Anammox pro dočištění takto zpracované kalové vody.

Klíčová slova: zkrácená nitrifikace, zatížení dusíkem, teplotní výkyvy, kalová voda, reaktor se semikontinuálním průtokem (SBR)

The influence of loading rate on the stability of nitrification at fluctuating temperature

Summary

Reject water from anaerobically digested sludge typically contains high concentrations of nitrogen in the form of N-ammonia. Reject water can be processed in the side stream of a wastewater treatment plant by using the shortcut nitrification process. The performance of the shortcut nitrification is temperature dependent and the practical usage of this technology in our climate is constrained by seasonal temperature fluctuations. The system performance during temperature shocks under different nitrogen loading rates was investigated experimentally on a laboratory model simulating biological wastewater treatment. A sequencing batch reactor (SBR) containing suspended biomass with a volume of 0,75 l was used. Changing pH values during the SBR cycles were responsible for maintaining the shortcut nitrification. The experiment period was divided into eight phases, which formed four pairs with identical default nitrogen loading rates. During the phases with identical nitrogen loading rates, the temperature shock was performed. The experiment duration was 307 days and the nitrogen loading rate was increased from an average value of 0,49 kg N/(m³·d) in the first two phases to 1,32 kg N/(m³·d) in the two last phases. The temperature fluctuated between 24,3 °C and 17,8 °C on average. The performance of the system under given temperature shocks was not impaired and even under the highest nitrogen loading rate the nitrogen removal performance was 51 % on average. During the whole experimental period the nitrite accumulation rate in the effluent was 96 % on average and no decline occurred even after the temperature shocks. The concentrations of N-ammonia and nitrite in the effluent were in a 1,12:1 ratio which makes it suitable for further usage as influent for the Anammox process.

Keywords: shortcut nitrification, nitrogen loading rate, temperature shock, reject water, SBR

Obsah

1 Úvod	1
2 Cíl práce	2
3 Teoretická část	3
3.1 Dusík v odpadních vodách	3
3.1.1 Formy dusíku v odpadních vodách	3
3.2 Biologické způsoby odstraňování dusíku z odpadních vod	4
3.2.1 Nitrifikace a denitrifikace.....	5
3.2.1.1 Faktory ovlivňující nitrifikaci.....	7
3.2.2 Zkrácená nitrifikace	8
3.2.2.1 Vliv koncentrace FA a FNA na zkrácenou nitrifikaci.....	9
3.2.2.2 Vliv dalších reakčních podmínek na zkrácenou nitrifikaci	10
3.2.3 Možnosti zpracování odtoku z reaktoru provozujícího zkrácenou nitrifikaci.....	11
3.3 Kalová voda z anaerobní stabilizace kalu	12
3.3.1 Problematika zpracování kalové vody a její specifické vlastnosti.....	12
3.3.2 Způsoby nakládání s kalovou vodou.....	14
3.4 Zpracování kalové vody pomocí zkrácené nitrifikace	15
3.4.1 Role teplotních podmínek při zkrácené nitrifikaci.....	15
3.4.2 Fungování zkrácené nitrifikace při různých teplotách a teplotních výkyvech.....	18
3.4.2.1 Zkrácená nitrifikace při teplotách nad 10 °C.....	19
3.4.2.2 Zkrácená nitrifikace při teplotách pod 10 °C	20
3.4.2.3 Zkrácená nitrifikace a náhlé teplotní výkyvy.....	21
3.4.3 Vliv teploty na inhibici FA a FNA.....	22
3.4.4 Vliv zatížení reaktoru dusíkem na fungování nitrifikace.....	23
4 Metodika	25
4.1 Popis laboratorního modelu	25
4.2 Podmínky experimentu	26
4.3 Analytická stanovení	27
4.3.1 Stanovení hodnoty pH, koncentrace rozpuštěného kyslíku, teploty a průtoku.....	28
4.3.2 Stanovení koncentrace anorganických forem dusíku.....	29
4.3.2.1 Koncentrace N-amon.....	29

4.3.2.2	Koncentrace N-NO ₂ -.....	29
4.3.2.3	Koncentrace N-NO ₃ -.....	30
4.3.3	Stanovení CHSK.....	30
4.3.4	Stanovení koncentrace VL, NL, RL a ztráty žíháním.....	30
4.4	Výpočty použité pro určení sledovaných parametrů.....	30
5	Výsledky.....	33
5.1	Etapy I a II.....	33
5.2	Etapy III a IV.....	37
5.3	Etapy V a VI.....	41
5.4	Etapy VII a VIII.....	44
5.5	Shrnutí některých parametrů procesu v průběhu etap I -VIII.....	48
6	Diskuze.....	49
6.1	Reálné podmínky v reaktoru	49
6.2	Chování systému vystaveného teplotním šokům při rostoucím zatížení dusíkem.....	50
6.2.1	Účinnost procesu čištění.....	50
6.2.2	Hodnoty pH v režimu SBR.....	50
6.2.3	Zastoupení oxidovaných forem dusíku na odtoku.....	50
6.2.4	Koncentrace forem dusíku na odtoku.....	51
6.2.5	Vliv inhibice FA a FNA.....	51
6.2.6	Koncentrace rozpuštěného kyslíku.....	52
6.2.7	Účinnost odstranění CHSK.....	52
6.3	Možnosti dalšího směřování výzkumu.....	53
7	Závěry.....	54
8	Použitá literatura.....	55
9	Přílohy.....	65

1 Úvod

Kalová voda z anaerobní stabilizace kalu je specifická vysokým obsahem amoniakálního dusíku a fosforu, ale naproti tomu nízkým obsahem organických látek. Běžně se tato kalová voda vrací neupravená do hlavní technologické linky čištění odpadních vod (ČOV) před aktivační systém nebo před mechanické čištění. Předčištění, a až následné navrácení kalové vody do hlavní technologické linky ČOV, výrazně ulevuje aktivačnímu systému. Pokud se předčištění neprovádí, je aktivační systém zatěžován značným množstvím amoniakálního dusíku, což může způsobit narušení biologického čištění a tím zhoršené plnění limitů dusíku na odtoku z ČOV. K předčištění kalové vody je možné díky jejích charakteristickým vlastnostem využít netradiční postupy biologického čištění za účelem odstranění dusíku. Takovým postupem je například zkrácená nitrifikace a další navazující postupy.

Zkrácená nitrifikace, tedy nitritace na dusitany, může mít oproti klasické nitrifikaci na dusičnany řadu výhod. Její fungování je ale závislé na mnoha provozních faktorech. Praktické využití zkrácené nitrifikace komplikuje především citlivost vůči teplotě. Teplota na čistírnách odpadních vod v našich klimatických podmínkách během roku kolísá, a proto je důležité znát chování čistících procesů i za měnících se teplotních podmínek. Pro uplatnění zkrácené nitrifikace v praxi je navíc důležité, aby byl systém schopný fungovat i při vysokém objemovém zatížení dusíkem. Tak by bylo možné efektivně zpracovávat také odpadní vody s vysokou koncentrací dusíku, jakou je kalová voda z anaerobní stabilizace kalu. Při vysokém zatížení dusíkem může být pro nitrifikační organismy obtížnější udržet aktivitu za nízkých teplot či teplotních výkyvů, jelikož s klesající teplotou se zpomaluje rychlost všech biochemických reakcí.

Tato práce se zaměřuje na zpracování kalové vody metodou zkrácené nitrifikace v laboratorním modelu pracujícím v režimu semikontinuálního průtoku. Model by vystaven prudkým výkyvům teplot při různém zatížení dusíkem a byla sledována stabilita procesu čištění po těchto změnách.

2 Cíl práce

Cílem této diplomové práce je testovat vliv kolísání teploty na zkrácenou nitrifikaci v kalové vodě v režimu SBR. Sledován bude vliv náhlých teplotních výkyvů na stabilitu čištění kalové vody. Dále bude pozornost věnována vlivu teplotních výkyvů při různém zatížení reaktoru dusíkem.

Hypotéza vědecké práce:

Předpokládáme, že existuje teplotní hranice, do které je systém schopen udržet fungující zkrácenou nitrifikaci i přes určité náhlé teplotní výkyvy. Dále předpokládáme, že na hodnotu této hraniční teploty má vliv zatížení systému dusíkem, a že při vyšším zatížení je systém vůči teplotním výkyvům méně odolný.

3 Teoretická část

3.1 Dusík v odpadních vodách

Dusík patří mezi makrobiotické prvky a je jedním ze základních elementů, podílejících se na stavbě buněk živých organismů. V odpadních vodách mají ale jeho sloučeniny převážně antropogenní původ. Jejich zvýšený výskyt narušuje přirozenou rovnováhu ekosystémů a způsobuje například eutrofizaci vody a následný zvýšený růst zelených organismů nebo vyčerpání kyslíku ve vodě (Henze et al., 2008). Odstranění sloučenin dusíku z odpadních vod před jejím navrácením do prostředí je proto jednou z priorit technologických linek čištění odpadních vod.

3.1.1 Formy dusíku v odpadních vodách

Sloučeniny dusíku jsou organického nebo anorganického původu. Dusík se vyskytuje v několika oxidačních stupních, jejichž přehled je uveden v tabulce č. 1.

Oxidační stupeň	Název	Vzorec
-III	amoniakální dusík	NH_4^+ , NH_3
	kyanatany	OCN^-
	kyanidy	CN^-
-I	hydroxylamin	NH_2OH
0	elementární dusík	N_2
+I	oxid dusný	N_2O
+III	dusitanový dusík	N-NO_2^-
	dusičnanový dusík	N-NO_3^-

Tabulka č. 1: Oxidační stupně dusíku (Pitter, 2009)

Při analýzách odpadních vod je stanovován celkový dusík, anorganicky vázaný dusík a organický dusík. Celkový dusík je součet koncentrací organických a anorganických forem. Anorganický dusík zahrnuje takzvaný celkový amoniakální dusík (N-amon), který je přítomen částečně jako nedisociovaný N-NH₃ (free ammonia, FA) a z části v iontové formě N-NH₄⁺. Druhou frakci anorganického dusíku představuje dusitanový dusík - ve formě nedisociované kyseliny dusité HNO₂ (free nitrous acid, FNA) nebo v iontové formě NO₂⁻.

Třetí formou anorganického dusíku je dusičnanový dusík, který se při hodnotách pH odpadních vod vyskytuje převážně jako dusičnanový anion (NO_3^-) (Pitter, 2009).

Ve splaškových odpadních vodách se dusík vyskytuje nejčastěji ve formě organické a amoniakální. Organický dusík zde pochází z produktů lidského metabolismu a je vázán například v proteinech, peptidech, aminokyselinách, močovině nebo v dusíkatých heterocyklech jako součást DNA a RNA. Amoniakální dusík je produktem rozkladu těchto organických látek (Gray, 2004). Specifická produkce dusíku na jednoho obyvatele a den se uvádí 12 g (Pitter, 2009).

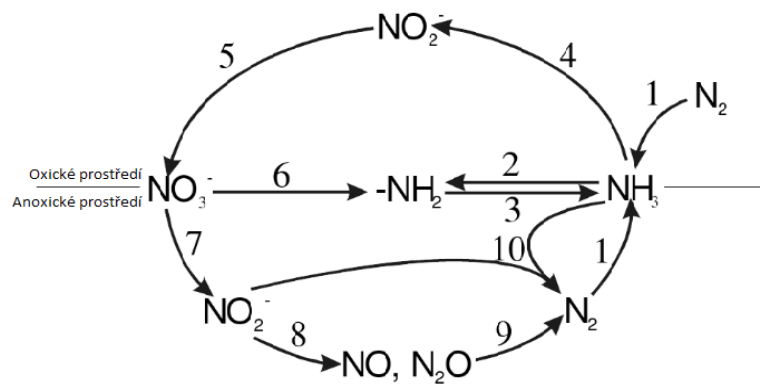
3.2 Biologické způsoby odstraňování dusíku z odpadních vod

Koloběh dusíku je jedním z nejdůležitějších cyklů látek v přírodě. Elementární dusík N_2 je fixován diazotrofními organismy a je převeden na amoniakální dusík, který je dále zabudován do organického materiálu. Organický dusík je naopak uvolňován mikrobiální aktivitou za vzniku amoniakálního dusíku procesem amonifikace. Za oxických podmínek je amoniakální dusík oxidován na dusitany a dále na dusičnany procesem nitrifikace. Dusičnany jsou za anoxických podmínek redukovány na elementární dusík procesem denitrifikace (Werner et Newton, 2006). Jádro konvenčního biologického čištění odpadních vod za účelem odstranění dusíku vychází právě z biologického cyklu dusíku (viz obrázek č.1), a je tvořeno nitrifikací a denitrifikací.

Biologické čištění odpadních vod ve srovnání s fyzikálně-chemickými metodami probíhá přirozenými procesy a bez vnášení dalších cizorodých látek. Základem biologického čištění je aktivační proces, který je uskutečňován v aktivačních nádržích a při kterém jsou organické látky odstraňovány za přítomnosti kyslíku. Jedná se o proces kultivace biomasy, která zabudovává organické látky rozpuštěné ve vodě a tím neustále narůstá. Jelikož se jedná o významnou živinu, je mikroorganismy zabudována i část dusíku. V technologické lince čištění se aktivační proces zařazuje za mechanické čištění v usazovacích nádržích (Halling-Sørensen et Jorgensen, 1993). Odstranění dusíku v aktivační nádrži by ale nebylo dostačující pro splnění limitů na odtoku z čistírny, proto je nutné zařadit do technologické linky ještě další postupy jako je nitrifikace a denitrifikace. Proces nitrifikace a denitrifikace je uskutečňován v aktivačních nádržích po úpravě jejich technologického uspořádání, které

zajistí přítomnost aerobní a anoxické zóny a tím také podmínky pro růst biomasy nitrifikačních a denitrifikačních organismů (Halling-Sørensen et Jorgensen, 1993).

Biomasa v aktivační nádrži je tvořena vločkami aktivovaného kalu – směsná kultura mikroorganismů vytváří ve vodě shluky, přičemž organismy blíže povrchu mají větší přístup k rozpuštěnému kyslíku než organismy uvnitř kalové vločky (Chudoba a kol., 1991). Přebytečná biomasa je potom z aktivační nádrže odstraňována ve formě přebytečného aktivovaného kalu.



Obrázek č. 1: Koloběh dusíku (Werner et Newton, 2006)

(1) fixace N_2 (2) asimilace amoniakálního dusíku do aminoskupin proteinů (3) amonifikace (4) nitritace (5) nitratace (6) asimilace dusičnanů (7,8,9) denitrifikace přes dusitany, oxid dusnatý a oxid dusný (10) anaerobní oxidace amoniakálního dusíku

3.2.1 Nitrifikace a denitrifikace

Nitrifikace je aerobní proces, ve kterém je konečným akceptorem elektronů molekulární kyslík. Probíhá ve dvou fázích a podílejí se na ní dvě skupiny nitrifikačních organismů. Obě skupiny jsou chemolitotrofní a jako zdroj uhlíku využívají CO_2 . V první fázi se jedná o nitritační bakterie, takzvané Ammonia Oxidising Bacteria (AOB). AOB oxidují amoniakální dusík za tvorby meziprojektu hydroxylaminu na dusitany. Jedná se především o rody *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira* a *Nitrosocystis* (Koops et Pommerening-Röser, 2001; Ducey et al., 2010). Bylo ovšem zjištěno, že oxidace amoniakálního dusíku není výlučně záležitostí domény bakterií, ale že jsou jí schopné provádět také organismy z domény *Archaea* (Könneke et al., 2005). Protože jejich podíl na oxidaci amoniakálního dusíku v

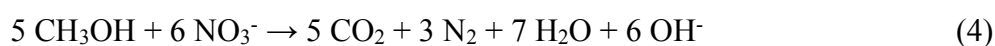
biologickém čištění odpadních vod se zdá být limitovaný (Rodriguez-Caballero et al., 2012), budeme zde jako nitritační organismy uvažovat pouze AOB.

V následující fázi se přeměňují dusitany na dusičnany činností nitratačních bakterií - Nitrite Oxidising Bacteria (NOB) - jako jsou rody *Nitrobacter*, *Nitrococcus* či *Nitrospira* (Koops et Pommerening-Röser, 2001). Obě fáze nitrifikace jsou zobrazeny v následujících rovnicích č. 1 – 3 (Pitter, 2009).



Převážná většina autorů uvádí rovnici nitrifikace jako reakci amonného iontu s kyslíkem, viz rovnice č. 1 (Ciudad et al., 2006; van Hulle et al., 2007; Sri Shalini et Joseph, 2012). Přesto se ale v literatuře dočteme, že substrátem pro AOB je pravděpodobně spíše FA (van Hulle et al., 2007; Sri Shalini et Joseph, 2012). Z tohoto důvodu je zde uvedena také reakce volného amoniaku (viz rovnice č. 2). Jak je z této rovnice patrné, pokud by substrátem opravdu byl FA, znamenalo by to vznik polovičního množství H^+ . To by významně ovlivňovalo pH v průběhu nitrifikace a je proto na místě brát v potaz i tuto možnost.

Denitrifikace probíhá v anoxických podmínkách a dochází při ní k redukcí dusičnanů na elementární dusík a z části také vznikají oxidy dusíku. Denitrifikační bakterie jsou, na rozdíl od nitrifikačních bakterií, organotrofní a vyžadují jako zdroj živin organický substrát, který v tomto případě zastává organické znečištění vody. Mezní hodnota poměru $\text{CHSK}_{\text{Cr}}/\text{N}$, která vyjadřuje koncentraci chemicky oxidovatelných organických látek v poměru ke koncentraci dusíku, je 2,5. Pokud tento minimální poměr není splněn, je třeba dodávat externí, lehce rozložitelný organický substrát, například metanol (Tam et al., 1992; Pitter, 2009). Mezi rody denitrifikačních bakterií patří například *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Paracoccus*, *Thiobacillus* a další (Ahn, 2006; Dworkin et al., 2006). Reakci denitrifikace s metanolem jako zdrojem uhlíku zobrazuje rovnice č. 4 (Pitter, 2009):



Denitrifikace probíhá v teplotním rozmezí 0 – 50 °C, teplotní optimum je 35 – 50 °C. Denitrifikační organismy jsou citlivé na pH prostředí, optimum pro jejich aktivitu se pohybuje mezi hodnotou 6,5 a 7,5 ale reakce probíhají s menší intenzitou i mimo optimum v rozmezí hodnot pH 6 - 9 (Gray, 2004).

3.2.1.1 Faktory ovlivňující nitrifikaci

Mezi faktory ovlivňující nitrifikaci patří koncentrace rozpuštěného kyslíku, teplota, pH a stáří kalu. Kyslík proniká do kalové vložky difuzí, takže jeho koncentrace uvnitř vložky je vždy nižší než přímo v čištěné vodě. Pokud je koncentrace rozpuštěného kyslíku příliš nízká, hrozí jeho vyčerpání a inhibice nitrifikace. Ruiz et al. (2003) zaznamenali inhibici nitrifikace při koncentracích rozpuštěného kyslíku pod 1,7 mg/l. Nízké koncentrace kyslíku v aktivační směsi mohou vést k hromadění dusitanů způsobené vyšší aktivitou AOB (Ruiz et al., 2003). Hromadění dusitanů při nízké koncentraci kyslíku je způsobeno rozdílnou hodnotou kyslíkové saturační konstanty AOB a NOB. AOB vykazují při nízkých koncentracích kyslíku mnohem vyšší aktivitu než NOB, protože jejich kyslíková saturační konstanta je nižší (Ciudad et al., 2006). Tuto rozdílnost je možné využít pro cílené blokování aktivity NOB a tím dosažení zkrácené nitrifikace (viz kapitola 3.2.2).

Teplota ovlivňuje rychlost všech biologických reakcí a nitrifikace je teplotně nejcitlivějším procesem, ke kterému dochází v rámci biologického čištění odpadních vod (Hwang et Oleszkiewicz, 2007). Údaje o teplotních optimech nitrifikantů se různí, obecně lze říci, že AOB mají vyšší specifickou růstovou rychlost než NOB při teplotách nad 20 °C a při teplotách nižších rostou naopak rychleji NOB (Hellings et al., 1998; Kim et al. 2008).

Optimální hodnota pH pro nitrifikaci se pohybuje v neutrální až slabě alkalické oblasti, přičemž pro růst AOB (*Nitrosomonas*) je optimální hodnota pH 7,9 - 8,2 a NOB (*Nitrobacter*) 7,2 - 7,6 (Sri Shalini et Joseph, 2012). Ruiz et al. (2003) uvádí dosažení fungující klasické nitrifikace v rozmezí hodnot pH 6,45 – 8,95 a při hodnotách pH mimo toto rozmezí úplnou inhibici nitrifikace. Hodnota pH má na podle Villaverde et al. (1997) trojí efekt na nitrifikaci: ovlivňuje aktivitu nitrifikačních organismů, dostupnost živin a inhibiční efekt FA a FNA (viz kapitola 3.2.2.1).

Stáří kalu udává dobu, po kterou se mikroorganismy zdrží v systému a po kterou mají možnost se množit. Vzhledem k tomu, že nitrifikační organismy patří mezi pomalu rostoucí, musí být stáří kalu dostačující pro jejich růst, jinak dochází k jejich vyplavování z reaktoru.

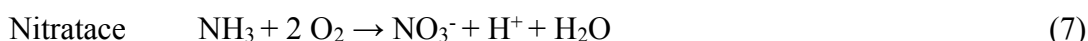
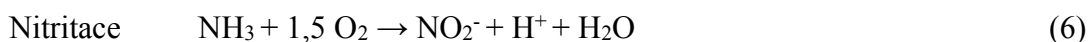
Minimální stáří kalu při určité teplotě $(SA)_T$ můžeme vypočítat podle rovnice č. 5 (Gray, 2004).

$$(SA)_T = 3,05 * (1,127)^{20-T} \quad (5)$$

kde: T...teplota ve °C

3.2.2 Zkrácená nitrifikace

Proces zkrácené nitrifikace (neboli nitritace) patří k alternativním metodám pro biologické odstranění dusíku. Principem je zastavení nitrifikace v prvním stádiu – nitritaci. Produkt zkrácené nitrifikace může být dále zpracován denitritací nebo dalšími procesy (viz kapitola 3.2.3.). Výhody této reakce vyplývají z porovnání stechiometrie rovnic klasické a zkrácené nitrifikace a denitrifikace (Abeling et Seyfried, 1992), viz rovnice č. 6 – 9.



Nitritace a denitritace může mít oproti klasické nitrifikaci až o 25 % menší spotřebu kyslíku a je možné při ní ušetřit také až 40 % organického substrátu. To je výhodné pro vody s nízkým poměrem CHSK/N. Spotřeba energie potřebné na aeraci představuje hlavní část celkových nákladů systému čištění odpadních vod. Náklady na aeraci jsou zásadní především u vod s vysokým obsahem amoniakálního dusíku, jakou je například kalová voda z aneobní stabilizace kalu. Při klasické nitrifikaci a denitrifikaci je totiž nutné dosažení úplné oxidace amoniakálního dusíku. Při uplatnění zkrácené nitrifikace vzniká také méně nadbytečného kalu vzhledem k nízké růstové rychlosti nitrifikačních bakterií.

Pro inhibici NOB a tím zablokování druhé fáze nitrifikace můžeme využít různých strategií. Ty jsou založeny na fyziologických rozdílech mezi AOB a NOB a patří mezi ně citlivost na koncentraci volného amoniaku NH_3 (FA) a volné kyseliny dusité HNO_2 (FNA) v reaktoru, hodnota pH, teplota, koncentrace rozpuštěného kyslíku nebo stáří kalu.

3.2.2.1 Vliv koncentrace FA a FNA na zkrácenou nitrifikaci

Nitrifikační bakterie jsou citlivé na výskyt ionizovaných a neionizovaných forem dusíku, které jsou součástí procesu nitrifikace, tedy rovnováhu $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ (FA) a $\text{NO}_2^-/\text{HNO}_2$ (FNA). Zásadní je přitom množství nedisociovaných forem FA a FNA. Ve vodných roztocích se amoniak chová jako slabá báze a kyselina dusitá jako slabá kyselina. Dochází k ustavení rovnováhy dle rovnice č. 10 a 11.



Za pomoci rovnice č. 12 a 13. je možné vypočítat koncentrace FA a FNA na základě naměřených koncentrací amoniakálního dusíku a dusitanů (Anthonisen et al., 1976; Yamamoto et al., 2006). Vyplývá z nich, že zastoupení forem FA/FNA je dáno koncentrací amoniakálního dusíku, respektive dusitanového dusíku, provozním pH a teplotou v reaktoru.

$$\text{FA (mg/l)} = 17/14 \times \text{N-amon (mg/l)} \times 10^{\text{pH}} / [\exp(6344/(273 + T)) + 10^{\text{pH}}] \quad (12)$$

$$\text{FNA (mg/l)} = 47/14 \times \text{NO}_2\text{-N (mg/l)} / [\exp(-2300/(273 + T)) \times 10^{\text{pH}}] \quad (13)$$

Faktor koncentrace FA/FNA je zvláště významný u odpadních vod s vysokým obsahem amoniakálního dusíku, jako je kalová voda vznikající při anaerobní stabilizaci kalu nebo skládkový výluh. Při zpracování těchto vod pomocí zkrácené nitrifikace dochází i k teplotnímu ovlivnění zastoupení FA a FNA, protože tento proces je obvykle prováděn za vysokých provozních teplot okolo 30 °C. Inhibovány tak mohou být nejen NOB ale také AOB (Vadivelu et al.; 2007 van Hulle et al., 2007). Vlivu teploty a inhibice FA/FNA se blíže věnuje kapitola 3.4.3. Během zkrácené nitrifikace se snižuje pH v důsledku uvolňování H^+ iontů a se snižujícím se pH klesá zastoupení FA. Naproti tomu se zvyšuje množství FNA.

Podle Anthonisen et al. (1976) ovlivňuje hraniční hodnotu koncentrace FA a FNA, která způsobuje inhibici AOB a NOB několik faktorů - aklimatizace nitrifikantů, teplota a počet aktivních mikroorganismů. Obecně jsou NOB citlivější na koncentraci FA než AOB, což může být využito pro dosažení zkrácené nitrifikace. FA vystupuje jako kompetitivní inhibitor nitrit oxido-reduktázové aktivity umístěné na buněčné membráně NOB (Okabe et

al., 2011). Anthonisen et al. (1976) jako první uvedli hodnoty koncentrace FA pro inhibici aktivity AOB v rozmezí 10 – 150 mg/l a NOB v rozmezí 0,1 – 1,0 mg/l. Kim et al. (2006) zaznamenali, že při koncentraci FA 0,7 mg/l byla aktivita NOB inhibována již z 50 %. Na druhé straně, zkrácená nitrifikace byla provozována i při koncentracích FA 20 mg/l (Qiao et al., 2008), což svědčí o schopnosti organismů se na vyšší koncentrace FA adaptovat. Co se týče inhibice FNA, Anthonisen et al. (1976) uvádí počátek inhibice nitrifikace při koncentracích v rozmezí 0,22 - 2,8 mg/l.

Sun et al. (2010) použili inhibičního vlivu FA na NOB a dosáhli tak zkrácené nitrifikace u odpadní vody s vysokým obsahem dusíku. U NOB byla ale zaznamenána schopnost aklimatizace na koncentrace FA při delším provozu (Villaverde et al., 2000; Radechovský a kol., 2013). Kim et al. (2008) vylučují možnost využití inhibice FA jako operačního faktoru pro udržení zkrácené nitrifikace. Srovnáním relativní akumulace dusitanů (tj. množství akumulovaných dusitanů vztažené na množství odstraňovaného amoniakálního dusíku) za různých teplot a koncentrací FA došel k závěru, že akumulace dusitanů byla determinována teplotou a není závislá na koncentraci FA. Efektivněji by mohla fungovat inhibice FNA, jelikož se zdá, že kultury NOB nedokáží růst za podmínek vysoké koncentrace FNA nebo se na ně adaptovat (Vadivelu et al., 2007; Yamamoto et al., 2008). Souhry inhibičního vlivu FA a FNA využili Radechovský a kol. (2014) v SBR reaktoru u vody s vysokým obsahem dusíku.

3.2.2.2 Vliv dalších reakčních podmínek na zkrácenou nitrifikaci

Jak bylo zmíněno v kapitole 3.2.1, optimální hodnota pH pro růst AOB je vyšší než pro NOB, což nabízí prostor pro jejich selekci. Vyšší růstovou rychlost než NOB mají AOB také při vysokých teplotách okolo 30 – 35 °C, proto je obvykle zkrácená nitrifikace prováděna za těchto teplot. Vysokých teplot a krátké doby zdržení využívá například proces SHARON – single-reactor high activity ammonia removal over nitrite (více viz kapitola 3.4.2). Stáří kalu a delší dobu zdvojení NOB při teplotách nad 30 °C a hodnoty pH > 7 využili pro zajištění zkrácené nitrifikace Pollice et al. (2002).

Dalším kontrolním faktorem pro dosažení zkrácené nitrifikace může být koncentrace rozpuštěného kyslíku. AOB mají nižší kyslíkovou saturační konstantu než NOB. Při nižších koncentracích rozpuštěného kyslíku v reaktoru je aktivita AOB vyšší než NOB. Pollice et al. (2002) dosáhli při omezeném zásobení kyslíkem stabilní zkrácené nitrifikace nezávisle na

stáří kalu. Optimální množství rozpuštěného kyslíku v reaktoru pro dostatečné odbourávání amoniakálního dusíku a zároveň akumulaci dusitanů se v různých zdrojích liší, ale pohybuje se okolo 0,7 - 1,5 mg/l (Ruiz et al., 2003; Ciudad et al., 2006). Při nižším obsahu rozpuštěného kyslíku je již narušena přeměna amoniakálního dusíku na dusitany a dochází k jeho hromadění.

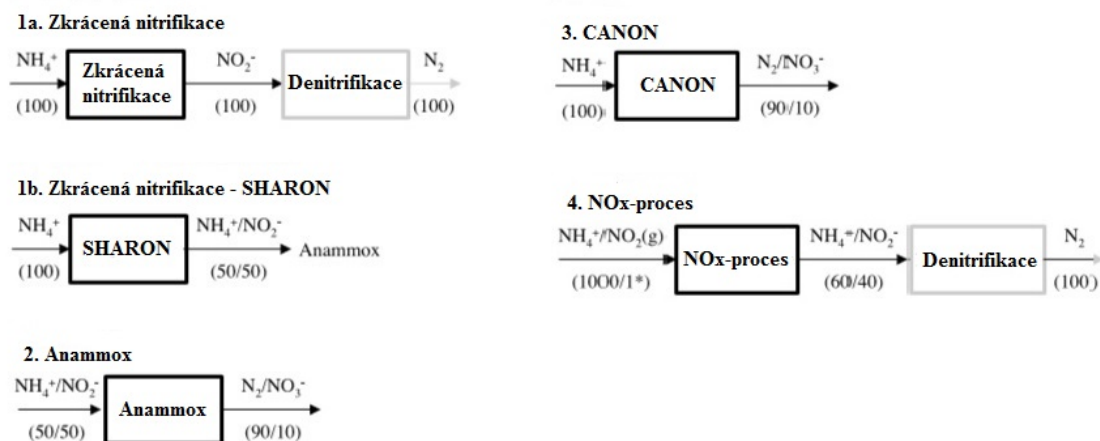
3.2.3 Možnosti zpracování odtoku z reaktoru provozujícího zkrácenou nitrifikaci

Pro dokončení biologického odstranění dusíku by měla po zkrácené nitrifikaci následovat heterotrofní nebo autotrofní redukce dusitanů na elementární dusík. Pro heterotrofní denitrifikaci je stěžejní dostatek organického uhlíku. Organický substrát je většinou z důvodu nedostatečného množství dodáván externě, nejčastěji jím bývá metanol či etanol. Nabízejí se také možnosti využít alternativní zdroje jako například odpadní vody obsahující glycerol (z výroby bionafty) (Torà et al., 2011). Autotrofní denitrifikaci, tedy bez potřeby organického substrátu, využívá proces Anammox (Anaerobic ammonium oxidation). Je zprostředkován bakteriemi kmene *Planctomycetes* – rody *Anammoxoglobus*, *Brocadia*, *Jettenia*, *Kuenenia* a *Scalindua* (Magrí et al., 2013), pro které se používá souhrnný výraz bakterie Anammox. Rovnice č. 14 zobrazuje zjednodušený průběh reakce (Kartal et al., 2012).



Protože Anammox prakticky nevyžaduje organický substrát a probíhá za anoxických podmínek, má nízké provozní náklady a vykazuje vysokou účinnost odstranění dusíku. Kultivaci Anammox bakterií a aplikaci ve větším měřítku ale komplikuje citlivost bakterií na změny v prostředí a velmi pomalá rychlost růstu biomasy (Jin et al., 2012). Aktivitu bakterií Anammox využívá také proces CANON. Jedná se o odstraňování dusíku přes dusitany na elementární dusík za využití kooperace AOB s bakteriemi Anammox v jednom reaktoru. AOB oxidují amonný dusík na dusitany a spotřebovávají při tom kyslík. Nízké koncentrace kyslíku v systému umožní vznik anoxických podmínek v biofilmu vhodných pro bakterie Anammox (Third et al., 2001).

Schmidt et al. (2003) zmiňují také další metodu využívající zkrácenou nitrifikaci, takzvaný NO_x proces. Funguje na principu dodávání oxidů dusíku do reaktoru a tím stimulaci denitrifikační aktivity organismů podobným *Nitrosomonas*. Nitrifikace a denitrifikace zde probíhá simultánně i za oxických podmínek s hlavním produktem N_2 .



Obrázek č. 2: Schéma charakterizující přítoky a odtoky zkrácené nitrifikace

(Schmidt et al., 2003).

Čísla v závorce vyjadřují podíl dusíkaté sloučeniny na odtoku v % (hodnota je idealizovaná a může se lišit v závislosti na parametrech procesu). $\text{NO}_2(\text{g})$ vyjadřuje plynný podíl oxidu.

Na obrázku č. 2 jsou schematicky shrnuty možné postupy využívající zkrácenou nitrifikaci. Zkrácená nitrifikace a následná denitrifikace může proběhnout s veškerým dusíkem (1a.) nebo jen s jeho částí a odtok může být dále zpracován v systému Anammox (1b., 2.). V systému CANON (3.) probíhá zkrácená nitrifikace a Anammox v jednom reaktoru. Poslední pole (4.) zobrazuje NO_x proces v kombinaci s denitrifikací.

3.3 Kalová voda z anaerobní stabilizace kalu

3.3.1 Problematika zpracování kalové vody a její specifické vlastnosti

Kal vznikající v mechanickém a biologickém stupni technologické linky čištění, který je separován v usazovacích a dosazovacích nádržích je nutné dále upravit a stabilizovat. Před stabilizací je surový kal zahuštěn, čímž se významně sníží jeho objem, a voda vznikající při

zahuštění (zde dále jen primární kalová voda) může být vrácena do technologické linky čištění, kde nezpůsobuje větší potíže. Zahuštěný kal je dále stabilizován s cílem dalšího snížení objemu kalu, podílu organických látek, omezení intenzivních biologických přeměn a s nimi spojeného zápachu a zahubení patogenních mikroorganismů (Appels et al., 2008). Nejběžnější variantou je anaerobní stabilizace, při které je produkován bioplyn, stabilizovaný kal a kalová voda. Kalová voda vznikající oddělením ze stabilizovaného kalu bývá nejčastěji navrácena zpět do hlavní čistící linky. Má ale značně odlišné vlastnosti než primární kalová voda, zatěžuje chod linky čištění odpadních vod a může výrazně narušit čistící procesy. Kalová voda z anaerobní stabilizace může být také zpracována v odděleném proudu pomocí fyzikálních, chemických či biologických procesů, což ovšem přináší další požadavky na prostory, finanční náklady na provoz či chemická činidla. V poslední době se hledají alternativní postupy pro zacházení s kalovou vodou, které by co nejlépe využily její vlastnosti a bylo by je možno v praxi zakomponovat do provozu technologické linky čištění.

Své charakteristické vlastnosti získá kalová voda právě během procesu anaerobní stabilizace, při které je surový kal rozkládán za nepřístupu kyslíku. Během počáteční hydrolýzy jsou složité organické polymery rozloženy na aminokyseliny, mastné kyseliny a sacharidy rozpustné ve vodě a dostupné pro další bakterie. Acidogenní bakterie štěpí produkty hydrolýzy dále za vzniku organických kyselin, alkoholů, aldehydů, CO_2 , vodíku, amoniaku. Následnou acetogenezi vzniká ve velkém množství kyselina octová a dále vodík a CO_2 . Závěrečná fáze je samotná metanogeneze, při které vzniká bioplyn – směs převážně CH_4 a CO_2 (Kondusamy et Kalamdhad, 2014).

Kalová voda z anaerobní stabilizace kalu je typická velmi vysokým obsahem dusíkatých látek a nízkým obsahem organických sloučenin, tedy i nízkým poměrem CHSK/N (Cydzik-Kwiatkowska et al., 2013). Většina organických látek je během procesu anaerobní stabilizace využita na tvorbu bioplynu a zbývající organické sloučeniny jsou pro organismy těžko dostupné a rozložitelné. Narušováním buněk organismů a uvolňováním proteinů a aminokyselin, které jsou pak dále rozkládány, se výrazně zvyšuje obsah amoniakálního dusíku v kalové vodě (Schuschka et Grube, 2014). Koncentrace amoniakálního dusíku v těchto kalových vodách se běžně pohybuje okolo 800 - 1000 mg N-NH_4^+ /l (Bernat et al., 2012). Za termofilních podmínek stabilizace jsou jeho koncentrace vyšší než za mesofilních podmínek, jelikož při vyšších teplotách dochází k lepší solubilizaci organických látek a snazší přeměně na metan (Schuschka et Grube, 2014). Při zpracování této vody v hlavní

technologické lince čištění představuje množství dusíku přicházející v kalové vodě asi 15 - 20 % celkového obsahu dusíku vstupujícího do čistírny (Bernat et al., 2012). Množství uvolněného amoniakálního dusíku také závisí na použití pre-hydrolytického zpracování, při které je biomasa surového kalu předupravena tak, aby lépe překonala limitující krok anaerobní stabilizace – hydrolyzu. Některé drastičtější pre-hydrolytické technologie tak významně přispívají ke zvyšování koncentrace amoniakálního dusíku v kalové vodě (Schuschka et Grube, 2014).

Důležitými parametry při rozhodování o způsobu nakládání s kalovou vodou je efektivita čištění a celková energetická bilance související s náklady. Při zpracování kalové vody v samostatném proudu čištění je dosaženo větší stability procesu a zvýšení odstranění dusíku až o 11 % (Wett et Alex, 2003).

3.3.2 Způsoby nakládání s kalovou vodou

Pomineme-li možnost navrácení neupravené kalové vody do hlavního proudu technologické linky čištění, může být kalová voda buď dále využita, nebo čištěna v samostatném proudu. Uplatnění nachází například při bioaugmentaci aktivačního procesu, kdy napomáhá dosažení nitrifikace u systémů s nedostatečným stářím kalu. V tomto procesu je do proudu vratného kalu zařazen další reaktor sloužící pro kultivaci mikroorganismů, který je zásobován přítokem s vysokým obsahem dusíku, čímž je dosaženo zvýšení nitrifikační kapacity aktivačního procesu (Salem et al., 2004).

Čištění kalové vody v samostatném proudu obnáší zařazení dalších fyzikálně-chemických či biologických procesů. Pro kalovou vodu z anaerobní stabilizace přichází z biologických procesů, vedle klasické nitrifikace a denitrifikace, v úvahu také zkrácená nitrifikace a denitrifikace, či kombinace zkrácené nitrifikace s dalšími procesy (Kampschreur et al., 2008), viz kapitola 3.2.3. V poslední době je z důvodu ekonomické výhodnosti věnována značná pozornost kombinaci zkrácené nitrifikace a Anammox (van Dongen et al., 2001; Sri Shalini et Joseph, 2012). Vhodný přítok pro Anammox musí mít poměr amoniakálního dusíku a dusitanů 1:1. Galí et al. (2007) docílili vhodného složení odtoku zpracováním kalové vody v režimu semikontinuální kultivace aktivovaného kalu SBR (Sequencing Batch Reactor) nebo procesem SHARON (viz kapitola 3.4.2). Odtok ze systému SHARON se hodí na další zpracování, jelikož stále obsahuje poměrně vysoké koncentrace

amoniakálního dusíku. SHARON totiž selektuje AOB, které mají nízkou afinitu k amoniakálnímu dusíku, což v praxi znamená, že jeho koncentrace ve výstupu je relativně vysoká (van Dongen et al., 2001).

Různé způsoby nakládání s kalovou vodou v samostatném proudu a jejich implementace do většího měřítka jsou v posledních letech intenzivně zkoumány. Jedním ze zásadních problémů při přenesení postupů využívajících zkrácené nitrifikace z laboratoře do praxe je vliv teploty. V praxi je totiž systém vystaven kolísání teplot podle vnějších podmínek prostředí.

3.4 Zpracování kalové vody pomocí zkrácené nitrifikace

Zkrácená nitrifikace kalové vody bývá v praxi provozována převážně při provozní teplotě okolo 30 °C (Yang et al., 2007). Teplota odtoku z mezofilní a termofilní anaerobní stabilizace bývá poměrně vysoká, což je pro udržení zkrácené nitrifikace výhodné. Teplota vody na čistírnách odpadních vod ale během roku v závislosti na počasí kolísá a může se dostat až k hodnotám narušujícím aktivitu mikroorganismů. Při teplotách mezi 10 °C a 20 °C je specifická růstová rychlost (tj. rychlost růstu na jednotku hmotnosti organismů za jednotku času) NOB větší než AOB, což činí problémy při udržení zkrácené nitrifikace u odpadních vod v zimním období (Hellinga et al., 1998). Zpracování kalové vody z anaerobní digesce v samostatném čistícím okruhu může probíhat procesem zkrácené nitrifikace a dalších navazujících procesů. V této práci jsem se zaměřila na dva faktory ovlivňující stabilitu zkrácené nitrifikace u kalové vody – teplotu a zatížení reaktoru dusíkem. Tyto faktory spolu úzce souvisí, protože teplota ovlivňuje fungování biochemických reakcí a má tedy vliv na výkon reaktoru a provozně udržitelné zatížení. Vliv teploty a zatížení budou diskutovány v následujících kapitolách.

3.4.1 Role teplotních podmínek při zkrácené nitrifikaci

Zkrácená nitrifikace využívá rozdílné růstové dynamiky AOB a NOB a její ovlivnění teplotou je pro tento proces zásadní. Rychlost přeměny amoniakálního dusíku na dusitany AOB je obecně mnohem pomalejší než přeměna dusitanů na dusičnany NOB. Pokud nedochází k inhibici NOB, jsou vznikající dusitany prakticky ihned konvertovány na dusičnany. Při posuzování rychlosti klasické nitrifikace může být využito Monodovy kinetiky.

Jelikož limitujícím krokem je nitritace, pracuje pouze s chemickou kinetikou AOB (Henze et al., 2008). Monod stanovil, že specifická růstová rychlost je spojená s koncentrací substrátu v okolí organismu. Tento vztah je vyjádřen takzvanou Monodovou rovnicí (Henze et al., 2008), viz rovnice č. 15.

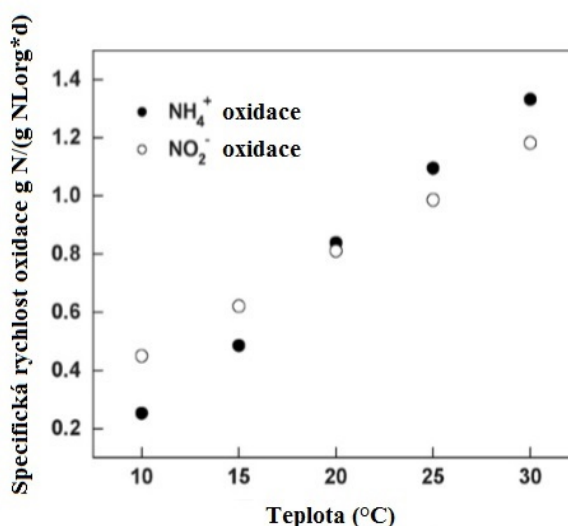
$$\mu_A = \frac{\mu_{Am} \cdot N_a}{K_{nT} + N_a} \quad (15)$$

kde: μ_A ... specifická růstová rychlost za koncentrace amoniaku N_a
 μ_{Am} ... maximální specifická růstová rychlost
 K_{nT} ... poloviční saturační konstanta za určité teploty ve °C
 (tj. Koncentrace, za které je μ_A rovno polovině μ_{Am})
 N_a ... koncentrace amoniaku v nádrži

Konstanty μ_{Am} a K_{nT} jsou citlivé na teplotu, přičemž efekt na μ_{Am} je zvláště silný. Při každém poklesu teploty o 6 °C se μ_{Am} sníží na polovinu, což znamená, že minimální stáří kalu (viz rovnice č. 5) se zdvojnásobí (Henze et al., 2008).

Jak vyplývá z předchozího textu, je z pohledu specifické růstové rychlosti pro AOB možné předstihnout NOB pouze za dostatečně vysokých teplot, takže udržení zkrácené nitrifikace je závislé na teplotě. Ideální teplota pro stabilní zkrácenou nitrifikaci se v různých zdrojích liší a závisí na dalších kontrolních faktorech. Roli také hraje fakt, že AOB a NOB mají různou aktivační energii. Aktivační energie musí být dodána do systému, aby proběhla chemická reakce (Schmidt et al., 2003). Kim et al. (2008) uvádí, že v teplotním rozmezí 10 – 30 °C lze pozorovat dva režimy fungování: při 10 – 20 °C a při 20 – 30 °C. V prvním režimu měly AOB zhruba o polovinu vyšší aktivační energii než ve druhém a v celém rozmezí teplot aktivita AOB lineárně narůstala. Při teplotě 20 °C došlo ke zlomu a začaly se kumulovat dusitany (viz obrázek č. 3). Aktivační energie pro oxidaci dusitanů zůstávala v celém rozmezí teplot konstantní a při překročení 20 °C se zřejmě dostala nad energii pro oxidaci amoniakálního dusíku. Výskyt těchto dvou režimů aktivačních energií závislých na teplotě potvrzují také další autoři (Guo et al. 2010; Qiao et al., 2010; Wu et al., 2012). Z toho vyplývá, že zmíněná teplota nutná pro to, aby AOB vykazovaly vyšší aktivitu než NOB leží okolo 20 °C. Zvyšující se teplota nejen podporuje vyšší růst AOB, ale také zvyšuje rozdíly mezi specifickými růstovými rychlostmi AOB a NOB (Hellingsa et al., 1998; Yang et al., 2007).

Oxidace amoniakálního dusíku probíhá za činnosti dvou enzymů – Ammonia monooxygenázy (AMO), která katalyzuje přeměnu na hydroxylamin NH_2OH , a hydroxylamin oxidoreduktázy (HAO), katalyzující přeměnu hydroxylaminu na dusitany. Změna aktivační energie při změně teploty by mohla být připsána ovlivnění těchto dvou enzymů a změně limitujícího kroku reakce (Kim et al., 2008).



Obrázek č. 3: Specifická míra oxidace amoniakálního dusíku a dusitanů (g N/(g N_{org}·d)) za různých teplot (°C) (Kim et al., 2008)

Teplota je environmentální faktor, který rovněž významně ovlivňuje složení komunity nitrifikačních organismů. Nízká teplota nejen snižuje aktivitu AOB, ale způsobuje i změny v zastoupení jednotlivých skupin a pokles diverzity nitrifikantů (Urakawa et al., 2008; Karkman et al., 2011). Za nízkých teplot se v čistících systémech vyskytují AOB především rodu *Nitrosomonas* a *Nitrosospira* (Siripong et Rittmann, 2007; Ducey et al., 2010; Karkman et al., 2011). Siripong et Rittmann (2007) publikovali studii diverzity nitrifikantů a jejich sezónní změny v sedmi čistírnách odpadních vod. Ačkoli měla tato zařízení různou vstupní vodu, pracovala za různého stáří kalu a různých teplot, měla komunita AOB a NOB v zařízeních s fungující nitrifikací podobnou strukturu. Koexistovali zde nitrifikanti s podobnou funkcí v rámci populace, ale různými požadavky na růst a přežití. Taková mikrobiální komunita je velmi odolná a umožňuje udržet systém v chodu po celý rok i přes sezónní změny v prostředí. V zimních vzorcích byl například z AOB dominantní rod *Nitrosospira*, který byl sice přítomný po celý rok, ale za nižších teplot pravděpodobně prosperoval lépe než většinou

převládající *Nitrosomonas europaea* / *eutropha*. Zachování fungující nitrifikace i při změně složení komunity AOB zaznamenali také další autoři (Rodriguez-Caballero et al., 2012). Ačkoli se u Siripong et Rittmann (2007) zařízení odlišovala ve více směrech (stáří kalu, vlastnosti přítoku), zdála se být teplota jediným činitelem, který ovlivňoval zastoupení nitrifikantů. Také Park et al. (2009) uvádí teplotu jako proměnnou, která v rámci zkoumaných faktorů nejvíce ovlivnila komunitu AOB.

3.4.2 Fungování zkrácené nitrifikace při různých teplotách a teplotních výkyvech

Jak již bylo zmíněno, v praxi je zkrácená nitrifikace provozována při teplotách okolo 30 °C. Výzkum vlivu teploty na zkrácenou nitrifikaci má především dva hlavní směry. První se rovněž zabývá jejím dosažením a udržením při vysokých teplotách nad 25 °C. Druhý pracuje s nastartováním zkrácené nitrifikace za vyšších teplot, následným poklesem teploty a udržením fungujícího procesu při laboratorní či nižší teplotě (Zeng et al., 2009). Příkladem z první kategorie je proces SHARON. SHARON využívá toho, že maximální specifická růstová rychlost AOB je při vyšších teplotách větší než u NOB. Proto je prováděn při vysokých teplotách okolo 30 – 40 °C, takže jsou při aplikovaných teplotách selektovány právě AOB. Dalším důležitým parametrem je vysoké pH v rozmezí hodnot mezi 7 a 8 (Hellings et al., 1998; van Dongen et al., 2001). V lince čištění nenásleduje za aktivačním systémem dosazovací nádrž, jako v klasické technologické lince a kal není vracen do oběhu. Stáří kalu v reaktoru je tedy stejné jako hydraulická doba zdržení čištěné vody. Optimální hydraulická doba zdržení se pohybuje okolo 1,0 – 1,5 dne (van Hulle et al., 2007). NOB se za vyšších teplot nestačí množit tak rychle jako AOB a v kombinaci s velmi krátkou dobou zdržení biomasy jsou z reaktoru vymyty (Sri Shalini et Joseph, 2012). Obecně je SHARON provozován v aktivačním systému s ideálním promícháváním. Ačkoli přináší SHARON v kombinaci s Anammox nebo denitritací (van Dongen et al., 2001; Schmidt et al., 2003) mnoho výhod, a byl aplikován v plném provozu (Mulder et al., 2001), není kvůli závislosti na vysokých teplotách vhodný pro všechny odpadní vody.

Druhý směr výzkumu pracuje s vysokou teplotou na počátku, která umožní namnožení AOB a následným pozvolným snižováním teploty. Yang et al. (2007) docílil v SBR reaktoru stabilní zkrácené nitrifikace při teplotě až 11,9 °C a to postupným poklesem teploty z 25 °C.

Převahy AOB za těchto teplot bylo dosaženo pomocí strategie real-time řízení. Jako regulační parametr byla použita hodnota pH, podle které bylo usuzováno na průběh nitrifikace. Na základě měření pH byla potom řízena aerační perioda tak, aby bylo zamezeno nadbytečnému provdušení, což selektivně inhibovalo NOB. Takto bylo dosaženo stabilní míry akumulace dusitanů, která při nejnižší teplotě 11,9 °C činila 99 %. Zajímavou možností je také kokultivace AOB a Anammox za nízkých teplot, Hu et al. (2013) docílili adaptace tohoto systému v SBR reaktoru na 12 °C a účinnosti odstraňování dusíku okolo 90 %.

3.4.2.1 Zkrácená nitrifikace při teplotách nad 10 °C

Existuje několik metod, jak zajistit fungování zkrácené nitrifikace za nízkých teplot. Jedná se například o bioaugmentaci nitrifikantů do reaktoru nebo imobilizaci biomasy.

Imobilizaci můžeme rozdělit na „přirozeně“ vzniklé biofilmy a uměle imobilizovanou biomasu, jakou je biomasa zachycená v gelu či v granulích (Yan et Hu, 2009). Imobilizace umožňuje zachycení AOB ve velké hustotě. Díky imobilizaci je navíc možné biomasu separovat od čištěné vody a zajistit delší stáří kalu i při krátkých hydraulických dobách zdržení (Isaka et al., 2007). Za velmi nízkých teplot je růstová rychlost AOB malá a bez imobilizace by nebylo možné populaci udržet (Isaka et al., 2007). Díky imobilizaci může být zkrácená nitrifikace provozována také v kontinuálních systémech a v relativně menších reaktorech (Isaka et al., 2008; Yan et Hu, 2009).

Chování systémů s imobilizovanou biomasou je odlišné a celkově je mnohem méně prozkoumáno. Například reaktory pracující s biofilmem mají oproti suspendované biomase některé specifické vlastnosti. Systém se chová jinak z hlediska Monodovy kinetiky (viz kapitola 3.4.1) a působí zde další vlivy jako transport dusíku a kyslíku biofilmem, koncentrační gradient či rychlost difuze (Isaka et al., 2008). Vliv teploty na zkrácenou nitrifikaci je v systému s imobilizovanou biomasou zmírněn, zatímco vliv množství rozpuštěného kyslíku je zřejmě vyšší než v suspendovaných systémech (Yan et Hu, 2009).

Zhu et Chen (2002) nezaznamenali při využití imobilizované biomasy výraznější narušení klasické nitrifikace v teplotním rozmezí 14 – 27 °C. Yan et Hu (2009) pozorovali při teplotách 15 - 35 °C v porovnání s publikovanými experimenty se suspendovanou biomasou zvýšenou produkci dusitanů a nižší aktivační energii, zvláště při teplotě pod 20 °C. Za zmínku stojí, že zde nebyl pozorován zlom v hodnotě aktivační energie při 20 °C, jaký byl zaznamenán u jiných autorů (viz kapitola 3.4.1). Provedení zkrácené nitrifikace za nízké

teploty bylo zkoumáno také v reaktoru s pohyblivým ložem. Bez provozního řízení koncentrace kyslíku, pH či teploty bylo dosaženo zkrácené nitrifikace i při teplotách nižších než 18 °C (Qiao et al., 2010). Naproti tomu Yamamoto et al. (2006) docílili stabilní zkrácené nitrifikace bez regulace pH, teploty či stáří kalu mezi 15 – 30 °C, ale zaznamenal narušení procesu při poklesu teploty pod 15 °C. Po zvýšení hydraulické doby zdržení z 12 hodin na 24 hodin se měl systém tendenci zotavovat.

Další přístup pro udržení nitrifikace za nízkých teplot uvádí Gebert et Wilderer (2000), kteří prováděli experimenty se zahříváním samotného nosiče s biofilmem. Tato metoda se ale neukázala jako efektivní pro zvýšení metabolické aktivity biofilmu a navíc je spojena s vysokými náklady a požadavky na infrastrukturu.

Při srovnání krátkodobého a dlouhodobého vlivu teploty na zkrácenou nitrifikaci v režimu SBR uvádí Guo et al. (2010), že při delším provozu lze dosáhnout stabilní zkrácené nitrifikace při teplotách okolo 12 – 17 °C. Během počáteční fáze se mikrobiální komunita adaptovala na klesající teplotu a její růst byl podpořen limitovanou aerací inhibující NOB. Během dvouměsíčního provozu nízká teplota nenarušila proces zkrácené nitrifikace a nezpůsobila významnější pokles aktivity. Při krátkodobém testu bylo pozorováno zpomalení oxidace amoniakálního dusíku při nízkých teplotách a větší citlivost k teplotě. Rozdíly mezi krátkodobým a dlouhodobým provozem byly přičítány změnám v druhovém složení AOB a celkové struktuře mikrobiální komunity, které mohly proběhnout během delšího pokusu.

3.4.2.2 Zkrácená nitrifikace při teplotách pod 10 °C

Dosažením nitrifikace a částečné nitrifikace za velmi nízkých teplot bez počáteční teplejší fáze se zabývá řada autorů, kteří využívají převážně zmíněné postupy jako je bioaugmentace nebo imobilizace biomasy. Head et Oleszkiewicz (2004) inokulovali biomasu z reaktorů pracujících při 20 °C a aplikovali ji do reaktoru s teplotou 10 °C. Dosáhli tak klasické nitrifikace i při menším než minimálním stáří kalu (viz rovnice č. 5). Bioaugmentace ale vyžaduje konstantní dodávku biomasy, což může být pro některá zařízení problematické (Miazga-Rodriguez et al., 2012). Ducey et al. (2010) uvádí dosažení velmi vysoké rychlosti nitrifikace (tj. hmotnost oxidovaného dusíku vztaženo na objem vody a den) při teplotách až 5 °C. Opakovanou inokulací nitrifikačního kalu využívaného při čištění odtoku z lagun na kejdu byla vytvořena aklimatizovaná mikrobiální komunita pracující i za velmi nízkých teplot. Mikrobiální komunita v reaktoru byla tvořena především rodem *Nitrosomonas* -

nejběžnějšími druhy nalézajícími se v aktivovaném kalu *Nitrosomonas europaea* a *Nitrosomonas eutropha*, a dále psychrotolerantními druhy bakterií (například rodu *Thermomonas*, *Lysobacter* či *Sejongia*). Navíc zde neprobíhala klasická nitrifikace na dusičnany, ale pouze zkrácená nitrifikace. Ducey et al. (2010) nabízí dvě možná vysvětlení pro udržení vysoké aktivity AOB za teplot až 5 °C. Populace AOB se mohla na nízké teploty adaptovat pomocí stresových mechanismů (viz další text). Dalším možným vysvětlením je, že ostatní mikroorganismy ve směsi vytvořily prostředí, které umožnilo AOB udržet vysokou aktivitu. Látky, vylučované psychrotolerantními a psychrofilními druhy bakterií obsaženými v reaktoru mohou být potenciálně využitelné pro AOB. Například Kim et Yim (2007) zaznamenali u bakterií pocházejících z antarktidy produkci kryoprotektivních látek, které zvyšovaly možnost přežití běžných bakterií.

Isaka et al. (2007) v experimentu s biomasou imobilizovanou na gelovém nosiči testovali dosažení nitrifikace za teploty 10 °C. Aktivita nitrifikačních organismů byla zaznamenána až po tříměsíčním zapracování. Po další rok byla udržena stabilní, a vzhledem k dané teplotě vysoká, rychlost nitrifikace. Ani v tomto případě se nejednalo o klasickou nitrifikaci a systém produkoval dusitany. Vzhledem k tomu, že reaktor byl dostatečně zásobován kyslíkem a kal setrval ve směsi neustále, byla inhibice aktivity NOB přičítána vlivu FA. Koncentrace FA se pohybovala mezi 0,2 a 0,6 mg/l, což odpovídá hodnotě inhibující pouze NOB (Anthonisen et al., 1976). Dominantním rodem AOB byl rod *Nitrosomonas*.

Miazga-Rodriguez et al. (2012) testovali fungování nitrifikace po přidání zeolitu s biofilmem do systému pracujícím při 4 °C. Zeolit je hlinitokřemičitý minerál s velkým specifickým povrchem, který je dobře kolonizovatelný nitrifikačními organismy. Jeho následná aplikace výrazně zvýšila konverzi amoniakálního dusíku na dusitany a nitrifikační aktivita vykazovala pozitivní korelaci s množstvím přidaného zeolitu.

3.4.2.3 Zkrácená nitrifikace a náhlé teplotní výkyvy

Jak plyne z předchozího textu, stabilní zkrácené nitrifikace lze dosáhnout při teplotách okolo 25 °C a u řady autorů jí bylo dosaženo také při pozvolném snižování teploty až ke 12 °C. Oblast náhlých teplotních výkyvů je méně prozkoumána. Při náhlých teplotních změnách je třeba uvažovat větší dopad na rychlost biologických reakcí než u pozvolných změn. Ukazuje se, že u výpočtu závislosti rychlosti reakcí na teplotě pomocí tzv. Arrheniovy

rovnice, je třeba použít vyšší teplotní korekční faktor v rámci odhadu vlivu náhlých teplotních změn, než u změn pozvolných. V opačném případě by mohlo dojít k přecenění růstové rychlosti nitrifikantů a jejich vymytí ze systému (Hwang et Oleszkiewicz, 2007). Pokud se organismus nachází v prostředí, kde jsou podmínky mimo jeho optimální hodnoty, je v buňkách vyvolána stresová reakce. Ta je většinou směřována na přežití a aklimatizaci, nikoli na růst. Za nízkých teplot se prodlužuje lag fáze předcházející dělení buňky, čímž se zpomaluje růst a vzniká méně nových buněk. Buňka se přizpůsobuje nepříznivým podmínkám například změnou ve složení lipidických buněčných membrán, v nichž se zvyšuje podíl nenasycených mastných kyselin a je umožněno zachování její funkce. Další reakcí je například změna genová exprese, která zahrnuje produkci aklimatizačních a cold-shock proteinů (Beales, 2004).

Působením náhlých teplotních výkyvů na nitrifikační organismy a procesem klasické nitrifikace se zabýval Head et Oleszkiewicz (2004). Biomasa aklimatizovaná na teploty 20 °C, 25 °C a 30 °C byla prudce ochlazená na teplotu 10 °C. V jednotlivých případech došlo k poklesu rychlosti nitrifikace o 58 – 82 %, ale ve všech případech byla nitrifikace při dalším provozu systému zachována. Nejméně byl zasažen reaktor původně provozovaný při 20 °C. Hwang et Oleszkiewicz (2007) zaznamenali významný pokles rychlosti nitrifikace po prudkém snížení teploty z 20 °C na 10 °C, ale hned druhý den po teplotním šoku se fungování nitrifikace začalo obnovovat.

3.4.3 Vliv teploty na inhibici FA a FNA

Jak je zřejmé z kapitoly 3.2.2.1, při zkoumání vlivu teploty na zkrácenou nitrifikaci je třeba brát v úvahu také vliv FA a FNA. Vztah koncentrace FA, FNA a teploty popisuje řada autorů. Jak vyplývá z rovnic č. 12 a 13 (viz kapitola 3.2.2.1), koncentrace FA s rostoucí teplotou stoupá a koncentrace FNA naopak klesá.

Tento vztah ilustrují například výsledky, které uvádí Gabarró et al. (2012). V experimentu zaznamenali silnou teplotní závislost inhibice aktivity AOB způsobenou FA a FNA. V reaktorech o teplotách 25 °C a 35 °C s podobnou výchozí koncentrací amoniakálního dusíku a dusitanů byl při 25 °C FA hlavním zdrojem inhibice AOB, zatímco při 35 °C působila kombinace vlivu FA a FNA.

Wu et al. (2012) zkoumali chování dvou systémů při teplotách v rozmezí 10 – 30 °C a pěti různých koncentracích FA. První systém pracoval s kalem ve formě vloček a druhý ve

formě takzvaných aerobních granulí. K inhibici oxidace amoniakálního dusíku docházelo při nejvyšší koncentraci FA 90 mg/l a teplotě 10 °C. Inhibice oxidace byla ale za nejvyšší koncentrace FA mnohem menší při 30 °C než při 10 °C, což indikuje, že vyšší teplota zmírňovala toxický efekt FA na AOB. Jako odolnější vůči vlivu FA se zde ukázal systém s granulární biomasou (viz tabulka č. 2).

Teplota (°C)	Míra inhibice (%)	
	Granule	Vločky
30	7.5	18
20	10	25
10	52.5	99

Tabulka č. 2: Míra inhibice oxidace amoniaku při koncentraci FA 90 mg/L
(Wu et al., 2012)

3.4.4 Vliv zatížení reaktoru dusíkem na fungování nitrifikace

Zatížení reaktoru dusíkem ovlivňuje nitrifikační systémy v několika směrech. Zatížení dusíkem ovlivňuje účinnost nitrifikace a vysoké zatížení může vést k zastavení nitrifikace ve fázi dusitanů. Příčinou může být hromadění meziproduktů reakce, především hydroxylaminu (Yang a Alleman, 1992). Při vysokém zatížení se také může vlivem dalších podmínek zvyšovat význam inhibice FA a FNA (Okabe et al., 2011; Kouba et al., 2014). Je zesílen vliv koncentrace kyslíku, jelikož při stejném zásobení kyslíkem a větším zatížení je kyslík rychle spotřebováván vně kalové vločky a dovnitř ho pronikne méně. Je třeba také připomenout, že zatížení dusíkem není pouze otázkou samotné koncentrace dusíku ve vstupní vodě, ale závisí dále na intenzitě průtoku v reaktoru.

Koncentrace amoniakálního dusíku v reaktoru se projevuje na složení komunity AOB (Sui et al., 2014), tedy obdobně jako teplota (viz kapitola 3.4.1). Stejný zdroj uvádí, že při nízké koncentraci amoniakálního dusíku jsou aktivnější druhy s vyšší afinitou k substrátu, zatímco za vysokých koncentrací se projevují druhy s vysokou i nízkou afinitou. Při klesající koncentraci amoniakálního dusíku byl zaznamenán nárůst aktivity *Nitrosomonas eutropha*.

Při čištění kalové vody z anaerobní stabilizace kalu, která má vysoký obsah amoniakálního dusíku, lze zatížení využít pro podpoření zkrácené nitrifikace. Švehla a kol.

(2010) během dlouhodobých testů s kalovou vodou dosáhli téměř úplné oxidace amoniakálního dusíku na dusitany při objemovém zatížení 1,6 kg N/(m³·d). Prudké snížení zatížení vedlo k hromadění dusičnanů. V této studii je také navržena minimální hodnota objemového zatížení dusíkem pro udržení zkrácené nitrifikace 0,3 kg N/(m³·d), přičemž je třeba si uvědomit, že při postupné adaptaci organismů je nutné zatížení zvýšit. Okabe et al. (2011) uvádí dosažení zkrácené nitrifikace při vysokém objemovém zatížení (nad 1 kg N/(m³·d)) a při vysokém pH okolo 8. Vysoké pH napomáhá akumulaci dusitanů díky zvyšování podílu FA a její inhibici NOB. Klasická nitrifikace zde byla pozorována při poklesu zatížení pod 0,5 kg N/(m³·d).

Otázka fungování systému se zkrácenou nitrifikací při nízké teplotě a současně vysokém zatížení je další zajímavou problematikou spojenou s využitím zkrácené nitrifikace v praxi, protože by umožnilo další zlepšení ekonomiky provozu. Příkladem může být Qiao et al. (2010), kteří uvádějí dosažení vysoké míry akumulace dusitanů za velmi vysokého zatížení 5,45 kg N/(m³·d) při teplotě 18 °C. Při nízkých provozních teplotách ale hrozí přetížení systému, protože aktivita organismů při nízké teplotě klesá. Otázkou také zůstává udržení účinnosti těchto systémů při náhlých a pozvolných teplotních skocích.

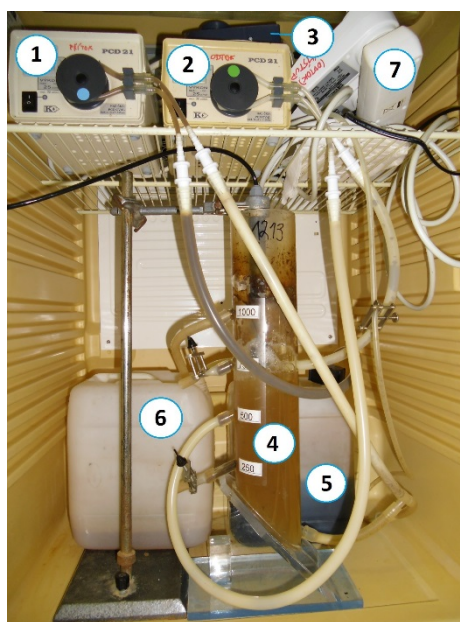
4 Metodika

V metodické části je popsáno uspořádání, zapojení a způsob provozu laboratorního modelu biologického reaktoru, který byl použit pro provedení experimentu. Dále jsou zde popsány analytické metody, kterými byly stanoveny rozhodující parametry vstupní a výstupní kalové vody.

4.1 Popis laboratorního modelu

Experiment byl proveden v laboratoři KAVR ČZU. Samotný laboratorní model, který simuloval zkrácenou nitrifikaci, pracoval v režimu SBR, tedy semikontinuální kultivace biomasy. Zpracovávaná kalová voda, vzniklá odvodněním anaerobně stabilizovaného kalu, pocházela z Ústřední čistírny odpadních vod Praha (ÚČOV Praha). Důležité parametry vstupní kalové vody shrnuje tabulka č. 6.

Uspořádání modelu zobrazuje obrázek č. 4. Celý systém byl umístěn v termostátované skříni, což umožňovalo regulaci teploty. Reaktor o objemu 0,75 l byl vyroben z plexiskla a biomasa v něm byla kultivována v suspendované formě. Přisun surové kalové vody silikonovými hadičkami do reaktoru a odčerpávání předčištěné vody zajišťovala dvě peristaltická čerpadla. Přívod kyslíku byl realizován formou hrubobublinné aerace za pomoci akvaristického aeračního motorku. Aerace a čerpání kalové vody v daných cyklech (viz tabulka č. 3) bylo řízeno časovými spínači.



Obrázek č. 4: Fotografie laboratorního modelu v termostátované skříni

- 1 ... peristaltické čerpadlo (přítok)
- 2 ... peristaltické čerpadlo (odtok)
- 3 ... aerační motorek
- 4 ... biologický reaktor
- 5 ... zásobník surové kalové vody přitékající do reaktoru
- 6 ... zásobník kalové vody předčištěné v reaktoru
- 7 ... časové spínače

4.2 Podmínky experimentu

Experiment probíhal za následujících specifických podmínek:

- Systém provozovaný v režimu SBR měl dva dvanácti hodinové cykly za den. Cykly zahrnovaly vždy čtyři fáze, které se periodicky opakovaly. Popis jednotlivých fází viz tabulka č. 3.

fáze cyklu	popis	doba trvání
1.	čerpání kalové vody	10 min
2.	pracovní fáze, aerace	11 hod, 20 min
3.	usazování kalu	20 min
4.	odtok předčištěné vody	10 min

Tabulka č. 3: Fáze cyklu SBR reaktoru

- Reaktor byl provozován v režimu SBR od roku 2011 (Hrnčířová a kol., 2013) a při uvedení do provozu byl zaočkován směsí kalové vody a vratného aktivovaného kalu z ÚČOV v Praze v poměru 1:1,5. Reaktor byl převzat k provedení pokusu v rámci této diplomové práce ode dne 29.1.2013.
- Hodnota pH, koncentrace rozpuštěného kyslíku nebyly limitovány. Přebytný kal nebyl z reaktoru odváděn, nedocházelo tedy k řízené limitaci stáří kalu. Je ale třeba brát v úvahu, že určitá část kalu odcházela z reaktoru spolu s předčištěnou kalovou vodou.
- Teplota byla v průběhu pokusu regulována a jednotlivé teplotní režimy jsou shrnuty v tabulce č. 4. Potřebné teploty bylo dosaženo regulací teploty nastavené v termostatované skříni.

- Zatížení dusíkem a hydraulická doba zdržení se v průběhu pokusu měnily. Hodnoty nastavené v jednotlivých etapách zobrazuje tabulka č. 4.

Číslo etapy	Období	Dny od zahájení pokusu	Teplota nastavená [°C]	Objemové zatížení nastavené [kg N/(m ³ ·d)]	Hydraulická doba zdržení, průměr [dny]
I	29.1.2013 – 14.2.2013	0 - 16	25	0,4	2,8
II	15.2.2013 – 3.3.2013	17 - 33	18	0,4	2,7
III	4.3.2013 – 19.5.2013	34 - 110	25	0,8	2,2
IV	20.5.2013 – 30.6.2013	111 - 152	18	0,8	2,4
V	1.7.2013 - 29.7.2013	153 - 181	25	1,0	1,7
VI	30.7.2013 – 9.9.2013	182 - 223	18	1,0	1,3
VII	10.9.2013 – 28.10.2013	224 - 272	25	1,2	0,9
VIII	29.10.2013 – 2.12.2013	273 - 307	18	1,2	1

Tabulka č. 4: Harmonogram teplotních režimů a zatížení dusíkem v etapách pokusu.

- Charakteristika použité kalové vody

Kalová voda použitá pro experiment byla odebírána z ÚČOV Praha podle aktuální potřeby jednou za měsíc až dva měsíce a na ČZU byla uchovávána mimo laboratoř, při venkovní teplotě. V kalové vodě byla při odběru provedena základní analytická stanovení (hodnoty vybraných parametrů viz tabulka č. 5).

	pH	N-amon [mg/l]	CHSK _{odstř.} [mg/l]	NL [g/l]	RL [g/l]	P _{celk.} [mg PO ₄ ³⁻ /l]
Průměr	8,31	1428	1804	1,33	1,95	139
Směrodatná odchylka	0,09	221	226	0,73	0,33	36

Tabulka č. 5: Parametry vstupní kalové vody

4.3 Analytická stanovení

V rámci experimentu byly analyticky stanovovány hodnoty níže uvedených parametrů:

- teplota [°C]
- hodnota pH
- koncentrace rozpuštěného kyslíku [mg/l]
- koncentrace anorganických forem dusíku: N-amon, N-NO₃⁻, N-NO₂⁻ [mg/l]
- CHSK (chemická spotřeba kyslíku) [mg/l]

- VL (veškeré látky), NL (nerozpuštěné látky), RL (rozpuštěné látky) [g/l]
- ztráta žiháním: VL_{org}, NL_{org}, RL_{org}, RAS (rozpuštěné anorganické soli) [g/l]

Ke stanovení bylo využito následujícího vybavení:

- termostatovaná skříň Lovibond
- odstředivka Hettlich - Rotina 420
- kyslíková sonda WTW Oxi 340i
- pH metr WTW pH 340i
- měřicí systém Magic XBC, měřicí hlavice a elektrody pro měření hodnoty pH od firmy GRYF HB, spol. s.r.o.
- mineralizační box Hach DRB 200
- spektrofotometr HACH DR/4000
- analytické váhy DENVER INSTRUMENT SL-234 a SL-2002
- topná ploténka STUART CB 500
- sušárna BMT, typ ECOCELL
- elektrická muflová pec ELSKLO, spol s.r.o.
- mechanické pipety Eppendorf, laboratorní sklo
- potřebné chemikálie

Rozbory odebraných vzorků vody byly prováděny jedenkrát týdně, s výjimkou stanovení VL, NL, RL a ztráty žiháním, které bylo prováděno jedenkrát za dva až tři týdny. Pracovalo se se vzorky vstupní vody (vstup) - tj. vody ze zásobníku, dále vody vystupující z reaktoru po usazovací fázi (výstup) a aktivační směsi z reaktoru, odebrané během aerační fáze. Většina použitých metod vyžadovala odstředění vzorku a tím zajištění přítomnosti pouze rozpuštěných látek. K odstředění byla použita odstředivka Hettlich - Rotina 420 a vzorky byly centrifugovány po dobu 12 minut, při 9500 otáčkách/min.

4.3.1 Stanovení hodnoty pH, koncentrace rozpuštěného kyslíku, teploty a průtoku

Hodnoty pH, koncentrace rozpuštěného kyslíku a teploty byly stanovovány bez odstředění vzorku přímo ve vstupu a v reaktoru. Hodnoty odečítané v reaktoru byly vždy dvě

– první krátce před koncem aerace jednoho cyklu a druhá po započetí aerace následujícího cyklu.

Hodnota pH byla měřena přenosným pH-metrem WTW pH 340i, v reaktoru byla navíc ověřována ještě měřicím systémem Magic XBC. Koncentrace rozpuštěného kyslíku byla měřena přenosným oxi-metrem WTW oxi 340i, který zároveň měřil také teplotu. Průtok byl stanoven pomocí odměrného válce naplněného vstupní vodou, ze kterého systém odčerpával vodu během čerpací fáze.

4.3.2 Stanovení koncentrace anorganických forem dusíku

Stanovení sloučenin dusíku bylo prováděno v odstředěném vzorku po adekvátním naředění demineralizovanou vodou. Vzorky pro stanovení N-amon a N-NO₂⁻ byly připraveny ředící řadou v odměrných baňkách. Vzorky pro stanovení N-NO₃⁻ byly připraveny v příslušném ředicím poměru ve skleněných vialkách. K naředěným vzorkům byla přidána příslušná činidla a po vybarvení byly stanovovány spektrofotometricky na přístroji HACH DR/4000.

4.3.2.1 Koncentrace N-amon

Koncentrace N-amon byla měřena ve vstupní a výstupní vodě. Použita byla indofenolová metoda dle Horákové et al. (2003). Metoda využívá reakci amoniaku, chlornanu a salicylanu za vzniku sloučeniny indofenolového typu. Vzorky byly naředěny tak, aby se koncentrace N-amon pohybovala v měrném intervalu spektrofotometru 0,1 – 1,0 mg/l. Koncentrace byla odečtena ze vzorku v hranaté 1 cm kyvetě při vlnové délce 655 nm.

4.3.2.2 Koncentrace N-NO₂⁻

Stanovení koncentrace N-NO₂⁻ bylo prováděno ve vzorku výstupní vody. Vzorek byl naředěn tak, aby koncentrace N-NO₂⁻ byla v intervalu 0,025 – 0,15 mg/l. Po naředění bylo aplikováno vybarvovací činidlo tvořené amidem kyseliny sulfanilové a N-(1-naftyl)-1,2-ethylendiamindihydrochloridem (Horáková et al., 2013). Koncentrace byla odečtena u vzorku v jednopalcové kyvetě při vlnové délce 540 nm.

4.3.2.3 Koncentrace N-NO₃⁻

Stanovení koncentrace N-NO₃⁻ bylo prováděno ve vzorku výstupní vody. Vzorek, naředěný do intervalu cílové koncentrace 1,0 – 12,0 mg/l, byl proměřován ve skleněné vialce s 2, 6-dimethylfenolem dle Horákové et al. (2003), při vlnové délce 324 nm.

4.3.3 Stanovení CHSK

Hodnota CHSK byla stanovována v odstředěných vzorcích vstupní a výstupní vody spektrofotometricky na přístroji HACH DR/4000. Byla použita modifikovaná dichromanová semimikrometoda (Horáková et al., 2003). Vzorky pro stanovení byly naředěny do koncentrace v intervalu 50 – 800 mg/l a koncentrace byla odečítána při vlnové délce 600 nm.

V případě hodnoty CHSK stanovené ve vzorku výstupní vody bylo třeba použít korekci pro chybu způsobenou oxidací dusitanů. Vzorec pro výpočet zobrazuje rovnice č. 16.

$$\text{CHSK}_v = \text{CHSK}_n - (1,1422 * \text{N-NO}_2^-) \quad (16)$$

4.3.4 Stanovení koncentrace VL, NL, RL a ztráty žíháním

Tato stanovení byla prováděna v odstředěných a homogenizovaných vzorcích vstupní vody, výstupní vody a aktivační směsi z reaktoru. Hodnoty VL, NL a RL byly stanoveny gravimetricky dle Horákové et al. (2013). Hodnoty VL_{org}, NL_{org}, RL_{org} a RAS byly stanoveny metodou ztráty žíháním (Horáková et al., 2013).

4.4 Výpočty použité pro určení sledovaných parametrů

Pro vyhodnocení výsledků výzkumu bylo použito následující parametrů:

- Hydraulická doba zdržení kalové vody (Θ)

$$\Theta = V / Q \quad [\text{dny}] \quad (17)$$

V ... objem nádrže [m³]

Q ... průtok kalové vody na vstupu do reaktoru [m³/den]

- Objemové zatížení reaktoru (B_V)

$$B_V = (Q * \rho_1) / V = \rho_1 / \Theta \quad [\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})] \quad (18)$$

ρ_1 ... koncentrace znečištění (N-amon, CHSK) v kalové vodě [kg/m^3]

- Zatížení aktivovaného kalu (B_{X-N})

$$B_{X-N} = B_V / \rho_{N\text{Lorg}} \quad [\text{kg N}/(\text{kg} \cdot \text{d})] \quad (19)$$

$\rho_{N\text{Lorg}}$... koncentrace N_{Lorg} v aktivační směsi [kg/m^3]

- Objemová rychlost odstraňování znečištění (r_V)

$$r_V = (\rho_1 - \rho_2) / \Theta \quad [\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})] \quad (20)$$

ρ_2 ... koncentrace znečišťující látky (N-amon, CHSK) ve výstupu z reaktoru [kg/m^3]

- Specifická rychlost odstraňování dusíku (r_{X-N})

$$r_{X-N} = (\rho_1 - \rho_2) / [\Theta * \rho_{N\text{Lorg}}] = r_V / \rho_{N\text{Lorg}} \quad [\text{kg N}/(\text{kg} \cdot \text{d})] \quad (21)$$

- Zastoupení $N\text{-NO}_2^-$ mezi oxidovanými formami dusíku ve výstupu z reaktoru ($\%_{N\text{-NO}_2^-}$)

$$\%_{N\text{-NO}_2^-} = [N\text{-NO}_2^- / (N\text{-NO}_2^- + N\text{-NO}_3^-)] * 100 \quad (22)$$

$N\text{-NO}_2^-$... koncentrace $N\text{-NO}_2^-$ ve výstupu

$N\text{-NO}_3^-$... koncentrace $N\text{-NO}_3^-$ ve výstupu

- Účinnost odstranění N-amon ($E_{N\text{-amon}}$) a CHSK (E_{CHSK})

$$E_{N\text{-amon}} = [(N\text{-amon}_{\text{vstup}} - N\text{-amon}_{\text{výstup}}) / N\text{-amon}_{\text{vstup}}] * 100 \quad [\%] \quad (23)$$

$$E_{\text{CHSK}} = [(CHSK_{\text{vstup}} - CHSK_{\text{výstup}}) / CHSK_{\text{vstup}}] * 100 \quad [\%] \quad (24)$$

$N\text{-amon}_{\text{vstup}}$, $N\text{-amon}_{\text{výstup}}$... koncentrace N-amon ve vstupu a výstupu

$\text{CHSK}_{\text{vstup}}$, $\text{CHSK}_{\text{výstup}}$... koncentrace CHSK ve vstupu a výstupu

- Koncentrace FA a FNA

Viz rovnice č. 12 a 13 v kapitole 3.2.2.1.

- Koncentrace N-amon ($N\text{-amon}_{\text{reaktor}}$) a $N\text{-NO}_2^-$ ($N\text{-NO}_2^-_{\text{reaktor}}$) v reaktoru na začátku cyklu

$$N\text{-amon}_{\text{reaktor}} = (N\text{-amon}_{\text{výstup}} * x + N\text{-amon}_{\text{vstup}} * V_{\text{cyklus}}) / V \quad [\text{mg/l}] \quad (25)$$

$$N\text{-NO}_2^-_{\text{reaktor}} = (N\text{-NO}_2^-_{\text{výstup}} * x + N\text{-NO}_2^-_{\text{vstup}} * V_{\text{cyklus}}) / V \quad [\text{mg/l}] \quad (26)$$

$N\text{-NO}_2^-_{\text{vstup}}$, $N\text{-NO}_2^-_{\text{výstup}}$... koncentrace $N\text{-NO}_2^-$ ve vstupu a výstupu [mg/l]

V ... objem reaktoru [l]

x ... objem vody, který zůstává v reaktoru po odtoku [l]

V_{cyklus} ... objem vody, který přiteče do reaktoru během jednoho cyklu [l]

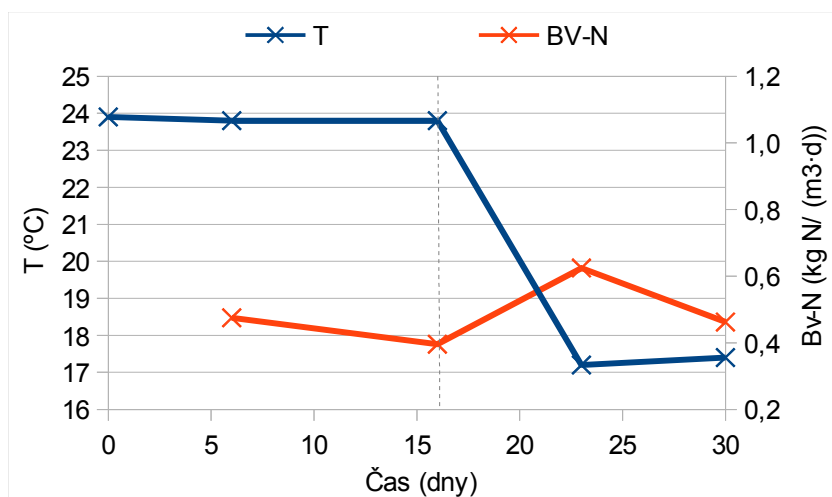
Vzhledem k vysokým koncentracím N-amon ve zkoumané kalové vodě je v této práci považováno znečištění dusíkem odpovídající znečištění N-amon. Proto je v parametrech či jednotkách s označením „N“ (např. $B_V\text{-N}$ či $\text{kg N}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$) odkazováno na koncentrace amonného dusíku.

5 Výsledky

V této kapitole jsou popsány výsledky získané v průběhu experimentu. Výsledky jsou rozděleny do čtyř částí. Každá část zahrnuje dvě po sobě následující etapy pokusu, které se nelišily nastaveným objemovým zatížením dusíkem v reaktoru (B_V-N), ale došlo mezi nimi k poklesu nastavené teploty z 25 °C na 18 °C. To nám umožnilo sledovat vliv téhož teplotního výkyvu na systém s různým B_V-N . Podkapitoly jsou řazeny od nejnižšího k nejvyššímu B_V-N . Podrobný rozpis etap se nachází v tabulce č. 4 v kapitole 4.2. V podkapitolách 5.1. - 5.4. je pro každou část graficky zobrazen průběh těchto parametrů: naměřená teplota a B_V-N , hodnoty pH na začátku a konci cyklu, koncentrace forem dusíku na odtoku a zastoupení $N-NO_2^-$ mezi oxidovanými formami dusíku na odtoku, účinnost odstranění N-amon a CHSK, objemová rychlost odstraňování dusíku, koncentrace FA a FNA. Uváděny jsou průměrné hodnoty, v příloze č. 1 je možné najít hodnoty průměru včetně směrodatné odchylky.

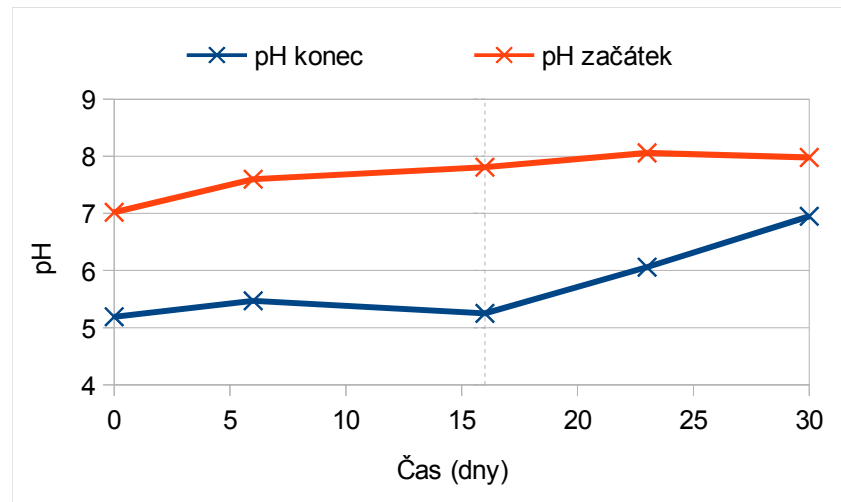
5.1 Etapy I a II

V etapách I a II bylo B_V-N nastaveno na nejnižší sledovanou hodnotu v rámci pokusu, tedy na 0,4 kg N/(m³·d). Naměřené B_V-N dosahovalo v etapě I v průměru 0,44 kg N/(m³·d) a v etapě II 0,54 kg N/(m³·d). Průměrná reálná teplota v reaktoru byla v etapě I 23,8 °C a v etapě II 17,3 °C. Průběh obou parametrů je vidět na obrázku č. 5.

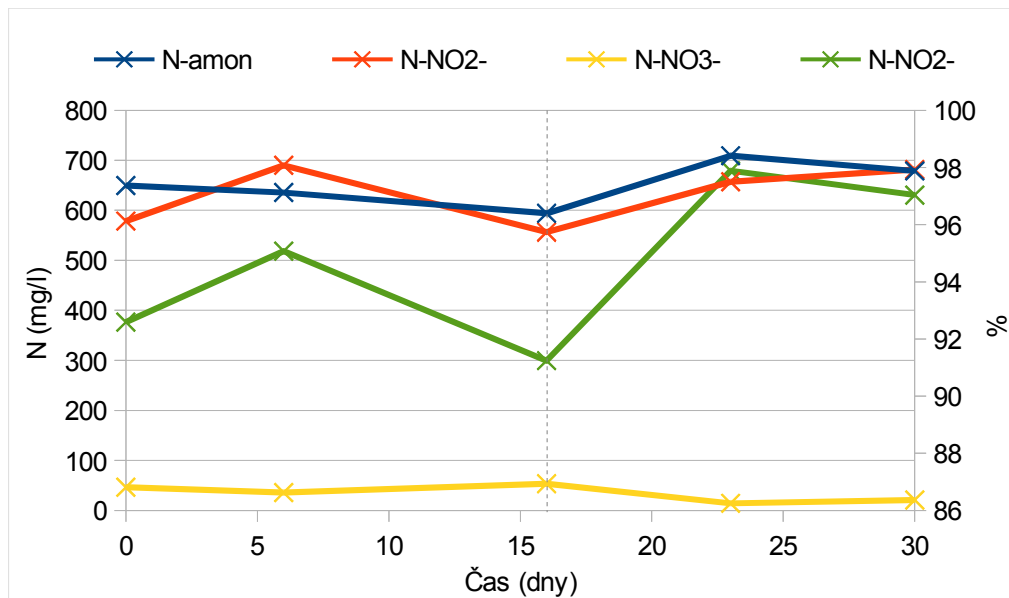


Obrázek č. 5: Teplota a B_V-N v etapách I a II

Hodnota pH na začátku cyklu byla v etapě I průměrně 7,5 a v etapě II 8,0. Na konci cyklu byla průměrná hodnota pH etapy I 5,3. V etapě II hodnota pH na konci cyklu po snížení teploty narůstala – z hodnoty 5,3 ve dni 16 až na 7,0 ve dni 30 (viz obrázek č. 6). Průměrné pH na konci cyklu v etapě II bylo 6,5.



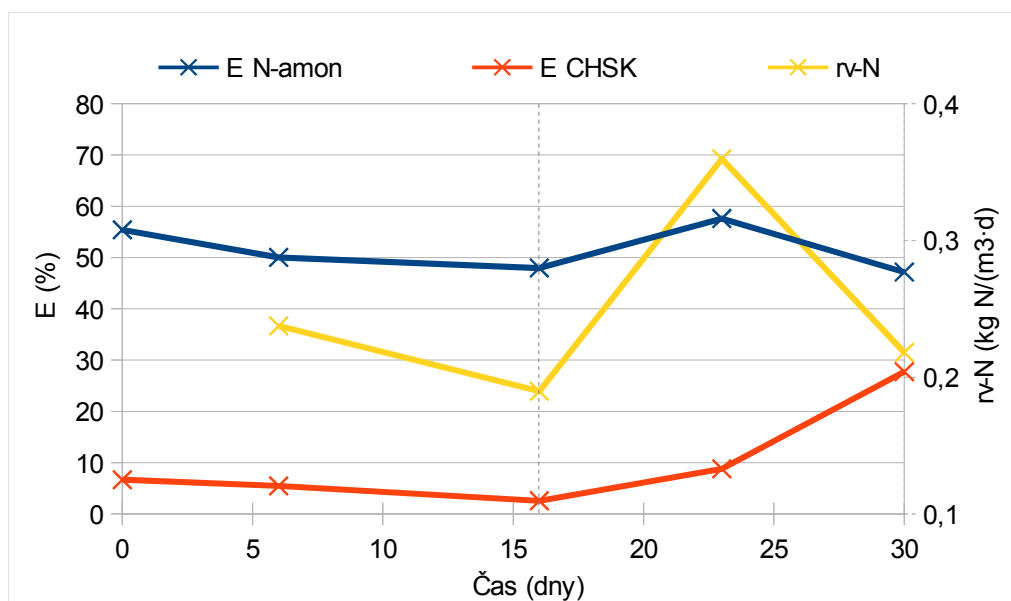
Obrázek č. 6: Hodnoty pH před koncem a na začátku cyklu v etapách I a II



Obrázek č. 7: Zastoupení forem dusíku v odtoku a zastoupení N-NO₂⁻ mezi oxidovanými formami dusíku v etapách I a II

Obrázek č. 7, na kterém jsou znázorněny koncentrace forem dusíku na odtoku ukazuje, že během etap I a II byly v odtoku majoritně zastoupeny formy N-amon a N-NO₂⁻. Koncentrace N-amon a N-NO₂⁻ na odtoku v etapě I byly průměrně 626 mg/l, respektive 694 mg/l. Koncentrace N-NO₃⁻ byly v porovnání velmi nízké, průměr dosahoval 45 mg/l. Také v etapě II byly průměrné koncentrace N-amon a N-NO₂⁻ vysoké, a to konkrétně 694 mg/l a 669 mg/l. N-NO₃⁻ se vyskytoval v nízkých koncentracích, v průměru 18 mg/l. Jak je rovněž vidět z obrázku č. 7, mezi oxidovanými formami dusíku jednoznačně převládal NO₂⁻. V etapě I se jeho zastoupení pohybovalo na průměru 93 %, v etapě II 97 %.

Účinnost odstranění N-amon a CHSK ukazuje obrázek č. 8. Účinnost odstranění N-amon byla stabilní - v průběhu etapy I průměrně 52 % a během etapy II 52 %. Účinnost odstranění CHSK dosahovala průměrně 6 % v etapě I a 18 % v etapě II. Objemová rychlost odstraňování dusíku $r_v\text{-N}$ v etapě I byla průměrně 0,21 kg N/(m³·d). V etapě II byl zaznamenán výkyv po snížení teploty, kdy ve dni 23 $r_v\text{-N}$ prudce narostla na 0,36 kg N/(m³·d) a ve dni 30 opět klesla na 0,22 kg N/(m³·d). Průměrná rychlost v etapě II byla 0,29 kg N/(m³·d). Grafické znázornění průběhu hodnot $r_v\text{-N}$ se nachází na obrázku č. 8.

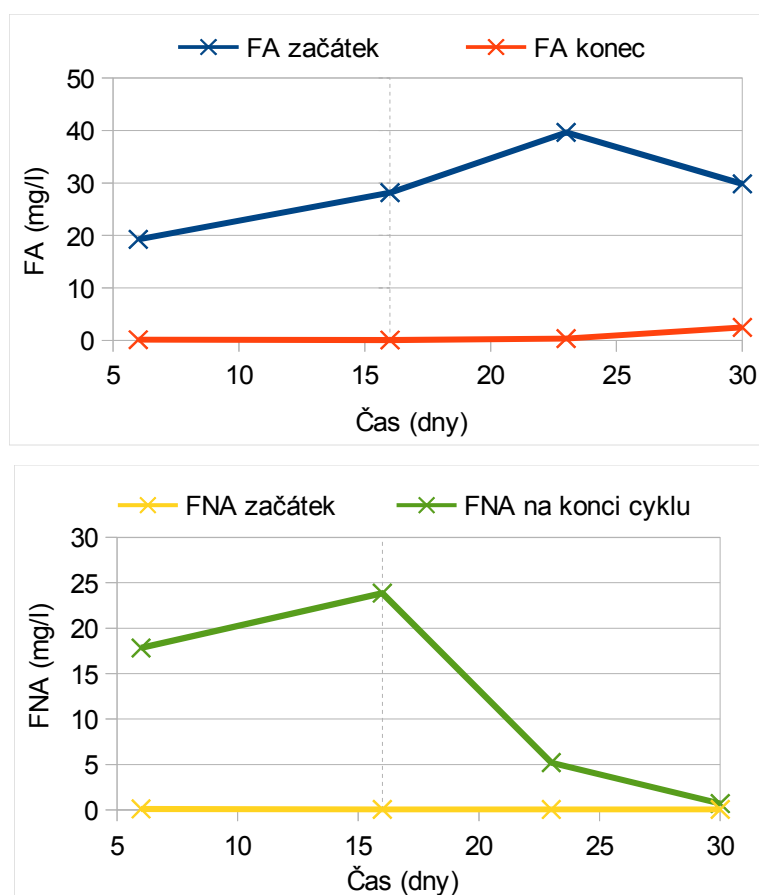


Obrázek č. 8: Účinnost odstranění N-amon a CHSK a objemová rychlost odstraňování dusíku v etapách I a II

Koncentrace FA a FNA jsou vidět na obrázku č. 9. Pro lepší přehlednost jsou průměrné hodnoty shrnuty v tabulce č. 6. Jak je z nich patrné, na začátku etapy II došlo k mírnému nárůstu koncentrace FA na začátku cyklu z 28,1 mg/l na 39,6 mg/l, přičemž FNA na konci cyklu v tomto období prudce poklesla z 23,9 mg/l na 5,2 mg/l.

	FA začátek cyklu [mg/l]		FA konec cyklu [mg/l]		FNA začátek cyklu [mg/l]		FNA konec cyklu [mg/l]	
	I	II	I	II	I	II	I	II
průměr	23,7	34,7	0,1	1,4	0,08	0,05	20,8	2,9

Tabulka č. 6: Koncentrace FA a FNA v průběhu etap I a II



Obrázek č. 9: Zastoupení FA a FNA v průběhu etap I a II

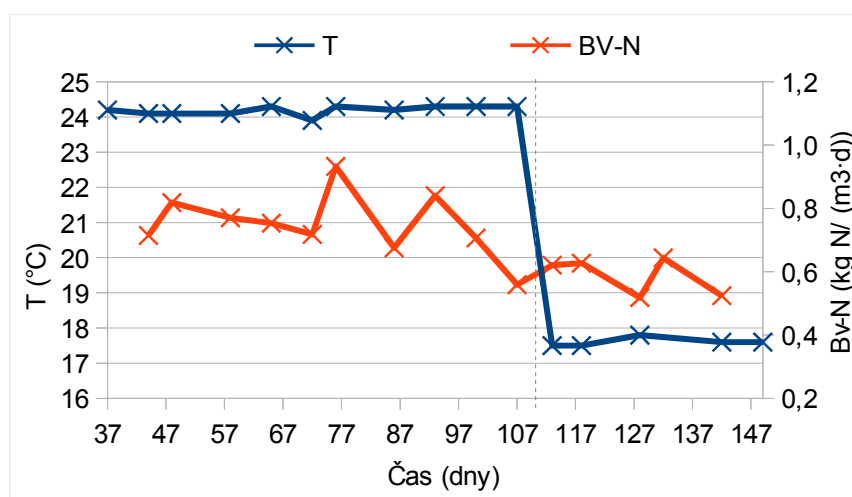
Tabulka č. 7 shrnuje další parametry procesu během etap I a II. Koncentrace kalu byla v těchto etapách nejnižší z celého pokusu. Koncentrace rozpuštěného kyslíku na začátku i na konci cyklu byla vysoká – okolo 6 mg/l.

	NL [kg/m ³]	NL _{org} [kg/m ³]	B _x -N [kg N/(kg·d)]	r _x -N [kg N/(kg·d)]	O ₂ začátek [mg/l]	O ₂ konec [mg/l]
průměr	0,88	0,82	0,67	0,36	5,6	6,5

Tabulka č. 7: Další parametry experimentu v průběhu etap I a II

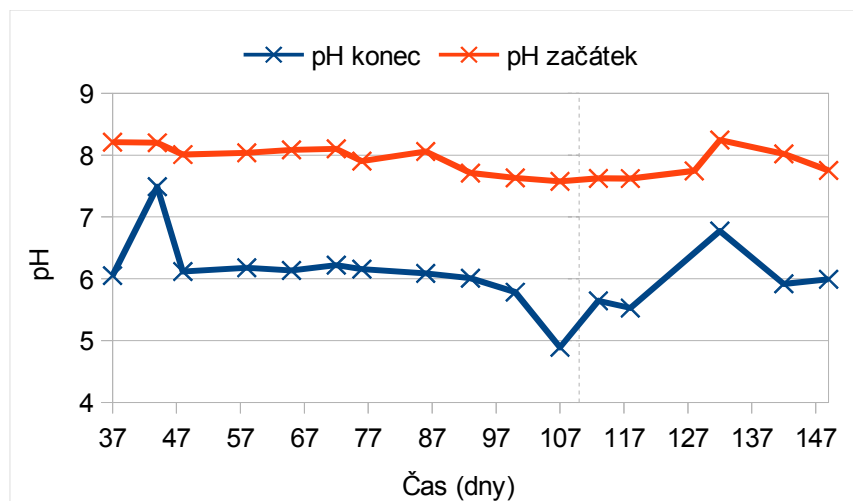
5.2 Etapy III a IV

V etapách III a IV bylo nastavené B_v-N 0,8 kg N/(m³·d). Reálné B_v-N dosahovalo v etapě III v průměru 0,75 kg N/(m³·d) a v etapě IV 0,60 kg N/(m³·d). Reálná teplota v etapě III byla průměrně 24,2 °C a v etapě IV 17,9 °C. Naměřené hodnoty viz obrázek č. 10.



Obrázek č. 10: Teplota a B_v-N v etapách III a IV

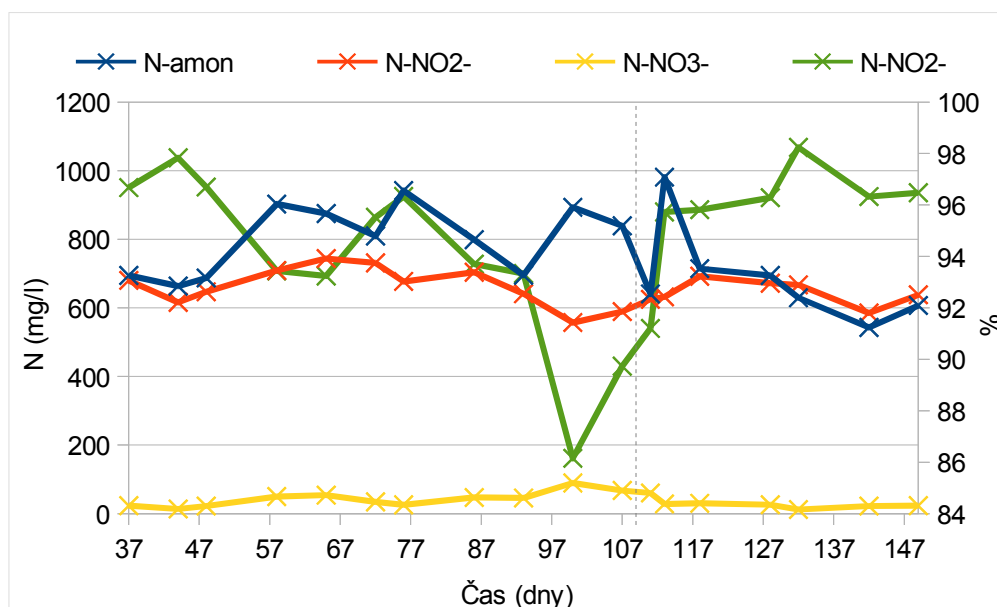
Průměrná hodnota pH na začátku cyklu byla v etapě III 8,0 a v etapě IV 7,8. Na konci cyklu byl průměr etapy III 6,1 a etapy IV 6,0. V etapě III byly zaznamenány dva výrazné výkyvy v hodnotách na konci cyklu. Mezi dny 37 a 44 se pH zvýšilo z 6,1 na 7,5 a poté opět pokleslo ve dni 48 zpět na hodnotu 6,1. Dále na konci etapy III ve dni 107 pH pokleslo z 5,8 na 4,9 a ve dni 113 se zvýšilo na 5,6. Také v etapě IV došlo k výkyvu na konci cyklu - mezi dny 118 a 142 byl zaznamenán nejprve nárůst z 5,5 na 6,8 a poté pokles na 5,9. Celkově bylo pH v těchto etapách ode dne 107 až do konce období velmi nestabilní. Výsledky ilustruje obrázek č. 11.



Obrázek č. 11: Hodnoty pH před koncem a na začátku cyklu v etapách III a IV

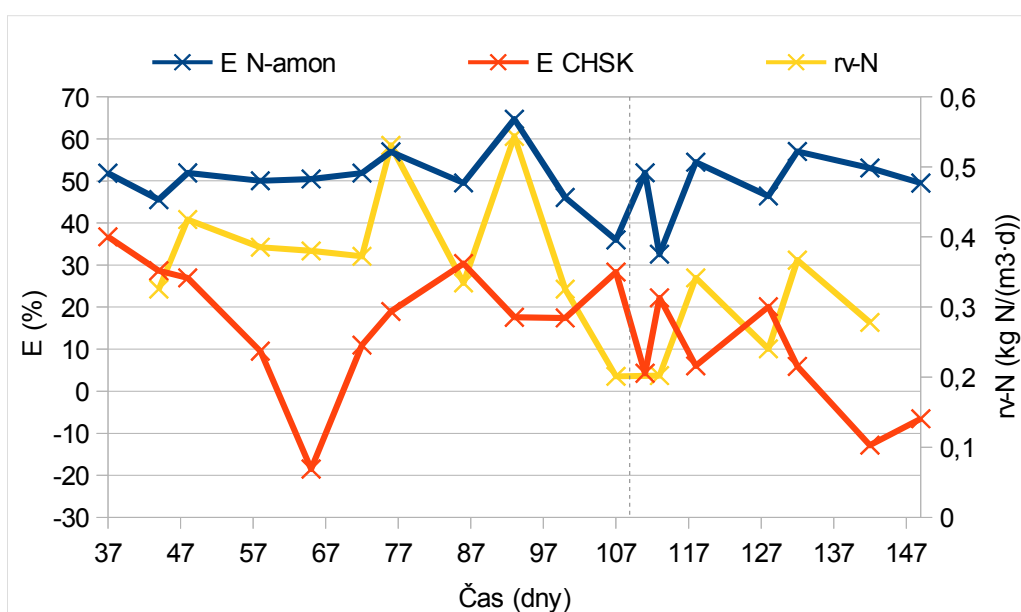
Mezi formami dusíku na odtoku byl N-amon v průměrné koncentraci 800 mg/l během etapy III a 687 mg/l během etapy IV. Koncentrace N-NO₂⁻ v etapě III a IV byla průměrně 663 mg/l a 644 mg/l. V nejnižších koncentracích se v odtoku opět vyskytoval N-NO₃⁻, v etapě III průměrně s 43 mg/l a v etapě IV s 29 mg/l. Mezi oxidovanými formami dusíku opět převažoval NO₂⁻ s 94 % zastoupením v etapě III a 96 % v etapě IV. Mezi dny 93 a 107 byl zaznamenán výraznější výkyv v zastoupení NO₂⁻ z 93 % na 86 % a následně na 90 %.

Výsledky obou etap shrnuje obrázek č. 12.



Obrázek č. 12: Zastoupení forem dusíku v odtoku a zastoupení N-NO₂⁻ mezi oxidovanými formami dusíku v etapách III a IV

Účinnost odstranění N-amon byla v etapě III průměrně 50 %. Po dni 93 prudce poklesla z 65 % až na 36 % ve dni 107. Po snížení teploty ve dni 110 sice opět narostla na 52 %, ale během etapy IV silně kolísala s průměrem na 45 %. Účinnost odstranění CHSK v etapě III byla v průměru 19 %, s propadem ve dni 65 až na „zápornou“ hodnotu -19 %. V etapě IV byla účinnost odstranění také nízká, průměrně 6 %. Průměrná objemová rychlost odstranění dusíku $r_v\text{-N}$ v etapě III byla $0,38 \text{ kg N}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$. Razantní pokles proběhl mezi dny 93 a 107 z $0,54 \text{ kg N}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$ na $0,20 \text{ kg N}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$. Po snížení teploty na konci etapy III zůstala $r_v\text{-N}$ na $0,20 \text{ kg N}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$ a dále během etapy IV se pohybovala na průměru $0,29 \text{ kg N}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$. Naměřené hodnoty shrnuje obrázek č. 13.

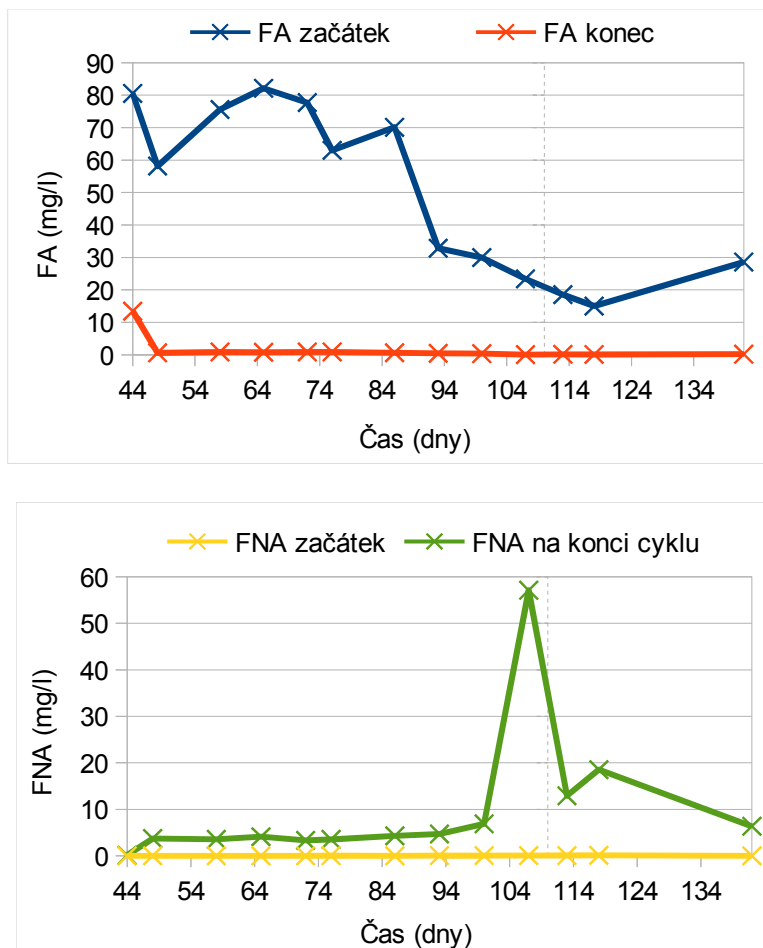


Obrázek č. 13: Účinnost odstranění N-amon a CHSK a objemová rychlost odstraňování dusíku v etapách III a IV

Tabulka č. 8 a obrázek č. 14 shrnují hodnoty koncentrací FA a FNA. Jak z nich vyplývá, během etapy III koncentrace FA na začátku cyklu klesala z $80,6 \text{ mg/l}$ až na $18,5 \text{ mg/l}$ na začátku etapy IV. FA na konci cyklu byla výrazně vyšší pouze ve dni 44, kdy dosahovala $13,5 \text{ mg/l}$. Po zbytek obou etap již byla stabilně velmi nízká. FNA na začátku cyklu bylo během obou etap stabilní. FNA na konci cyklu se prudce zvýšilo mezi dny 100 a 107 z $6,9 \text{ mg/l}$ na $57,1 \text{ mg/l}$ a poté opět kleslo na $12,9 \text{ mg/l}$ ve dni 113.

etapa	FA začátek cyklu [mg/l]		FA konec cyklu [mg/l]		FNA začátek cyklu [mg/l]		FNA konec cyklu [mg/l]	
	III	IV	III	IV	III	IV	I	IV
průměr	59,4	20,7	1,92	0,15	0,05	0,11	3,8	10

Tabulka č. 8: Koncentrace FA a FNA v průběhu etap III a IV



Obrázek č. 14: Zastoupení FA a FNA v průběhu etap III a IV

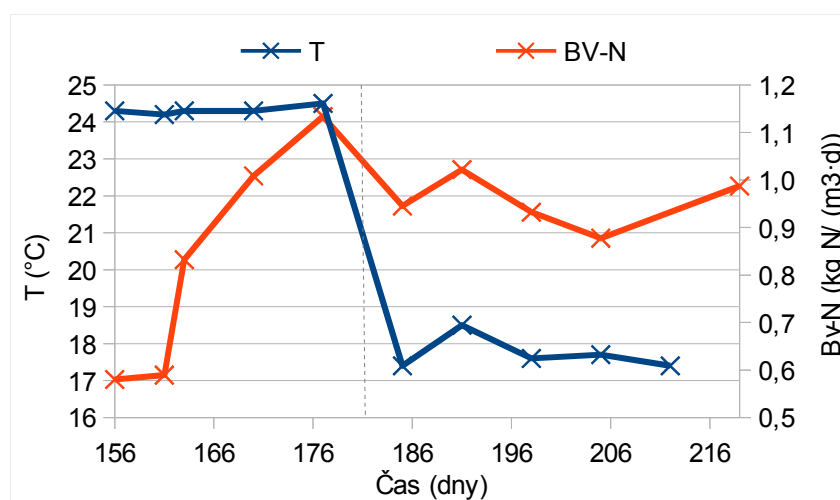
Tabulka č. 9 shrnuje další charakteristiky procesu v etapách III a IV. Ukazuje například, že průměrná koncentrace kalu byla vyšší než v předchozích etapách a že došlo k poklesu koncentrace rozpuštěného kyslíku na začátku cyklu oproti etapě I a II, zatímco koncentrace kyslíku na konci cyklu byla vyšší než v těchto etapách.

	NL [kg/m ³]	NL _{org} [kg/m ³]	B _x -N [kg N/(kg·d)]	r _x -N [kg N/(kg·d)]	O ₂ začátek [mg/l]	O ₂ konec [mg/l]
průměr	2,2	1,92	0,41	0,21	2,9	6,7

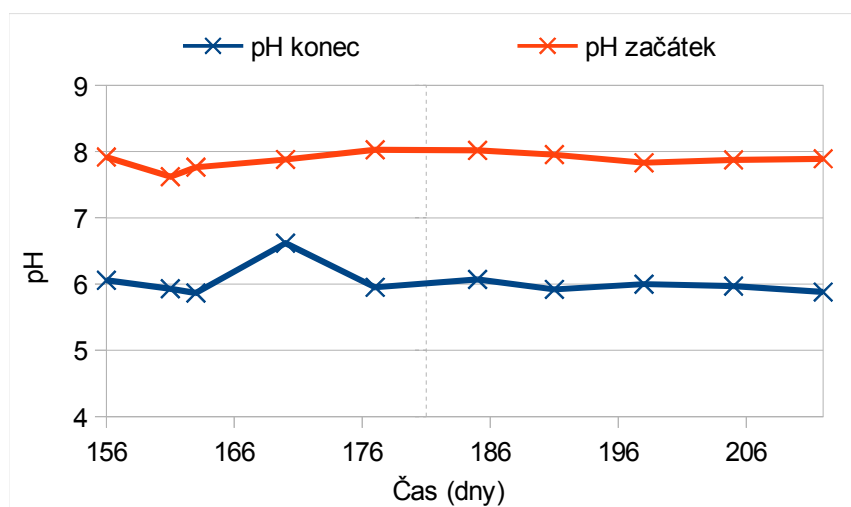
Tabulka č. 9: Další parametry experimentu v průběhu etap III a IV

5.3 Etapy V a VI

Nastavené B_V-N bylo v etapě V zvýšeno na hodnotu 1,0 kg N/(m³·d). Reálné B_V-N dosahovalo v etapě V v průměru 0,83 kg N/(m³·d) a v etapě VI 0,95 kg N/(m³·d). V etapě V byla průměrná reálná teplota v reaktoru 24,3 °C a v etapě VI 17,7 °C. Obrázek č. 15 ukazuje průběh těchto veličin.



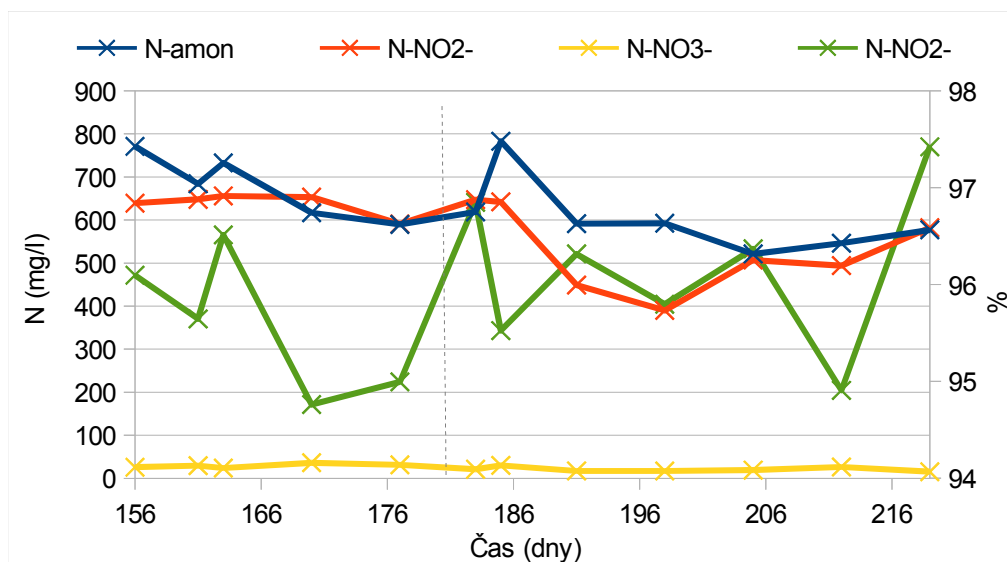
Obrázek č. 15: Teplota a B_V-N v etapách V a VI



Obrázek č. 16: Hodnoty pH před koncem a na začátku cyklu v etapách V a VI

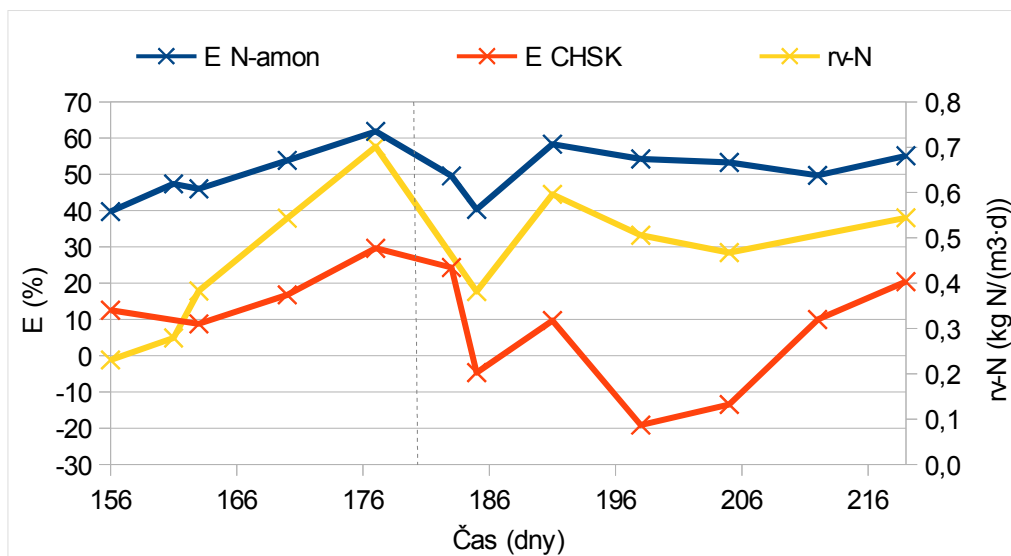
Hodnoty pH byly v etapě V a VI v porovnání s předchozími etapami velmi stabilní. Průměrné pH na začátku cyklu bylo 7,8 v etapě V a 7,9 v etapě VI. Na konci cyklu dosahovalo průměrných hodnot 6,1 a 6,0 v etapě V, respektive VI. Mírný výkyv se vyskytl pouze u pH na konci cyklu mezi dny 163 a 177, kdy z 5,9 narostlo na 6,6 a pak se vrátilo na 6,0. Výsledky viz obrázek č. 16.

Mezi formami dusíku na odtoku se vyskytoval N-amon v koncentraci průměrně 679 mg/l v etapě V a 604 mg/l v etapě VI. Koncentrace N-NO_2^- byly v průměru 637 mg/l v etapě V a 530 mg/l v etapě VI. N-NO_3^- se i tady vyskytoval v nízkých koncentracích – 29 mg/l a 21 mg/l v etapě V a VI. Mezi oxidovanými formami dusíku převládal NO_2^- s průměrně 96 % zastoupením shodným v obou etapách. Výsledky je vidět na obrázku č. 17.

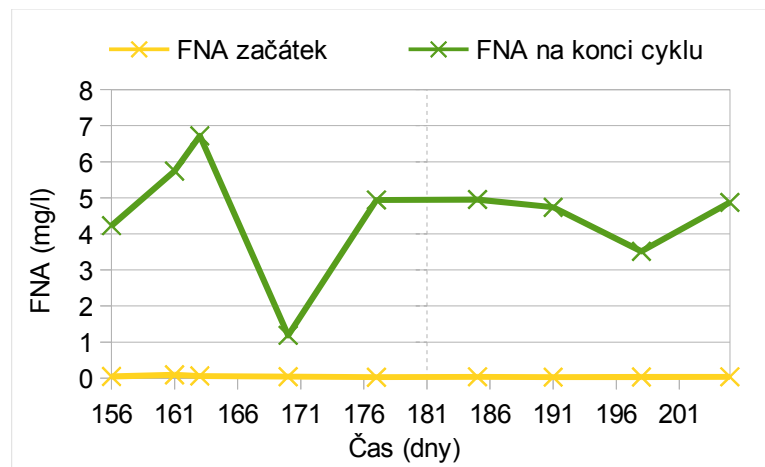
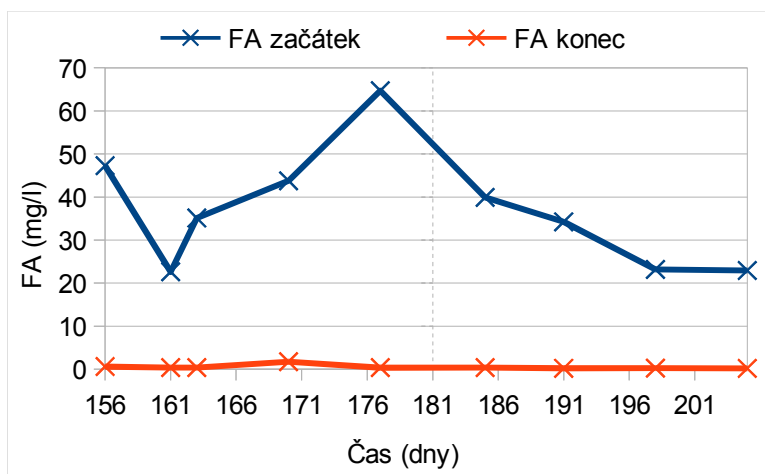


Obrázek č. 17: Zastoupení forem dusíku v odtoku a zastoupení N-NO_2^- mezi oxidovanými formami dusíku v etapách V a VI

Průměrná účinnost odstranění N-amon v etapě V byla 51 %. V etapě VI dosahovala 49 %. Účinnost odstranění CHSK byla v etapě V v průměru 17 %. Naproti tomu v etapě VI se opět několikrát dostala do „záporných“ hodnot – a to ve dnech 185, 198 a 205, což způsobilo velmi nízkou průměrnou hodnotu účinnosti 4 %. Objemová rychlost odstranění dusíku $r_v\text{-N}$ kopírovala křivku $E_{\text{N-amon}}$ (viz obrázek č. 18) a v průměru byla 0,43 kg N/(m³·d) v etapě V a 0,50 kg N/(m³·d) v etapě VI.



Obrázek č. 18: Účinnost odstranění N-amon a CHSK a objemová rychlost odstraňování dusíku v etapách V a VI



Obrázek č. 19: Zastoupení FA a FNA v průběhu etap V a VI

	FA začátek cyklu [mg/l]		FA konec cyklu [mg/l]		FNA začátek cyklu [mg/l]		FNA konec cyklu [mg/l]	
	V	VI	V	VI	V	VI	V	VI
etapa	V	VI	V	VI	V	VI	V	VI
průměr	42,7	30,1	0,69	0,26	0,05	0,03	4,6	4,5

Tabulka č. 10: Koncentrace FA a FNA v průběhu etap V a VI

Koncentrace FA a FNA jsou shrnuty v tabulce č. 10 a na obrázku č. 19. V etapě V se prudce měnily koncentrace FA a FNA na začátku cyklu. Koncentrace FA mezi dny 161 – 177 prudce vzrostla z 22,6 mg/l na 64,7 mg/l, v etapě VI ale klesla ve dni 185 na 39,9 mg/l a zůstala již poměrně stabilní.

V tabulce č. 11 si můžeme povšimnout dalšího zvyšování koncentrace kalu v reaktoru při zvyšování zatížení. Také koncentrace kyslíku byla ve srovnání s etapami I – IV na začátku cyklu nižší a na konci cyklu vyšší.

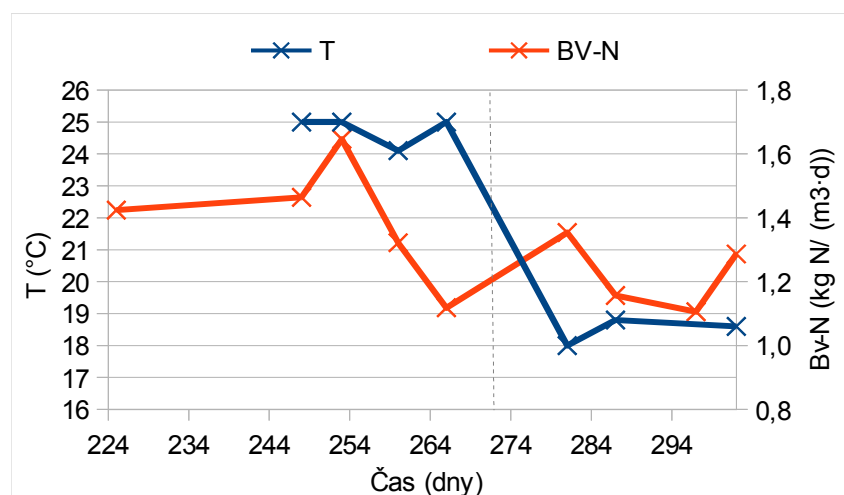
	NL [kg/m ³]	NL _{org} [kg/m ³]	B _x -N [kg N/(kg·d)]	r _x -N [kg N/(kg·d)]	O ₂ začátek [mg/l]	O ₂ konec [mg/l]
průměr	4,65	3,84	0,24	0,12	1,4	7,5

Tabulka č. 11: Další parametry experimentu v průběhu etap V a VI

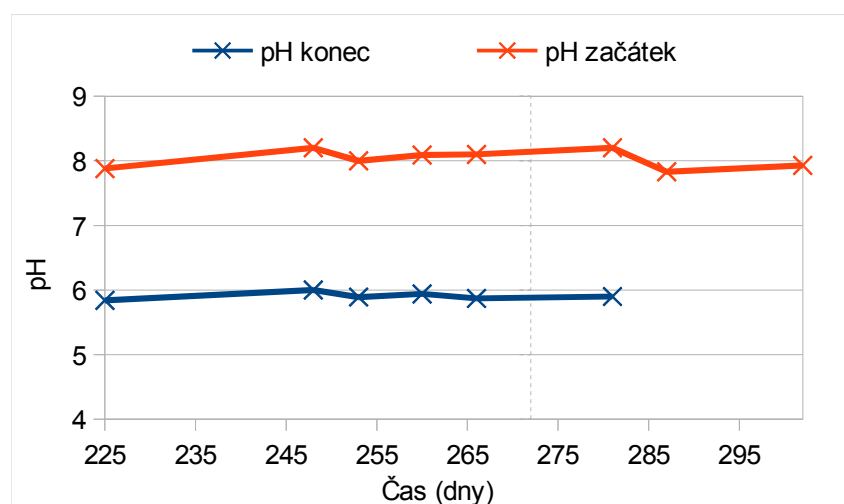
5.4 Etapy VII a VIII

Nastavené B_V-N bylo pro etapy VII a VIII zvýšeno na hodnotu 1,2 kg N/(m³·d). Reálné B_V-N dosahovalo v etapě VII v průměru 1,39 kg N/(m³·d) a v etapě VIII 1,23 kg N/(m³·d). V etapě VII byla průměrná reálná teplota v reaktoru 24,8 °C a v etapě VIII 18,5 °C. Obrázek č. 20 ukazuje naměřené hodnoty teploty a B_V-N v obou etapách.

Během etap VII a VII bylo pH stabilní a nedošlo k žádnému výraznému výkyvu. Průměrná hodnota na začátku cyklu byla 8,1 a 8,0 v etapě VII a VIII. Hodnota na konci cyklu byla v etapě VII průměrně 5,9 a v etapě VIII byla poslední naměřená hodnota pokusu také 5,9 (viz obrázek č. 21).

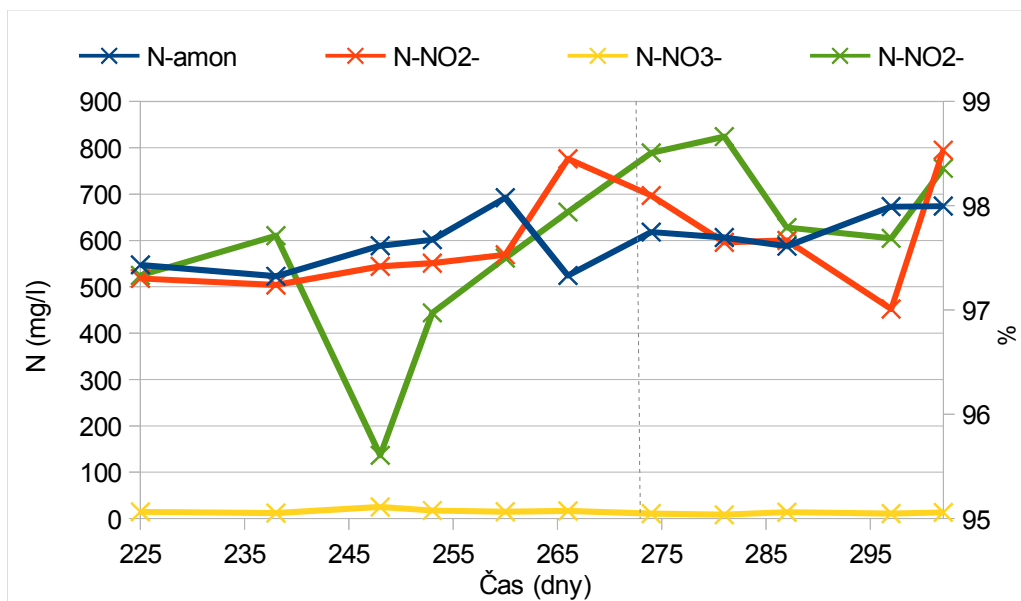


Obrázek č. 20: Teplota a BV-N v etapách VII a VIII



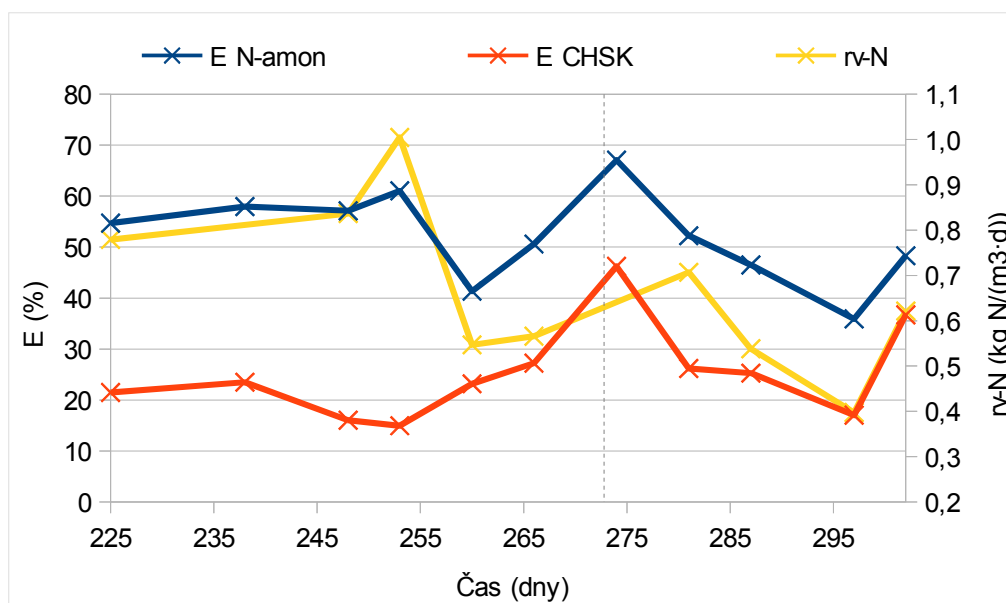
Obrázek č. 21: Hodnoty pH před koncem a na začátku cyklu v etapách VII a VIII

Koncentrace N-amon na odtoku byla průměrně 579 mg/l v etapě VII a 632 mg/l v etapě VIII. N-NO₂⁻ se vyskytoval v etapě VII v koncentracích průměrně 577 mg/l a v etapě VIII 628 mg/l. Velmi nízké koncentrace N-NO₃⁻ v odtoku byly naměřeny také v tomto období – 17 mg/l v etapě VII a 11 mg/l v etapě VIII. Hlavní oxidovanou formou dusíku byl opět NO₂⁻ s průměrným zastoupením 97 % a 98 % v etapě VII a VIII. Tyto parametry znázorňuje obrázek č. 22.



Obrázek č. 22: Zastoupení forem dusíku v odtoku a zastoupení N-NO₂⁻ mezi oxidovanými formami dusíku v etapách VII a VIII

V etapě VII byla účinnost odstranění N-amon průměrně 51 % a v etapě VIII 51 %. Tyto účinnosti byly po hodnotách z etap I a II druhé nejvyšší v rámci pokusu (viz tabulka č. 14). Účinnost odstranění CHSK byla nejvyšší ze všech období, v průměru 21 % a 30 % v etapě VII, respektive VIII. Objemová rychlost odstraňování dusíku dosahovala v etapě VII a VIII 0,75 kg N/(m³·d) a 0,57 kg N/(m³·d). Výsledky jsou znázorněny na obrázku č. 23.

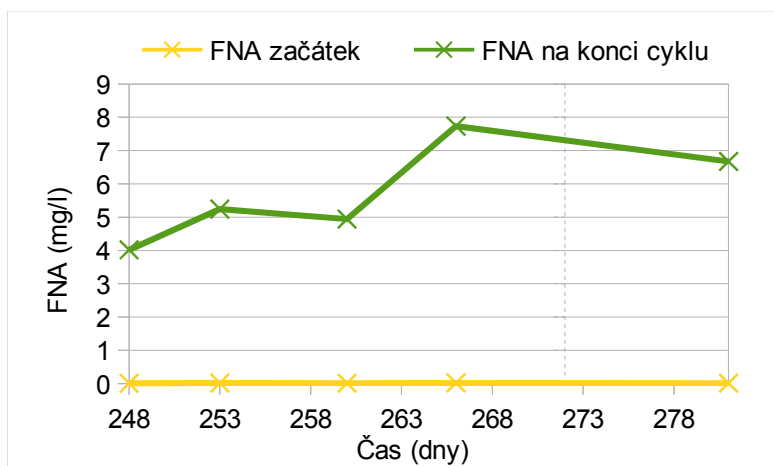
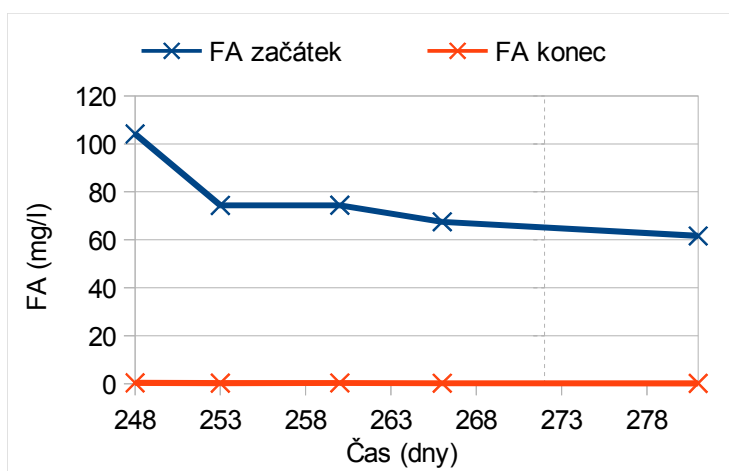


Obrázek č. 23: Účinnost odstranění N-amon a CHSK a objemová rychlost odstraňování dusíku v etapách VII a VIII

Koncentrace FA a FNA zobrazuje tabulka č. 12 a doplňuje ji obrázek č. 24. V průběhu posledních dvou etap došlo pouze k poklesu FA na začátku cyklu v etapě VII ve dnech 248 – 253 z 104,2 mg/l na 74,4 mg/l. Okolo této hodnoty již koncentrace FA zůstala až do konce měření. Mimo tento výkyv byly koncentrace FA i FNA stabilní.

	FA začátek cyklu [mg/l]		FA konec cyklu [mg/l]		FNA začátek cyklu [mg/l]		FNA konec cyklu [mg/l]	
	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII
průměr	80,1	61,6	0,36	0,21	0,02	0,02	5,5	6,7

Tabulka č. 12: Koncentrace FA a FNA v průběhu etap VII a VIII



Obrázek č. 24: Zastoupení FA a FNA v průběhu etap VII a VIII

Tabulka č. 13 ukazuje, že koncentrace kalu v těchto etapách se oproti předchozím již nezvyšovala. Koncentrace kyslíku v reaktoru na začátku cyklu oproti minulým etapám poklesla a na konci se zvýšila.

	NL [kg/m ³]	NL _{org} [kg/m ³]	B _x -N [kg N/(kg·d)]	r _x -N [kg N/(kg·d)]	O ₂ začátek [mg/l]	O ₂ konec [mg/l]
průměr	4,65	3,84	0,24	0,12	1,4	7,5

Tabulka č. 13: Další parametry experimentu v průběhu etap VII a VIII

5.5 Shrnutí některých parametrů procesu v průběhu etap I -VIII

Tabulka č. 14 nabízí možnost srovnat průměrné hodnoty důležitých parametrů zkrácené nitrifikace během celého pokusu.

Etapa	Účinnost odstranění N-amon [%]	Zastoupení N-NO ₂ ⁻ [%]	Objemová rychlost odstraňování [kg N/(m ³ ·d)]
I	52	93	0,21
II	38	96	0,29
III	50	94	0,38
IV	45	96	0,29
V	51	96	0,43
VI	49	96	0,50
VII	51	97	0,75
VIII	51	98	0,57

Tabulka č. 14: Vybrané parametry procesu v etapách I – VIII (průměrné hodnoty)

6 Diskuze

V této kapitole budou výsledky dosažené během experimentu vyhodnoceny a posouzeny v kontextu s pracemi dalších autorů.

6.1 Reálné podmínky v reaktoru

Hodnoty objemového zatížení dusíkem pro tento pokus byly zvoleny na základě zkušeností z dřívějších experimentů. Hrnčířová a kol. (2013) zjistili, že při nízkém zatížení $0,2 \text{ kg N}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ je systém provozující zkrácenou nitrifikaci v režimu SBR schopen udržet stabilitu čistícího procesu při teplotních výkyvech z $25 \text{ }^\circ\text{C}$ na $18 \text{ }^\circ\text{C}$. Jelikož výkyvy teploty při takto nízkém zatížení nenarušily stabilitu procesu čištění, bylo cílem zjistit, jak robustní bude systém vůči teplotním výkyvům při zatížení vyšším. Rozmezí hodnot zatížení částečně vycházelo z práce Jeníček a kol. (2004), kteří ověřili, že za stabilní teploty $21 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ je možné docílit částečné nitrifikace až při $1,65 \text{ kg N}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$.

V tomto experimentu byl systém provozující zkrácenou nitrifikaci vystaven rostoucímu zatížení, jehož reálné hodnoty se v průměru pohybovaly od $0,49 \text{ kg N}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ v etapě I a II do $1,32 \text{ kg N}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ v etapě VII a VIII. Reálné zatížení se lišilo od zatížení nastaveného z důvodu kolísající koncentrace N-amon ve vstupní kalové vodě. Ačkoli byla kalová voda přiváděná do reaktoru uchovávána v zásobníku s uzavřeným hrdlem, při delším stání část dusíku vytékala ve formě amoniaku. To způsobilo pokles vstupní koncentrace N-amon a v kombinaci s konstantně nastaveným průtokem i pokles zatížení. Tento problém je možné řešit naředováním vstupní vody na konstantní koncentraci N-amon (Radechovský et al., 2012). V případě tohoto experimentu ale ředění nebylo aplikováno, jelikož bylo cílem zkoumat reálnou kalovou vodu s vysokou koncentrací N-amon.

6.2 Chování systému vystaveného teplotním šokům při rostoucím zatížení dusíkem

6.2.1 Účinnost procesu čištění

Účinnost odstranění N-amon se pohybovala okolo 50 %, což bylo dáno limitovanou neutralizační kapacitou kalové vody, která v systémech bez regulace pH neumožňuje dosáhnout vyšších účinnosti oxidace N-amon (Radechovský a kol., 2014). Tyto výsledky jsou ve shodě s prací Jeníček a kol. (2004). Zajímavé je, že v každé další chladnější etapě byla účinnost vyšší než v předchozí – z 38 % v etapě I dosáhla až 51 % v etapě VIII (viz tabulka č. 14). V etapách s vyšší teplotou se účinnost držela mezi 50 – 52 %. Na základě těchto výsledků lze říci, že účinnost čištění byla vysoká a změny teploty ji ani při průměrném zatížení 1,31 kg N/(m³·d) v posledních etapách nesnížily.

6.2.2 Hodnoty pH v režimu SBR

Zkrácená nitrifikace byla udržena především díky střídání hodnot pH na začátku a na konci cyklu, které bylo dáno provozem v režimu SBR (Švehla a kol., 2014), a které má vliv na zastoupení FA a FNA (viz kapitola 3.2.2.1). Na začátku cyklu je pH nejvyšší, jelikož je do reaktoru načerpána nová kalová voda. V průběhu čištění dochází ke snižování pH v důsledku probíhající nitritace (viz rovnice č. 6, kapitola 3.2.2). Střídání hodnot pH na začátku a na konci cyklu bylo pozorováno během celého pokusu, přičemž pH na konci cyklu nikdy nepřekročilo hodnotu pH na začátku cyklu, která byla průměrně 7,9. Ačkoli docházelo k výkyvům (např. dny 44 a 107), nedošlo k narušení stability procesu a zkrácená nitrifikace byla udržena po celou dobu pokusu.

6.2.3 Zastoupení oxidovaných forem dusíku na odtoku

Mezi oxidovanými formami dusíku měl jasnou převahu NO₂⁻. Během doby experimentu bylo jeho zastoupení minimálně 86 %. V chladnějších etapách bylo průměrné zastoupení NO₂⁻ stejné nebo větší než v příslušné etapě s vyšší teplotou (viz tabulka č. 14). Zastoupení se také v průběhu pokusu zvyšovalo a nejvyšší průměrné hodnoty - 98 % - dosáhlo v etapě VIII. Vysoké zastoupení NO₂⁻ vypovídá o probíhající zkrácené nitrifikaci a úspěšném potlačení NOB. Zastoupení nad 95 % při teplotách 15 – 30 °C publikovali také

Yamamoto et al. (2006). Výsledky se také shodují s Yang et al. (2007), kteří při pozvolném snížení z 25 °C na 11,9 °C dosáhli zastoupení NO₂⁻ průměrně 95 % a při teplotách pod 15 °C došlo k nárůstu na 99 %, což se shoduje se zde dosaženými výsledky.

6.2.4 Koncentrace forem dusíku na odtoku

V průběhu celého pokusu byly v odtoku naměřeny koncentrace N-amon a N-NO₂⁻ průměrně 677 mg/l a 619 mg/l, tedy v poměru 1,12:1. Předčištěná voda obsahující N-amon a N-NO₂⁻ v tomto poměru nabízí možnost přímého dalšího zpracování v systému Anammox (Galí et al., 2007; Sri Shalini et Joseph, 2012).

V každé z chladnějších etap byl zaznamenán pokles koncentrace N-NO₃⁻ oproti párové etapě s vyšší teplotou. Z toho je možné usuzovat, že NOB reagovaly citlivěji na teplotní skoky než AOB. To bylo v rozporu s výsledky dalších autorů, kteří uvádí, že AOB jsou schopny vykazovat vyšší aktivitu než NOB jen při teplotách nad 20 °C (Kim et al., 2008; Guo et al., 2010; Wu et al., 2012). Naopak u Yang et al. (2007) ukázala analýza FISH, že při pozvolném snižování teploty z 22,3 °C na 11,9 °C byly AOB v převaze nad NOB. V námi provedeném pokusu byla pravděpodobně příčinou inhibice FA a FNA a lepší aklimatizace AOB na podmínky v reaktoru.

6.2.5 Vliv inhibice FA a FNA

Vysoké koncentrace FA na začátku cyklu a FNA na konci cyklu, které byly způsobeny kolísáním pH během cyklu SBR, zajišťovaly udržení zkrácené nitrifikace. Koncentrace FA na začátku cyklu, které byly průměrně 48 mg/l, mnohonásobně překračovaly inhibiční koncentrace pro NOB 0,1 – 1,0 mg/l (Anthonisen et al., 1976). Nacházely se rovněž v intervalu koncentrací inhibujících AOB 10 – 150 mg/l (Anthonisen et al., 1976). AOB ale za těchto podmínek inhibovány nebyly. Například ve dni 65, kdy koncentrace FA dosáhla 82,1 mg/l byla účinnost odstranění N-amon stále 50 %. Koncentrace inhibující FA se u různých autorů liší, aktivitu AOB při koncentracích FA 20 mg/l uvádí Qiao et al. (2008). Peng et Zhu (2006) naproti tomu uvádí kompletní inhibici AOB při FA 78 mg/l. Je ovšem třeba brát v potaz, že inhibiční koncentrace uvedené u Anthonisen et al. (1976) byly stanoveny při jednorázovém vystavení biomasy koncentracím FA a FNA. Proto mohou být tyto hodnoty nižší než ve skutečnosti v kontinuálně provozovaných systémech s možností aklimatizace organismů na tyto podmínky.

Vzhledem k probíhající částečné nitrifikaci během celého pokusu je vidět, že koncentrace FA byly tak vysoké, že NOB neměly šanci se na ně aklimatizovat. Aklimatizaci NOB na FA uvádí například Villaverde et al. (2000), jednalo se ovšem o koncentrace v řádu stovek mg FA. Aklimatizaci NOB na koncentrace FA až 9,1 mg/l zaznamenal Radechovský a kol. (2013), v případě zde provedeného pokusu byla ale průměrná koncentrace zhruba pětinasobná (viz výše).

Koncentrace FNA na konci cyklu také přesahovaly koncentrace inhibující nitrataci podle Anthonisena et al. (1976), tedy 0,22 – 2,8 mg/l. Kromě extrémně vysoké hodnoty průměrné koncentrace v etapě I – 20,8 mg/l - byl průměr v ostatních etapách 5,2 mg/l. V žádné etapě ale narušeno fungování AOB a i v etapě I byla účinnost odstranění N-amon 52 %. Koncentrace FNA zde inhibovaly NOB, což je ve shodě s tvrzením Vadivelu et al. (2007), že NOB nejsou schopné aklimatizace na FNA.

6.2.6 Koncentrace rozpuštěného kyslíku

Koncentrace rozpuštěného kyslíku nebyla během pokusu limitována. Koncentrace na začátku cyklu se v průběhu pokusu snižovala, což může být vysvětleno zvyšujícím se zatížením reaktoru a tedy větší spotřebou kyslíku mikroorganismy na oxidaci N-amon. Na konci cyklu byly koncentrace kyslíku vyšší než na začátku z důvodu vyčerpání substrátu a menší aktivity organismů. Nízké koncentrace kyslíku na začátku cyklu mohly být pomocným faktorem pro inhibici NOB. Ačkoli se v průměru pohybovaly na 2,7 mg/l, během etap VI - VIII dosahovala koncentrace méně než 2 mg/l. Při těchto koncentracích dochází ke snižování aktivity NOB (Okabe et al., 2011).

6.2.7 Účinnost odstranění CHSK

Účinnost odstranění CHSK byla nízká - v průměru 15 % - a v některých měřeních byly zaznamenány na odtoku vyšší hodnoty CHSK než na přítoku. To způsobilo „záporné“ hodnoty účinnosti odstranění, nejčastěji v etapě VI. Nízká účinnost odstranění je zapříčiněna tím, že kalová voda z aneobní stabilizace obsahuje málo snadno rozložitelných organických látek. Ty jsou během anaerobní stabilizace rozloženy za vzniku bioplynu a zbylé organické látky jsou organismům již těžko dostupné, viz kapitola 3.3.1.

6.3 Možnosti dalšího směřování výzkumu

Prostor pro další výzkum nabízí vliv teplotních výkyvů na stabilitu čištění při vyšším zatížení, zejména do krajní hodnoty $1,65 \text{ kg N}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, která nezpůsobila narušení systému při konstantní teplotě $21 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ (Jeníček a kol., 2004). Dále vyvstává otázka fungování systému za vysokého zatížení při pozvolném snižování teploty, a to až pod teplotu $16,5 \text{ }^\circ\text{C}$, kterou Hrnčířová a kol. (2013) uvádí jako hraniční pro udržení fungování systému při nízkém zatížení $0,2 \text{ kg N}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$. Také Yamamoto et al. (2006), kteří pracovali s imobilizovanou biomasou uvádí narušení stability zkrácené nitrifikace při poklesu teploty pod $15 \text{ }^\circ\text{C}$, a to při vysokém zatížení $1,9 \text{ kg N}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$.

Výsledky jsou zajímavé nejen z hlediska výzkumu, ale i pro další praktické využití. Nabízejí způsob zpracování kalové vody, který je robustní vůči výkyvům teplot a je technologicky i ekonomicky nenáročný.

7 Závěry

Výsledky této diplomové práce mohou být shrnuty následovně:

- Fungování zkrácené nitrifikace v SBR reaktoru, který zpracovával kalovou vodu z anaerobní stabilizace kalu, nebylo narušeno i přes vystavení náhlým teplotním výkyvům průměrně z 24,3 °C na 17,8 °C.
- Stabilita procesu nebyla narušena teplotními výkyvy v celém testovaném rozmezí objemového zatížení dusíkem, a to ani během posledních dvou etap, kdy dosahovalo v průměru 1,32 kg N/(m³·d).
- Zatížení ani teplotní výkyvy neměly vliv na účinnost odstranění N-amon a v etapě s nejvyšším zatížením i po teplotním šoku dosahovala účinnost průměrně 51 %.
- Zastoupení NO₂⁻ mezi oxidovanými formami dusíku na odtoku se pohybovalo v rozmezí 93 - 98 % a v chladnějších etapách bylo vždy vyšší, než před teplotním skokem.
- Koncentrace N-amon a N-NO₂⁻ na odtoku byly průměrně v poměru 1,12:1, což činí takto předčištěnou vodu vhodnou pro další zpracování v systému Anammox.
- Udržení zkrácené nitrifikace bylo zajištěno především inhibicí NOB pomocí souhry FA a FNA způsobené kolísáním pH během SBR cyklu.
- AOB vykazovaly vyšší aktivitu než NOB i po snížení nastavené teploty na 18 °C a nebyly inhibovány vysokými koncentracemi FA.

8 Použitá literatura

Abeling, U., Seyfried, C.F. 1992. Anaerobic-aerobic treatment of high strength ammonium wastewater - nitrogen removal via nitrite. *Water Science Technology*.

26 (5-6). 1007 - 1015.

Ahn, Y. - H. 2006. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. *Process Biochemistry*. 41 (8). 1709–1721.

Appels, L., Baeyens, J., Degrève, J., Dewil, R. 2008. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*. 34 (6). 755–781.

Anthonisen, A.C., Loehr, R. C., Prakasam, T. B. S., Srinath, E. G. 1976. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal of Water Pollution Control Federation*; 48 (5). 835–852.

Beales, N. 2004. Adaptation of Microorganisms to Cold Temperatures, Weak Acid Preservatives, Low pH, and Osmotic Stress: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 3 (1). 1-20.

Bernat, K., Kulikowska, D., Zielińska, M., Cydzik- Kwiatkowska, A., Wojnowska-Baryła, I. 2012. The treatment of anaerobic digester supernatant by combined partial ammonium oxidation and denitrification. *Desalination and Water Treatment*. 37 (1-3). 223–229.

Ciudad, G., Rubilar, O., Munoz, P., et al. 2006. Partial nitrification of high ammonia concentration wastewater as a part of a shortcut biological nitrogen removal process. *Process Biochemistry*. 40 (5). 1715 – 1719.

Cydzik-Kwiatkowska, A., Zielińska, M., Bernat, K., Wojnowska-Baryła, I., Truchan T. 2013. Treatment of high-ammonium anaerobic digester supernatant by aerobic granular sludge and ultrafiltration processes. *Chemosphere*. 90 (8). 2208-2215.

Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K. - H., Stackebrandt, E. 2006. *The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria. Volume 2: Ecophysiology and Biochemistry*, Third Edition. Springer-Verlag New York. Singapore. p. 1107. ISBN: 9780387254920.

Ducey, T. F., Vanotti, M. B., Shriner, A. D., Szogi, A. A., Ellison, A. Q. 2010. Characterization of a microbial community capable of nitrification at cold temperature. *Bioresource Technology*. 101 (2). 491-500.

Gabarró, J., Ganigué R., Gich F., Rusalledaa, M., Balaguera, M. D., Colprim, J. 2012. Effect of temperature on AOB activity of a partial nitrification SBR treating landfill leachate with extremely high nitrogen concentration. *Bioresource Technology*. 126. 283-9.

Galí, A., Dosta, J., van Loosdrecht, M. C. M., Mata-Alvarez, J. 2007. Two ways to achieve an anammox influent from real reject water treatment at lab-scale: Partial SBR nitrification and SHARON process. *Process Biochemistry*. 42 (4). 715-720.

Gebert, W., Wilderer, P. A. 2000. Heating up trickling filters to tackle cold weather conditions. *Water Science and Technology*. 41 (1). 163–166.

Gray, N. F. 2004. *Biology of wastewater treatment*. Imperial College Press. London. p. 1421. ISBN: 1860943284.

Guo, J., Peng, Y., Huang, H., Wang, S., Ge, S., Zhang, J., Wang, Z. 2010. Short- and long-term effects of temperature on partial nitrification in a sequencing batch reactor treating domestic wastewater. *Journal of Hazardous Materials*. 179 (1-3). 471-479.

Halling-Sørensen, B., Jørgensen, S. E. 1993. *The Removal of Nitrogen Compounds from Wastewater*. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam. p. 440. ISBN 0444891528.

Head, M. A., Oleszkiewicz, J. A. 2004. Bioaugmentation for nitrification at cold temperatures. *Water Research*. 38(3). 523-30.

Hellinga, C., Schellen, A. A. J. C., Mulder, J. W., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J. 1998. The SHARON process: An innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water. *Water Science and Technology*. 37 (9). 135-142.

Henze, M., Van Loosdrecht, M. C. M, Ekama, G. A. 2008. *Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design*. IWA Publishing. London. p. 511. ISBN: 1843391880.

Horáková, M., a kol. 2003. *Analytika vody*. Vydavatelství VŠCHT. Praha. 335 s. ISBN: 807080520X.

Hrnčířová, H., Švehla, P., Radechovský, J., Páček, L., Mikulová, B., Balík, J. 2013. Vliv kolísání teploty na čištění odpadních vod s extrémním obsahem dusíku. *Waste Forum*. 2. 110-119.

Hu, Z., Lotti, T., de Kreuk, M., Kleerebezem, R., van Loosdrecht, M., Kruit, J., Jetten, M.S., Kartal, B. 2013. Nitrogen removal by a nitrification-anammox bioreactor at low temperature. *Applied and Environmental Microbiology*. 79 (8). 2807-2812.

Hwang, J. H., Oleszkiewicz, J. A. 2007. Effect of cold-temperature shock on nitrification. *Water Environment Research*. 79 (9). 964-8.

Chudoba, J., Dohányos, M., Wanner, J. 1991. *Biologické čištění odpadních vod*. Státní nakladatelství technické literatury. Praha. 468 s. ISBN: 8003006112.

Isaka, K., Yoshie, S., Sumino, T., Inamori, Y., Tsuneda, S. 2007. Nitrification of landfill leachate using immobilized nitrifying bacteria at low temperatures. *Biochemical Engineering Journal*. 37 (1). 49-55.

Isaka, K., Date, Y., Kimura, Y., Sumino, T., Tsuneda, S. 2008. Nitrogen removal performance using anaerobic ammonium oxidation at low temperatures. *FEMS Microbiology Letters*. 282 (1). 32-38.

- Jeníček, P., Švehla, P., Zábranská, J., Dohányos, M. 2004. Factors affecting nitrogen removal by nitrification/denitrification. *Water Science and Technology*. 49 (5-6). 73–79.
- Jin, R. C., Yang, G. F., Yu J. J., Zheng P. 2012. The inhibition of the Anammox process: A review. *Chemical Engineering Journal*. 197. 67–79.
- Kampschreur, M. J., van der Star, W. R., Wielders, H. A., Mulder, J. W., Jetten, M. S., van Loosdrecht, M. C. 2008. Dynamics of nitric oxide and nitrous oxide emission during full-scale reject water treatment. *Water Research*. 42 (3). 812-826.
- Karkman, A., Mattila, K., Tamminen, M., Virta, M. 2011. Cold temperature decreases bacterial species richness in nitrogen-removing bioreactors treating inorganic mine waters. *Biotechnology and Bioengineering* 108 (12). 2876-83.
- Kartal, B., van Niftrik., L., Keltjens, J. T., Op den Camp, H. J., Jetten, M. S. 2012. Anammox--growth physiology, cell biology, and metabolism. *Advances in Microbial Physiology*. 60. 211-62.
- Kim, D. J., Lee, D. I., Keller, J. 2006. Effect of temperature and free ammonia on nitrification and nitrite accumulation in landfill leachate and analysis of its nitrifying bacterial community by FISH. *Bioresource Technology*. 97 (3). 459-68.
- Kim, S. J., Yim, J. H. 2007. Cryoprotective properties of exopolysaccharide (P-21653) produced by the Antarctic bacterium, *Pseudoalteromonas arctica* KOPRI 21653. *Journal of Microbiology*. 45 (6). 510–514.
- Kim, J. H., Guo, X. J., Park, H. S. 2008. Comparison study of the effects of temperature and free ammonia concentration on nitrification and nitrite accumulation. *Process Biochemistry*. 43 (2). 154-160.

- Kondusamy, D., Kalamdhad, A. S. 2014 Pre-treatment and anaerobic digestion of food waste for high rate methane production – A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2 (3). 1821–1830.
- Könneke, M., Bernhard, A. E., de la Torre, J. R., Walker, C. B., Waterbury, J. B., Stahl, D. A. 2005. Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon. *Nature*. 437 (7058). 543-6.
- Koops, H. P, Pommerening-Röser, A. 2001. Distribution and ecophysiology of the nitrifying bacteria emphasizing cultured species. *FEMS Microbiology Ecology*. 37 (1). 1-9.
- Kouba, V., Catrysse, M., Stryjova, H., Jonatova, I., Volcke, E., Svehla, P., Bartacek, J. 2014. The impact of influent total ammonium nitrogen concentration on nitrite-oxidizing bacteria inhibition in moving bed biofilm reactor. *Water Science Technology*. 69 (6). 1227-33.
- Magrí, A., Béline, F., Dabert, P. 2013. Feasibility and interest of the anammox process as treatment alternative for anaerobic digester supernatants in manure processing - An overview. *Journal of Environmental Management*. 131. 170-184.
- Miazga-Rodriguez, M., Han, S., Yakiwchuk, B., Wei, K., English, C., Bourn, S., Bohnert, S., Stein, L.Y. 2012. Enhancing nitrification at low temperature with zeolite in a mining operations retention pond. *Frontiers in Microbiology*. 3. 271.
- Mulder, J. W., van Loosdrecht, M. C. M, Hellinga, C., van Kempen, R. 2001. Full-scale application of the SHARON process for treatment of rejection water of digested sludge dewatering. *Water Science and Technology*. 43 (11). 127–134.
- Okabe, S., Oshiki, M., Takahashi, Y., Satoh, H. 2011. Development of long-term stable partial nitrification and subsequent anammox process. *Bioresource Technology*. 102 (13). 6801-7.

Park, H. D., Lee, S. Y., Hwang, S. 2009. Redundancy analysis demonstration of the relevance of temperature to ammonia-oxidizing bacterial community compositions in a full-scale nitrifying bioreactor treating saline wastewater. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 19 (4). 346-50.

Pitter, P. 2009. *Hydrochemie*. Vydavatelství VŠCHT. Praha. 592 s. ISBN 9788070807019.

Peng, Y., Zhu, G. 2006. Biological nitrogen removal with nitrification and denitrification via nitrite pathway. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 73 (1). 15–26.

Pollice, A., Valter, T., Carmela, L. 2002. Influence of aeration and sludge retention time on ammonium oxidation to nitrite and nitrate. *Water Research*. 36 (10). 2541–2546.

Qiao, S., Kawakubo, Y., Koyama, T., Furukawa, K. 2008. Partial nitrification of raw anaerobic sludge digester liquor by swim-bed and swim-bed activated sludge processes and comparison of their sludge characteristics. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 106 (5). 433–441.

Qiao, S., Matsumoto, N., Shinohara, T., Nishiyama, T., Fujii, T., Bhatti, Z., Furukawa, K. 2010. High-rate partial nitrification performance of high ammonium containing wastewater under low temperatures. *Bioresource Technology*. 101 (1). 111-117.

Radechovský, J., Švehla, P., Páček, L., Hrnčířová, H., Balík, J. 2012. Zastoupení konečných produktů nitrifikace v systému SBR – vliv koncentrace N-amon ve vstupní vodě. Sborník konference Odpadové vody 2012. Štrbské Pleso, Slovenská republika. 94–99.

Radechovský, J., Švehla, P., Hrnčířová, H., Páček, L., Balík, J. 2013. Inhibiční působení sloučenin dusíku při nitrifikaci odpadních vod. *Chemické listy*. 107 (11). 892-896.

Radechovský, J., Švehla, P., Hrnčířová, H., Páček, L., Bartáček, J. 2014. Možnosti využití souhry různých faktorů za účelem potlačení činnosti nitratačních bakterií při čištění odpadních vod. *Vodní hospodářství*. 64 (2). 1-6.

- Rodriguez-Caballero, A., Hallin, S., Pålsson, C., Odla, M., Dahlquist, E. 2012. Ammonia oxidizing bacterial community composition and process performance in wastewater treatment plants under low temperature conditions. *Water Science and Technology*. 65 (2). 197-204.
- Ruiz, G., Jeison, D., Chamy, R. 2003. Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration. *Water Research*. 37. 1371-1377.
- Salem, S., Berends, D. H., van der Roest, H. F., van der Kuij, R. J., van Loosdrecht, M. C. 2004. Full-scale application of the BABE technology. *Water Science and Technology*. 50 (7). 87-96.
- Siripong, S., Rittmann, B. E. 2007. Diversity study of nitrifying bacteria in full-scale municipal wastewater treatment plants. *Water Research*. 41 (5). 1110-20.
- Sui, Q., Liu, C., Dong, H., Zhu, Z. 2014. Effect of ammonium nitrogen concentration on the ammonia-oxidizing bacteria community in a membrane bioreactor for the treatment of anaerobically digested swine wastewater. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 118 (3). 277-83.
- Sun, H. W., Yang, Q., Dong, G. R, Hou, H. X., Zhang, S. J., Yang, Y. Y., Peng, Y. Z. 2010. Achieving the nitrite pathway using FA inhibition and process control in UASB-SBR system removing nitrogen from landfill leachate. *Science China Chemistry*. 53 (5). 1210-1216.
- Schmidt, I., Sliemers, O., Schmid, M., Bock, E., Fuerst, J., Kuenen, G. J., Jetten, M. S. M, Strous, M. 2003. New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal in wastewater. *FEMS Microbiology Reviews*. 27 (4). 481-492.
- Sri Shalini, S., Joseph K. 2012. Nitrogen management in landfill leachate: application of SHARON, ANAMMOX and combined SHARON-ANAMMOX process. *Waste Management*. 32 (12). 2385-2400.

Suschka, J., Grube, K. 2014. Nitrogen in the process of waste activated sludge anaerobic digestion. *Archives of Environmental Protection*. 40 (2). 123-136.

Švehla, P., Jeníček, P., Habart, J., Hanč, A., Balík, J. 2010. Testování vlivu vybraných faktorů na průběh nitrifikace kalové vody. *Chemické listy*. 104 (5). 343–348.

Švehla, P., Bartáček, J., Páček, L., Hrnčířová, H., Radechovský, J., Hanč, A., Jeníček, P. 2014. Inhibition effect of free ammonia and free nitrous acid. *Chemical Papers*. 68 (7). 871–878.

Tam, N. F. Y., Wong, Y. S., Leung, G. 1992. Effect of exogenous carbon sources on removal of inorganic nutrients by the nitrification denitrification process. *Water Research*. 26 (9). 12–29.

Third, K. A., Sliemers, A. O., Kuenen, J. G., Jetten, M. S. 2001. The CANON system (Completely Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite) under ammonium limitation: interaction and competition between three groups of bacteria. *Systematic and Applied Microbiology*. 24 (4). 588-96.

Torà, J. A., Baeza, J. A., Carrera, J., Oleszkiewicz, J. A. 2011. Denitrification of a high-strength nitrite wastewater in a sequencing batch reactor using different organic carbon sources. *Chemical Engineering Journal*. 172 (2). 994–998.

Urakawa, H., Tajima, Y., Numata, Y., Tsuneda, S. 2008. Low Temperature Decreases the Phylogenetic Diversity of Ammonia-Oxidizing Archaea and Bacteria in Aquarium Biofiltration Systems *Applied and Environmental Microbiology*. 74 (3). 894-900.

Vadivelu, V. M., Keller, J., Yuan, Z. 2007. Effect of free ammonia on the respiration and growth processes of an enriched *Nitrobacter* culture. *Water Research*. 41 (4). 826-834.

- van Dongen, U., Jetten, M. S., van Loosdrecht, M. C. 2001. The SHARON-Anammox process for treatment of ammonium rich wastewater. *Water Science Technology*. 44 (1).153-60.
- van Hulle, S. W. H., Volcke, E. I. P., López Teruel, J., Donckels, B., van Loosdrecht, M.C.M, Vanrolleghem, P.A. 2007. Influence of temperature and pH on the kinetics of the Sharon nitrification process. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 82 (5). 471–480.
- Villaverde, S., García-Encina, P. A., Fdz-Polanco, F. 1997. Influence of pH over nitrifying biofilm activity in submerged biofilters. *Water Research*. 31 (5). 1180-1186.
- Villaverde, S., García-Encina, P. A., Fdz-Polanco, F. 2000. Nitrifying biofilm acclimation to free ammonia in submerged biofilters. Start-up influence. *Water Research*. (34)2. 602–610.
- Werner, D., Newton, W. E. 2006. *Nitrogen Fixation in Agriculture, Forestry, Ecology, and the Environment*. Springer Science & Business Media. Dordrecht. p. 369. ISBN 1402035446.
- Wett, B., Alex, J. 2003. Impacts of separate rejection water treatment on the overall plant performance. *Water Science and Technology*. 48 (4). 139–146.
- Wu, L., Peng, Y., Ma, Y., Liu, X., Li, L., Wang, S. 2012. The Short-term Effects of Temperature and Free Ammonia on Ammonium Oxidization in Granular and Floccular Nitrifying System. *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 20 (5). 1016–1023.
- Yamamoto, T., Takaki, K., Koyama, T., Furukawa, K. 2006. Novel Partial Nitritation Treatment for Anaerobic Digestion Liquor of Swine Wastewater Using Swim-Bed Technology. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 102 (6). 497-503.
- Yamamoto, T., Takakib, K., Koyamac, T., Furukawa, K. 2008. Long-term stability of partial nitritation of swine wastewater digester liquor and its subsequent treatment by Anammox. *Bioresource Technology*. 99 (14). 6419–6425.

Yan, J., Hu, Y. Y. 2009. Partial nitrification to nitrite for treating ammonium-rich organic wastewater by immobilized biomass system. *Bioresource Technology*. 100 (8). 2341-2347.

Yang, L., Alleman, J. E. 1992. Investigation of Batchwise Nitrite Build-Up by an Enriched Nitrification Culture. *Water Science and Technology*. 26 (5-6). 997-1005.

Yang, Q., Peng, Y., Liu, X., Zeng, W., Mino, T., Satoh, H. 2007. Nitrogen removal via nitrite from municipal wastewater at low temperatures using real-time control to optimize nitrifying communities. *Environmental Science and Technology*. 41 (23). 8159-64.

Zeng, W., Zhang, Y., Li, L., Peng, Y., Wang, S. 2009. Control and optimization of nitrifying communities for nitritation from domestic wastewater at room temperatures. *Enzyme and Microbial Technology*. 45 (3). 226-232.

Zhu, S., Chen, S. 2002. The impact of temperature on nitrification rate in fixed film biofilters. *Aquacultural Engineering*. 26 (4). 221-237.

9 Přílohy

Příloha č. 1: Souhrn naměřených průměrných hodnot včetně směrodatných odchylek v etapách I – VIII

Veličina		Průměr / směrodatná odchylka v etapě							
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
T	°C	23,8/0,1	17,3/0,1	24,2/0,1	17,9/0,7	24,3/0,1	17,7/0,5	24,8/0,5	18,5/0,4
Bv-N	kg N/ (m ³ ·d)	0,44/0,06	0,54/0,11	0,75/0,10	0,60/0,06	0,83/0,25	0,95/0,06	1,39/0,19	1,23/0,11
Bx-N	kg N/ (kg·d)	0,63/-	0,71/-	0,52/0,24	0,23/0,07	0,29/0,06	0,19/0	0,37/0,02	0,46/0,21
NL	g/l	0,83/-	0,93/-	1,76/0,80	2,95/1,27	3,16/0,77	6,14/0,49	4,46/0,78	3,66/1,93
NL _{org}	g/l	0,75/-	0,88/-	1,56/0,67	2,56/1,06	2,65/0,45	5,03/0,42	3,70/0,78	3,27/1,63
O ₂ zač.	mg/l	5,5/0,3	5,7/1,4	2,3/1,6	4,0/1,7	2,3/2,0	0,5/0,4	0,5/0,2	1,0/-
O ₂ konec	mg/l	6,7/0,9	6,3/2,1	6,1/1,9	8,2/0,8	6,9/0,4	8,1/0,2	7,9/0,4	-/-
FA zač.	mg/l	23,7/6,3	34,7/6,9	59,4/22,5	20,7/7,1	42,7/15,6	30,1/8,4	80,1/16,4	61,6/-
FA konec	mg/l	0,10/0,04	1,40/1,51	1,92/4,07	0,15/0,05	0,69/0,59	0,26/0,08	0,36/0,07	0,21/-
FNA zač.	mg/l	0,08/0,04	0,05/0,01	0,05/0,02	0,11/0,04	0,05/0,02	0,03/0,00 4	0,02/0,00 4	0,02/-
FNA konec	mg/l	20,8/4,3	2,9/3,2	3,8/16,9	10,0/6,1	4,6/2,1	4,5/0,7	5,5/1,6	6,7/-
pH zač.	-	7,5/0,4	8,0/0,1	8,0/0,2	7,8/0,2	7,8/0,2	7,9/0,1	8,1/0,1	8,0/0,2
pH konec	-	5,3/0,1	6,5/0,6	6,1/0,6	6,0/0,5	6,1/0,3	6,0/0,1	5,9/0,1	5,9/-
E N-amon	%	52/4	52/7	50/7	45/8	51/8	49/6	51/7	51/11
E CHSK	%	6/2	18/13	19/15	6/13	17/9	4/17	21/5	30/11
Rv-N	kg N/ (m ³ ·d)	0,21/0,03	0,29/0,10	0,38/0,10	0,29/0,07	0,43/0,19	0,50/0,08	0,75/0,19	0,57/0,13
Rx-N	kg N/ (kg·d)	0,32/-	0,41/-	0,27/0,13	0,12/0,04	0,14/0,06	0,11/0,01	0,21/0,04	0,23/0,09
N-amon výstup	mg/l	626/29	694/22	800/100	687/141	679/76	604/85	579/64	632/40
N-NO ₂ ⁻ výstup	mg/l	608/72	669/17	663/59	644/36	637/27	530/97	577/100	628/128
N-NO ₃ ⁻ výstup	mg/l	45/9	18/5	43/22	29/15	29/5	21/5	17/5	11/2
Zast. N-NO ₂ ⁻	%	93/2	97/1	94/3	96/2	96/1	96/1	97/1	98/0,4

Seznam příloh:

Příloha č. 1: Souhrn naměřených průměrných hodnot včetně směrodatných odchylek v etapách I – VIII