



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA STAVEBNÍ

FACULTY OF CIVIL ENGINEERING

## ÚSTAV VODNÍHO HOSPODÁŘSTVÍ OBCÍ

INSTITUTE OF MUNICIPAL WATER MANAGEMENT

## LABORATORNÍ TEST INHIBICE DENITRIFIKACE

LABORATORY TEST OF DENITRIFICATION INHIBITION

### BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Jana Marková

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. JITKA MALÁ, Ph.D.

BRNO 2021



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

## FAKULTA STAVEBNÍ

Studijní program	B3607 Stavební inženýrství
Typ studijního programu	Bakalářský studijní program s prezenční formou studia
Studijní obor	3647R015 Vodní hospodářství a vodní stavby
Pracoviště	Ústav vodního hospodářství obcí

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Student	Jana Marková
Název	Laboratorní test inhibice denitrifikace
Vedoucí práce	doc. Ing. Jitka Malá, Ph.D.
Datum zadání	30. 11. 2020
Datum odevzdání	28. 5. 2021

V Brně dne 30. 11. 2020

---

doc. Ing. Ladislav Tuhovčák, CSc.  
Vedoucí ústavu

---

prof. Ing. Miroslav Bajer, CSc.  
Děkan Fakulty stavební VUT

## **PODKLADY A LITERATURA**

Pitter P. 2015. Hydrochemie.

Horáková M. 2000. Analytika vody.

Další literatura dle vlastní literární rešerše.

## **ZÁSADY PRO VYPRACOVÁNÍ**

Cílem práce je optimalizace laboratorního testu inhibice denitrifikace, vyvinutého na Ústavu chemie.

Studentka odzkouší vliv vybraných parametrů na udržení požadovaných podmínek testu.

Provede nezbytné laboratorní experimenty. Naměřená data zpracuje do tabelární a grafické podoby a kriticky je zhodnotí.

Výstupem práce bude metodika testu inhibice denitrifikace s optimalizovanými parametry.

## **STRUKTURA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

VŠKP vypracujte a rozčleňte podle dále uvedené struktury:

1. Textová část závěrečné práce zpracovaná podle platné Směrnice VUT "Úprava, odevzdávání a zveřejňování závěrečných prací" a platné Směrnice děkana "Úprava, odevzdávání a zveřejňování závěrečných prací na FAST VUT" (povinná součást závěrečné práce).

2. Přílohy textové části závěrečné práce zpracované podle platné Směrnice VUT "Úprava, odevzdávání, a zveřejňování závěrečných prací" a platné Směrnice děkana "Úprava, odevzdávání a zveřejňování závěrečných prací na FAST VUT" (nepovinná součást závěrečné práce v případě, že přílohy nejsou součástí textové části závěrečné práce, ale textovou část doplňují).

---

doc. Ing. Jitka Malá, Ph.D.  
Vedoucí bakalářské práce

## **ABSTRAKT**

Bakalářská práce je zaměřena na odzkoušení vlivu daných parametrů s cílem udržení požadovaných podmínek testu inhibice denitrifikace, vyvinutého na Ústavu chemie VUT v Brně. Cílem Bakalářské práce je optimalizace parametrů laboratorního testu, který s takto definovanými parametry bude dále sloužit k testování vlivů pesticidů na průběh denitrifikace a zároveň bude umožňovat sledování osudu těchto látek během denitrifikačního procesu. V teoretické části této práce jsou popsány základní informace týkající se průběhu denitrifikačního procesu a faktorů, které jej přímo ovlivňují. Praktická část se zabývá popisem tří postupně provedených laboratorních testů za použití patřičných analytických metod. Výsledky měření jsou zpracovány do tabulární a grafické podoby. Na základě kritického zhodnocení těchto výstupů vznikla metodika testu s optimalizovanými parametry.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Denitrifikace, pesticidy, topolové hobliny, pH, laboratorní test

## **ABSTRACT**

The bachelor thesis is focused on testing the influence of given parameters in order to maintain the required conditions of the denitrification inhibition test, developed at the Institute of Chemistry, Brno University of Technology. The aim of the bachelor thesis is to optimize the parameters of the laboratory test, which with such defined parameters will be used to test the effects of pesticides on the denitrification process and will allow monitoring the fate of these substances during the denitrification process. The theoretical part of this work describes the basic information about the denitrification process and the factors that directly affect it. The practical part describes the three gradually performed laboratory tests using appropriate analytical methods. The measurement results are compiled into tabular and graphic form. Based on a critical evaluation of these outputs was created a test methodology with optimized parameters.

## **KEYWORDS**

Denitrification, pesticides, poplar shavings, pH, laboratory test

## **BIBLIOGRAFICKÁ CITACE**

Jana Marková *Laboratorní test inhibice denitrifikace*. Brno, 2021. 63 s. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta stavební, Ústav vodního hospodářství obcí. Vedoucí práce doc. Ing. Jitka Malá, Ph.D.

## PROHLÁŠENÍ O SHODĚ LISTINNÉ A ELEKTRONICKÉ FORMY ZÁVĚREČNÉ PRÁCE

Prohlašuji, že elektronická forma odevzdané bakalářské práce s názvem *Laboratorní test inhibice denitrifikace* je shodná s odevzdanou listinnou formou.

V Brně dne 15. 5. 2021

---

Jana Marková  
autor práce

## PROHLÁŠENÍ O PŮVODNOSTI ZÁVĚREČNÉ PRÁCE

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem *Laboratorní test inhibice denitrifikace* zpracoval(a) samostatně a že jsem uvedl(a) všechny použité informační zdroje.

V Brně dne 15. 5. 2021

---

Jana Marková  
autor práce

## **PODĚKOVÁNÍ**

Chtěla bych poděkovat vedoucí mé bakalářské práce doc. Ing. Jitce Malé, Ph.D. za cenné rady, podporu a veškerý čas, který mi věnovala jak při práci v laboratoři, tak při samotném psaní bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat Ondřeji Karáskovi za pomoc při laboratorních analýzách, Ing. Kristíně Pánikové za poskytnutí informací a v neposlední řadě patří mé poděkování rodině a přátelům za trpělivost a morální podporu.

# OBSAH

1	Úvod .....	11
2	Cíle .....	12
3	Dusík ve vodách .....	13
3.1	Formy N ve vodách .....	13
3.1.1	Původ .....	13
3.1.2	Formy výskytu .....	14
3.1.3	Transformace dusíku v ekosystému .....	14
3.1.4	Fixace dusíku .....	15
3.1.5	Anammox .....	15
3.1.6	Amonifikace .....	15
3.1.7	Nitrifikace .....	15
3.1.8	Denitrifikace .....	16
3.2	Amoniakální dusík .....	16
3.3	Dusitany .....	17
3.4	Dusičnany .....	17
3.5	Dusík a oxid dusný .....	18
3.6	Znečištění podzemních vod dusičnany .....	18
3.7	Denitrifikace a faktory, které ji ovlivňují .....	19
4	Test inhibice denitrifikace .....	22
4.1	Popis testu .....	22
4.2	Zkoumané parametry .....	23
4.2.1	Optimalizace frakce hoblin .....	23
4.2.2	Optimalizace dávky organického uhlíku .....	23
4.2.3	Optimalizace dávky NaHCO <sub>3</sub> .....	24
4.3	Kritéria hodnocení .....	24
4.4	Analytické metody .....	25
4.4.1	Stanovení CHSK <sub>Cr</sub> .....	25
4.4.2	Zákal .....	26
4.4.3	Stanovení N-NO <sub>x</sub> .....	26
4.4.4	Spektrometrické stanovení dusitanů α – naftolem .....	26
4.4.5	Výpočet denitrifikační rychlosti .....	27
5	Výsledky a diskuse .....	28
5.1	Optimalizace frakce hoblin .....	28
5.1.1	Analýza surové vody .....	29



5.1.2	Analýza supernatantu.....	29
5.1.3	Zhodnocení testu optimalizace frakce hoblin .....	31
5.2	Optimalizace dávky hoblin .....	32
5.2.1	Analýza surové vody .....	32
5.2.2	Analýza supernatantu.....	32
5.2.3	Zhodnocení testu optimalizace dávky hoblin .....	36
5.3	Optimalizace dávky NaHCO <sub>3</sub> .....	36
5.3.1	Analýza surové vody .....	36
5.3.2	Analýza supernatantu.....	36
5.3.3	Zhodnocení testu optimalizace dávky NaHCO <sub>3</sub> .....	39
6	Závěr, návrh optimálních parametrů testu .....	41
7	Seznam použité literatury .....	42
8	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	46
9	Seznam obrázků .....	47
10	Seznam tabulek .....	48
11	Seznam grafů.....	49
12	Seznam příloh.....	50
13	PŘÍLOHY .....	51
	Příloha 1 analýza výsledků měření – optimalizace frakce hoblin.....	51
13.1	Analýza surové vody (2.12.2020) .....	51
13.1.1	Výčet všech naměřených hodnot .....	51
13.1.2	Souhrnná tabulka průměrných hodnot.....	51
13.2	Analýza supernatantu (9.12.2020) .....	51
13.2.1	Výčet všech naměřených hodnot .....	51
13.2.2	Souhrnná tabulka průměrných hodnot.....	53
	Příloha 2 analýza výsledků měření – optimalizace množství organického uhlíku.....	54
13.3	Analýza surové vody (20.1.2021) .....	54
13.3.1	Výčet všech naměřených hodnot .....	54
13.3.2	Souhrnná tabulka průměrných hodnot.....	54
13.4	Analýza supernatantu (27.1.2021) .....	54
13.4.1	Výčet všech naměřených hodnot .....	54
13.4.2	Souhrnná tabulka průměrných hodnot.....	57
	Příloha 3 analýza výsledků měření – optimalizace dávky NaHCO <sub>3</sub> .....	58
13.5	Analýza surové vody (9.2.2021) .....	58
13.5.1	Výčet všech naměřených hodnot .....	58
13.5.2	Souhrnná tabulka průměrných hodnot.....	58

13.6	Analýza supernatantu (16.2.2021) .....	59
13.6.1	Výčet všech naměřených hodnot .....	59
13.6.2	Souhrnná tabulka průměrných hodnot .....	62

# 1 ÚVOD

V posledních desetiletích se koncentrace pesticidů v povrchových i podzemních vodách značně zvýšila, a to zejména z důvodu vyšší produkce dusíkatých látek v oblasti zemědělské výroby a průmyslu. Spolu s povrchovým odtokem ze zemědělsky obdělávaných ploch nebo prostřednictvím infiltrace se do povrchových i podzemních vod dostávají dusičnany a jiné polutanty. S přibývajícím počtem obyvatel rostou i vyšší nároky na kvalitu vody, a to zejména té, která je určena k přímému užití.

Dnes patří koncentrace dusíku a jeho forem k nejsledovanějším faktorům jakosti vody v čistírenských objektech. Žádné z používaných čistírenských procesů nedokážou odstraňovat polutanty se stoprocentní účinností, a proto je potřeba podpůrného systému. Metodou odstraňování dusičnanů ze zemědělských smyvů *in situ* je denitrifikační bioreaktor, který je využíván především na Novém Zélandu a v Americe. Bioreaktor se umísťuje na okraj pole a je naplněn organickým materiálem, který používají denitrifikační bakterie jako zdroj živin. Povrchový odtok z polí je drenážním systémem sveden přes bioreaktor, kde se rozmnoží bakterie provádějící denitrifikaci a díky nim je následně do recipientu odváděna voda zbavená dusičnanů. [8] [27]

Odpadní voda neobsahuje pouze dusičnany, ale i další polutanty jako je například fosfor, výluhy ze skládkování, silážování a hnojení. Největšími znečišťovateli podzemních vod jsou domácnosti a zemědělský průmysl, který používá různé druhy dusíkatých hnojiv pro zlepšení podmínek růstu plodin. Následkem toho je stále zvyšující-se koncentrace polutantů v podzemních vodách. Na základě směrnice 91/676/EHS, ve znění pozdějších předpisů byla stanovena maximální hodnota možného znečištění podzemních vod dusičnany. Tato hodnota je 50 mg.l<sup>-1</sup>. Při jejím překročení musí být vyrozuměn konkrétní úřad a dané území je zapsáno do seznamu tzv. zranitelných oblastí. [20] [33]

Dále byly v odpadních vodách zaznamenány různé druhy pesticidů a veterinárních antibiotik, jejichž přítomnost má nepříznivé účinky na kvalitu vody. Míra toxicity se liší v závislosti na množství kontaminantu, jeho koncentraci a době expozice. Proto je důležité zajímat se o osud těchto látek, jejich působení a vliv na průběh denitrifikace. [31] [32]

Ve vodách probíhají přeměny jednotlivých forem, z nichž je významná právě redukce dusičnanů na plynný dusík (denitrifikace). O osudu polutantů v denitrifikačních podmínkách chybí informace a doposud nebyl vyvinut standardizovaný test, který by tuto situaci přiblížil. Z tohoto důvodu byl na ústavu chemie fakulty stavební VUT v Brně vyvinut test zabývající se odstraňováním elementárních polutantů za denitrifikačních podmínek a jejich vlivem na proces denitrifikace. [28]

Bakalářská práce je zaměřena na optimalizaci parametrů testu inhibice denitrifikace. Jedná se o odzkoušení vlivu různých parametrů s cílem udržení podmínek pro úspěšný průběh testu. Výstupem je metodika testu inhibice denitrifikace s optimalizovanými parametry.

## 2 CÍLE

Cílem bakalářské práce bylo seznámit se s již vyvinutým testem inhibice denitrifikace na Ústavu chemie VUT v Brně a za pomoci provedení třech navazujících testů optimalizovat vhodné podmínky pro průběh denitrifikace:

- určení optimální velikostní frakce dřevěných hoblin s optimalizovanou dávkou organického uhlíku (25 g hoblin) a přídavkem  $0,5 \text{ g.l}^{-1} \text{ NaHCO}_3$ ;
- zjištění potřebné dávky zdroje organického uhlíku ve formě dřevěných hoblin do 2 l média, ve kterém je test prováděn s využitím velikostní frakce 1-1,5 cm a koncentrace  $0,5 \text{ g.l}^{-1} \text{ NaHCO}_3$ ;
- zjištění potřebného přídavku  $\text{NaHCO}_3$ , jakožto zdroje tlumivé kapacity, do 2 l média s použitím 25 g hoblin o velikostní frakce 1-1,5 cm.

### 3 DUSÍK VE VODÁCH

Dusík je nedílnou součástí všech biologických procesů probíhajících v podzemních, povrchových i odpadních vodách. Ve vodách se vyskytuje ve formách organických i anorganických. Řadí se do skupiny významných nutrientů a je velmi důležitý pro přežití živých organismů, kteří ho využívají k růstu a v některých případech k energii. Spolu s fosforem způsobuje eutrofizaci vod. Přítomnost dusíkatých sloučenin ve vodě má často za následek pokles rozmanitosti druhů organismů žijících ve vodním prostředí. [12]

Přísun nutrientů do vod byl v minulém století výrazně navýšen. Způsobil ho zejména rozvoj průmyslových závodů, továren na spalování fosilních paliv a používání syntetických hnojiv na dusíkaté bázi. Dopad na kvalitu vod měla i urbanizace přímořských oblastí. V těchto oblastech nyní dominuje organický dusík  $N_{org}$  před dusíkem anorganickým  $N_{anorg}$ . [11] S rostoucí koncentrací  $N_{org}$  v povrchových vodách vzrůstá četnost škodlivých a toxických vodních květů a eutrofizace. K tomuto dochází právě v pobřežních rozrůstajících se oblastech. [22]

#### 3.1 Formy N ve vodách

Dusík se ve vodách vyskytuje v různých oxidačních stupních. Mezi hlavní formy výskytu patří elementární dusík, dusík anorganicky vázaný (amoniakální dusík, dusitanový dusík, dusičnanový dusík) a dusík organicky vázaný. Formy dusíku, vyskytující se v různém zastoupení v čistých i odpadních vodách jsou shrnuty v tabulce 1. [2] [14]

Tab. 1 Oxidační stupně dusíku ve vodách [14]

Oxidační stupeň	Forma dusíku
-III	Amoniakální dusík ( $N-NH_3^-$ a $N-NH_4^+$ ), Kyanidy ( $CN^-$ ), Kyanatanty ( $OCN^-$ )
-I	Hydroxylamin ( $NH_2OH$ )
0	Elementární dusík $N_2$
+I	Oxid dusný $N_2O$
+III	Dusitanový dusík $N-NO_2^-$
+V	Dusičnanový dusík $N-NO_3^-$

##### 3.1.1 Původ

Do vod se dusík dostává vyplavením dusičnanů především ze zemědělských půd. Do zemědělsky obdělávané půdy se dostává prostřednictvím dusíkatých hnojiv, která obsahují amoniakální dusík. Dalším možným původem sloučenin dusíku ve vodách je rozklad organické hmoty v půdě, vypouštění odpadních vod z domácností a průmyslu a spalování fosilních paliv. Do vod se také mohou dostávat oxidy vyskytující se v atmosféře. Tento přestup atmosférického dusíku prostřednictvím srážek dopadajících na vodní hladinu se ročně pohybuje v rozmezí 1 g až 2 g na 1 m<sup>2</sup> povrchu. Co se týká odpadních vod z domácností, zde je důležitá hodnota specifické produkce připadající na 1 obyvatele za 1 den. Běžně uvažovaná hodnota pro hydrotechnické výpočty je 12 g na 1 obyvatele za 1 den. [14] Je nutno počítat s tím, že se tato hodnota není jednotná, ale kolísá v závislosti na bytové vybavenosti.

Původ dusičnanů ve vodách se odhaduje prostřednictvím poměru jednotlivých forem, který je pro různé způsoby vzniku odlišný. Z daného poměru lze tedy určit, zda se jedná o dusičnany vzniklé rozkladem organických látek přímo ve splaškových a odpadních vodách nebo se do vod dostaly prostřednictvím dusíkatých hnojiv ze zemědělsky obdělávaných půd či byl jejich vznik zapříčiněn mineralizací organických látek v půdě. [14]

### 3.1.2 Formy výskytu

Jsou zastoupeny oxidační stupně: -III, -I, 0, +I, +III, +V. Nejvýznamnější je oxidační stupeň -III, který je do vod dostáván smyvem a infiltrací do nižších vrstev ze zemědělsky obdělávaných půd. Jedná se o amoniakální dusík ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NH}_3$ ). Další vyskytující formy jsou hydroxylaminy s oxidačním číslem -I ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ), elementární dusík ( $\text{N}_2$ ) plynného skupenství s neutrálním oxidačním číslem 0, oxid dusný ( $\text{N}_2\text{O}$ ) s oxidačním číslem +I, dusitanový dusík ( $\text{N-NO}_2^-$ ) s oxidačním číslem +III a dusičnanový dusík ( $\text{N-NO}_3^-$ ) s oxidačním číslem +V. [6]

Ve vodách se zjišťuje celkový dusík prostřednictvím prosté sumační metody z dílčích stanovení nebo se instrumentálně stanovuje celkový vázaný dusík  $\text{TN}_b$  (*total bound nitrogen*). Zjištěný celkový dusík se dále dělí na organicky vázaný a anorganicky vázaný. Mezi sloučeniny obsahující organicky vázaný dusík považujeme například bílkoviny a močovinu. [14]

Anorganicky vázaný dusík patří mezi významné ukazatele znečištění odpadních vod. Hlavními zástupci jsou dusitany a dusičnany, které se zpravidla stanovují dohromady a jejich součet značíme jako celkový oxidovaný dusík  $\text{N}_{\text{ox}}$ . Další variantou (méně častou) je stanovení každé sloučeniny zvlášť pomocí analytické metody. [16]

$$\text{N}_{\text{anorg}} = \text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_2^- + \text{N-NO}_3^- \quad (3.1)$$

Jedna z možností stanovení organicky vázaného dusíku ve vodách je stanovení prostřednictvím Kjehldalovy metody, kde se stanoví organický i amoniakální dusík zároveň a následně odečtením získáme samotný organicky vázaný dusík. Tato metoda je v dnešní době používaná jen zřídka a upřednostňuje se výpočet organického dusíku jako rozdíl mezi dusíkem celkovým a anorganickým. [16]

### 3.1.3 Transformace dusíku v ekosystému

V důsledku nízké stability prvku ve vodě dochází k přeměnám, kdy jedna forma přechází v druhou. Soubor těchto přeměn je znázorněn na obrázku 1. Mezi jeho nejvýznamnější procesy, kterými jsme se zabývali jsou nitrifikace, denitrifikace a amonifikace, které hrají zásadní roli v procesu čištění odpadních vod. [2] Amonifikace značí přeměnu organicky vázaného dusíku na amoniak.

Významné procesy, ke kterým dochází ve vodě jsou oxidace amoniaku na dusitany a následně dusičnany (nitrifikace), redukce dusičnanů na plynný dusík (denitrifikace) a anoxická oxidace amoniaku (anammox) Tyto procesy jsou využívány v čistírenských objektech. [2]

Dusíkatá hnojiva používaná v zemědělství se se splachem vrchní vrstvy půdy dostávají do vodárenských toků. Tam způsobí hypoxii nebo dokonce anoxii, což způsobuje změnu v rozmanitosti vodních druhů nebo smrt jedinců. Zvýšená koncentrace dusíku ve vodě zvyšuje její pH a může vést k infekčním onemocněním při delším pobytu v takto znečištěné vodě. [3]



a heterotrofních organismů způsobující oxidace v prvním stupni je např. rod *Nitrosomonas* a *Nitrosococcus*. Pomáhají oxidaci amoniakálního dusíku  $\text{NH}_4^+$  na dusitaný  $\text{NO}_2^-$ . V druhém stupni, kdy dochází k oxidaci dusitanů na dusičnany, působí např. bakterie z rodu *Nitrobacter* a *Nitrospira*. [10] [3] Rovnice ukazující celý průběh nitrifikace jsou schematizovány níže. Autotrofní bakterie umožňující nitrifikaci získávají energii pouze z oxidace  $\text{NH}_4^+$  na  $\text{NO}_2^-$ . Této energie není dostatek, a proto růst a vývoj bakterií je pomalý. Dokážou vytvořit z 1 mg N 0,05 mg biomasy, což značí, že na 1 mg N- $\text{NH}_4$  je potřeba být ve vodě přítomno 4,33 mg kyslíku. [6]

Nitrifikace probíhá v rámci čištění odpadních vod v aktivačních nádržích a bývá doprovázena procesem denitrifikace.



### 3.1.8 Denitrifikace

Denitrifikace je děj, při kterém dochází k redukci dusičnanů přes mezilehlé plynné formy dusíku ( $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ) na plynný dusík  $\text{N}_2$ , který lze z média snadno odvětrat. Celý tento proces probíhá v aktivační nádrži v anoxických podmínkách s obsahem kyslíku do 0,5  $\text{mg.l}^{-1}$ . Aby denitrifikace mohla probíhat je potřebný organický substrát (zdroj organického uhlíku), který slouží jako potrava mikroorganismů. Mezi denitrifikační bakterie patří fakultativně anaerobní organismy např. rodů *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Bacillus* a *Paracoccus*. Pro redukci 1 mg N- $\text{NO}_3^-$  je potřeba 1,3 mg organického substrátu. Průběh denitrifikace závisí na množství organického substrátu, teplotě i hodnotě pH. Ve vodě s pH nižším než 7 (kyselé prostředí) reakce probíhá pomaleji a vzniká velké množství plynných meziproductů  $\text{NO}$  a  $\text{N}_2\text{O}$ . Při vyšším pH (zásadité prostředí) převažuje produkce dusíku  $\text{N}_2$ . [10]



## 3.2 Amoniakální dusík

Amoniakální dusík ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NH}_3$ ) se do vod dostává rozkladem organických látek rostlinného a živočišného původu nebo prostřednictvím vzdušných emisí z oblastí technologických závodů živočišné výroby. Emise dusíku tohoto původu dosahuje poměrně vysokých hodnot 40 kg amoniakálního dusíku na 1 krávu za 1 rok. [17]

Při kontaktu amoniaku s vodou se amoniak začíná rozpouštět a vzniká hydrát  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  a dále disociuje na ionty  $\text{NH}_4^+$  a  $\text{OH}^-$ . Postup přeměny je popsán následující rovnicí Nedisociovaná forma  $\text{NH}_3$  v určitých případech, které závisí na pH, teplotě, době expozice a množství kyslíku ve vodě, působí na vodní živočichy vysoce toxicky a může způsobit jejich úhyn. [14] [1]





Amoniak je hojně obsažen v odpadních vodách a je nezbytný pro tvorbu nové biomasy mikroorganismů. [14]

V čistých vodách je průměrný obsah do 0,1 mg.l<sup>-1</sup> a ve vodách organicky znečištěných v desítkách mg.l<sup>-1</sup>. Pro porovnání koncentrace amoniakálního dusíku v odpadech ze silážování či v močůvce se pohybuje v hodnotách od stovek mg.l<sup>-1</sup> až po tisíce mg.l<sup>-1</sup>. [14] [16]

Koncentrace forem NH<sub>4</sub><sup>+</sup> i NH<sub>3</sub> se stanovuje dohromady laboratorními zkouškami.

### 3.3 Dusitany

Dusitany jsou nestálé sloučeniny a často dochází k jejich oxidaci nebo redukci. Ve vodách jsou přítomné pouze ve velmi nízkých až stopových koncentracích, protože se velmi často mění jejich oxidační číslo. Ve vyšších koncentracích se dusitany vyskytují v průmyslových odpadních vodách. [11]

Dusitanový dusík hraje roli meziprojektu chemických a biochemických procesů, zejména nitrifikace, při které dochází k jeho oxidaci na NO<sub>3</sub> a denitrifikace na N<sub>2</sub>O nebo až na elementární dusík N<sub>2</sub>. K redukci dusičnanů dochází velmi zřídka. V atmosféře dusitany vznikají při průchodu elektrického proudu plynem (elektrický výboj) oxidací elementárního dusíku.

Velké množství dusitanů obsahují průmyslové odpadní vody odtékající z továren na výrobu barviv a ze strojírenských závodů. V těchto podnicích se sloučeniny dusíku používají jako inhibitory koroze a nemrznoucí kapaliny. V odpadních vodách se jejich množství vyskytuje v desítkách mg.l<sup>-1</sup>. Dusitany dostávají se do vodovodní infrastruktury a následně ke spotřebiteli nesmí dle vyhlášky č. 70/2018 Sb. přesahovat hodnotu 0,5 mg.l<sup>-1</sup>. [9]

Dusitany při vyšších koncentracích, než je dáno limitem určujícím kvalitu pitné vody, mají negativní vliv na lidské zdraví. Dusitany, které se dostanou do lidského těla po vstřebání do krve reagují s hemoglobinem (Fe<sub>2</sub><sup>+</sup>) a mění ho na methemoglobin (Fe<sub>3</sub><sup>+</sup>), který pevně váže kyslík, a tím zamezí jeho přenosu. Je zejména nebezpečný pro kojence do 3 měsíců věku, pro které může být dávka od 1 do 10 mg NO<sub>2</sub> smrtelná nebo způsobující vážné následky. Krev kojenců obsahuje fetální hemoglobin (hemoglobin F), který snadněji podléhá oxidaci než hemoglobin v těle dospělého jedince. Dále kojenci nemají plně vyvinut enzymový oxido-redukční systém katalyzující zpětnou redukci methemoglobinu. Z důvodu negativního až fatálního vlivu dusitanů na lidské zdraví je stanovena mezní hodnota pro pitnou vodu 0,5 mg.l<sup>-1</sup>. Požadavky na balenou kojeneckou vodu jsou přísnější a nejvyšší dovolená koncentrace N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> je 0,02 mg.l<sup>-1</sup>. [7] [6] [9] [5]

### 3.4 Dusičnany

Za přítomnosti kyslíku ve vodách jsou dusičnany velmi stabilní, zatímco při jeho nedostatku probíhá biologická redukce na dusitany. [11]

Vznikají sekundárně při nitrifikaci amoniakálního dusíku, který je hlavním zdrojem hnojení zemědělsky obdělávaných půd. Dále mohou vznikat při výbojích v atmosféře oxidací elementárního dusíku. V čistých povrchových a podzemních vodách se vyskytují v jednotkách mg.l<sup>-1</sup>, zatímco ve vodách odpadních a průmyslově znečištěných koncentrace dosahují řádově

desítek mg.l<sup>-1</sup>. Obecně lze říct že jejich zastoupení ve vodách je téměř jisté a jejich koncentrace se za posledních sto let až zpětinásobila. [7]

Dusičnany nejsou ve své podstatě škodlivé. Škodlivé jsou až následné formy, na které se dusičnany redukují. Tento děj často probíhá až v trávicím traktu, kde způsobí onemocnění. Dle vyhlášky č. 70/2018 Sb. je nejvyšší mezní hodnota koncentrace dusičnanů v pitné vodě 50 mg.l<sup>-1</sup>. Pro balenou kojeneckou vodu platí hodnota 10 mg.l<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub>. Maximální přípustné znečištění vod dostávající se do vodárenských toků je 3,4 mg/l N-NO<sub>3</sub>. Obsah dusičnanů při vypouštění odpadních vod nebo průmyslových odpadních vod patří mezi závazné ukazatele používané ke klasifikaci čistoty vody. [7] [6] [9] [16]

### 3.5 Dusík a oxid dusný

Hlavními formami organicky vázaného dusíku jsou bílkoviny, jejich rozkladné produkty a močovina. Jsou živočišného původu, rostlinného původu nebo jsou součástí odpadních vod především z potravinářského průmyslu. Maximální přípustné znečištění vodárenských toků je 1,5 mg.l<sup>-1</sup>. [16]

Oxid dusný (N<sub>2</sub>O), který je meziproductem v denitrifikaci i nitrifikaci. Je nazýván rajský plyn a patří mezi nejdůležitější skleníkové plyny, které výrazně přispívají ke globálnímu oteplování. Jeho emise jsou kontrolovány dle mezinárodní smlouvy o klimatických změnách (Kjótský protokol). Oxid dusný vzniká při denitrifikaci z dusitanového dusíku N-NO<sub>2</sub>. V povrchových vodách se vykytuje ve velmi malých koncentracích a není prokázán jeho negativní vliv na lidské zdraví, proto se jeho množství pro účely kontroly kvality vody nestanovuje. [7]

Zajímáme se o něj zejména kvůli destruktivním účinkům na ozónovou vrstvu. V dnešní době se vědci zabývají jeho ničivými účinky, které přesahují negativní vliv halogenderivatů uhlovodíků-freonů. Plynný oxid dusný při kontaktu s ozónovou vrstvou oxiduje za tvorby oxidu dusičitého. Tento děj je popsán rovnicí 3.12. [7]



### 3.6 Znečištění podzemních vod dusičnany

Obsahy nitrátů ve vodách dosahují často hodnot, které překračují limity dané legislativou. Rada Evropských společenství přijala směrnici 91/676/EHS, ve znění pozdějších předpisů, která pojednává o ochraně vod před znečištěním dusičnany ze zemědělských zdrojů. [20] Největší podíl na znečištění podzemních vod mají domácnosti, průmysl, výluhy ze skládkování, silážování a hnojení. V rámci průzkumů podzemních vod na území České republiky byla zjištěna vysoká koncentrace dusíku, fosforu a pesticidů používaných v současné době v zemědělském odvětví. Jedná se o pesticidy např. *acetochlor*, *metolachlor* a *terbutylazin*. [21] [19] [5]

V předpise z roku 2003 pro zamezení vstupu polutantů do podzemních vod (nitrátová směrnice) je jasně stanovena povinnost každého státu evropské unie definovat oblasti na jejichž území dochází k nadměrnému přestupu N do podzemní vody. V rámci této směrnice byla stanovena limitující hodnota pro dusičnany 50 mg.l<sup>-1</sup> a při jeho překročení musí být dané území zapsáno do seznamu tzv. zranitelných oblastí. [19] Oblasti v České republice s vysokou

koncentrací dusičnanů ve vodách jsou povinny učinit potřebné kroky minimalizující úniky N do podzemních vod. [33] Dále jsou povinny klást důraz na správné hospodaření se statkovými hnojivy a pesticidy. V rámci Evropy byla zjištěna skutečnost, že až třetina všech podzemních toků překračuje současnou limitní hodnotu pro koncentraci dusičnanů ve vodách. [18][19][5]

Odpadní vody často obsahují dusičnany a agrochemikálie. Především se jedná o pesticidy a veterinární antibiotika. Tyto látky používají především k hubení škůdců a plevelů v rámci zemědělského odvětví. [13]

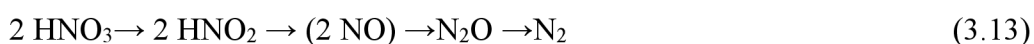
Další příčinou vyššího množství dusíku v podzemních vodách je používání dusíkatých hnojiv, které jsou využívány na urychlení a podporu růstu pěstované plodiny. Bez použití těchto látek by zemědělci přišli o značnou část zemědělské úrody, a tím i výnos. Bylo zjištěno, že přibližně 10 % aplikovaného hnojiva se dostává do podzemních vod a způsobuje zhoršení kvality vody. [18]

Problém s překročením limitu pro dusičnany nastává zejména v období vegetačního klidu, kdy je orná půda bez kultur, které používají organické hnojivo pro svůj růst. V době nepřítomnosti plodiny se na ornou půdu aplikují digestáty, fugáty či kejdy (obvykle v době brzkého jara a konce zimy), které se z velké části dostávají do podzemních vod, kde působí toxicky. [18] [19] [21]

Na odtoku ze zemědělsky obhospodařované půdy mohou být drenážní vody zbaveny velkého množství  $\text{NO}_3$  vystavením denitrifikačních bioreaktorů. Jedná se o *in situ* technologii, kde náplní bioreaktoru je dřevní štěpka [8], která slouží jako zdroj energie pro denitrifikační bakterie. Ty se v bioreaktoru rozmnoží a způsobí redukcí dusičnanů z vody. Vliv polutantů na průběh denitrifikace není zcela znám. [22] Tato technologie odstraňování dusičnanů je využívána zejména v Kanadě, v USA a na Novém Zélandě. V ČR na ústavu chemie VUT v Brně se zabýváme studiem této technologie a vlivů na průběh denitrifikace, aby bylo možné její zavedení do praxe.

### 3.7 Denitrifikace a faktory, které ji ovlivňují

Denitrifikace představuje hlavní větev biogeochemického cyklu dusíku, která vrací dusík v plynné formě do atmosféry a tím udržuje jeho rovnováhu. Dnes je proces denitrifikace používán v procesech určených k biologickému odstraňování dusíku a ke zvýšení kvality a jakosti vody. Jedná se o postupnou redukcí nitrátů za přítomnosti lehce rozložitelných organických látek se vznikem meziproductů, především dusitanů, až na elementární dusík. Emise oxidů dusíku, především se jedná o meziproducty denitrifikace  $\text{N}_2\text{O}$  a  $\text{N}_2$ , jsou z environmentálního hlediska nežádoucí. Výrazně přispívají ke globálnímu skleníkovému efektu a k narušení ozónové vrstvy. Průběh denitrifikace lze popsat následujícími rovnicemi. [29]



Výše uvedená rovnice je některými autory psána bez oxidu dusnatého (NO), jelikož ho nepovažují za meziproduct, ale za produkt vedlejší reakce. Jednotlivé kroky denitrifikačního procesu lze vyjádřit takto:





Průběh denitrifikace ovlivňuje celá řada faktorů, jako jsou např. teplota, vlhkost, hodnota pH a koncentrace rozpuštěného kyslíku. Pro samotný průběh je potřeba přítomnost aktivní populace denitrifikačních bakterií a přítomnost snadno rozložitelného organického substrátu (živiny). V případě optimálních podmínek pro průběh, může denitrifikace nastat prakticky kdekoli. Denitrifikační bakterie jsou všudypřítomné a vyskytují se nejen v podzemních a povrchových vodách, ale i v mořských systémech a půdě. [29] [25]

*Tab. 2 Faktory ovlivňující průběh denitrifikace*

Faktor	Optimální hodnota	
Teplota	25 - 30	[°C]
Vlhkost půdy	60 - 100	[%]
Koncentrace O <sub>2</sub>	< 0,5	[mg.l <sup>-1</sup> ]
pH	6 - 8	[-]

Optimální teplota pro denitrifikaci v půdách se pohybuje v rozmezí 25 °C až 30 °C, avšak v přírodních podmínkách bylo zjištěno, že nastává už při teplotě blízké 0 °C. Při teplotách pod 5 °C je průběh denitrifikace značně potlačen. Závislost denitrifikační rychlosti na teplotě popisuje Arrheniova rovnice. Se vzrůstající teplotou se zvyšuje rychlost difuze substrátu a nutrientů do buněk a míra enzymatické aktivity. Zjednodušeně lze konstatovat, že s každým navýšením teploty o 10 °C se denitrifikační rychlost zdvojnásobí. Ale při překročení optimální teploty pohybující se kolem 30 °C dochází ke znehodnocení enzymů a ty nejsou dále schopny uskutečnit chemickou reakci. [25] [30] [24]

Denitrifikace v půdě je nejúčinnější při jejím nasycení od 60 % do 100 % MVK (maximální vodní kapacity). Zvýšená vlhkost půdy pomáhá k anoxickým podmínkám a zvyšuje podíl produkovaného N<sub>2</sub> z půdy. [15] [24]

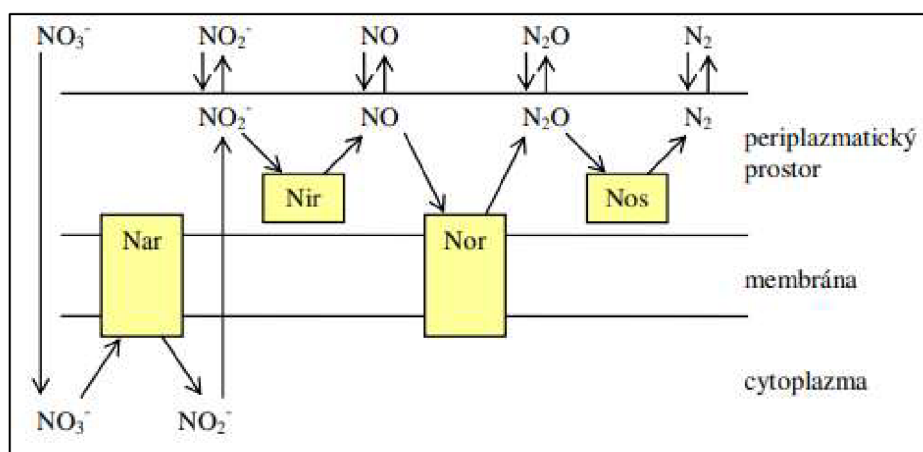
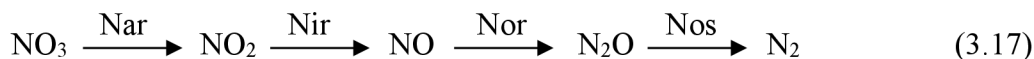
Obvykle se uvádí, že denitrifikace probíhá za anoxických podmínek, kdy ve vodě není obsažen žádný rozpuštěný elementární kyslík. To ale není úplně přesné. Na základě vědeckých studií víme, že denitrifikace probíhá i v přítomnosti volného molekulárního kyslíku. Tento jev je ovšem velmi vzácný.

Standardní situace je taková, že pokud je ve vodě přítomen kyslík, bakterie ho využívají přednostně. Nejdříve přítomné bakterie spotřebovávají kyslík z důvodu vyššího energetického zisku a až po jeho vyčerpání dusík vázaný v dusitanech a dusičnanech. Platí, že čím větší je koncentrace kyslíku, tím vznikne více meziproduktů. Důkazem je vzrůstající poměr podílu N<sub>2</sub>O / N<sub>2</sub> při vzrůstající koncentraci O<sub>2</sub>. [25] [30] Obecně lze tedy konstatovat, že kyslík denitrifikační přeměně nepomáhá, ale naopak proces denitrifikace oddaluje.

Denitrifikace probíhá v poměrně širokém rozmezí hodnot pH od 3,9 do 9,0, avšak optimální hodnota by se měla pohybovat v blízkosti hodnoty 7. V okolí neutrální hodnoty dochází k optimální rychlosti růstu nejen denitrifikačních bakterií. V odborné literatuře se uvádí

vhodné rozmezí od 6 do 8, ale při větší výchylce než  $\pm 1$  jednotka od neutrální hodnoty, může dojít k omezení enzymové aktivity, a při poklesu pod 4 k úplnému zastavení růstu bakterií. Hodnota pH 7,3 při denitrifikaci je tzv. přelomovou hodnotou, která dokáže ovlivnit výsledný produkt. Vyšší hodnota způsobí, že výsledným produktem denitrifikace je plynný dusík  $N_2$ , a naopak při hodnotách nižších je konečným produktem  $N_2O$ . [25] [30]

V našich podmínkách je redukce prováděna primárně heterotrofními bakteriemi, které se vyznačují specifickou potřebou organického substrátu, který využívají jako zdroj uhlíku a energie pro svůj vývoj. Nejznámějšími rody obsahující velké množství denitrifikačních bakterií jsou např. rody *Alcaligenes*, *Bacillus* nebo *Pseudomonas*. [26] [23] Řada denitrifikačních bakterií neprodukuje celou kompletní sadu enzymů potřebných k průběhu denitrifikace dle rovnice 3.13, ale vzájemně se doplňují. V literatuře může být proces denitrifikace také nazýván komunitním procesem k jehož uskutečnění je potřeba 4 enzymů. Během každého kroku přeměny je zapotřebí jednoho enzymu. Těmito enzymy jsou disimilační nitrátová reduktáza (Nar), nitrit reduktáza (Nir), reduktáza oxidu dusnatého (Nor) a reduktáza oxidu dusného (Nos). [25] [26]



Obr. 2) Syntéza denitrifikačních enzymů [30]

## 4 TEST INHIBICE DENITRIFIKACE

Test bude sloužit k testování vlivu pesticidů na průběh denitrifikace. Test bude zároveň umožňovat sledovat osud těchto látek během denitrifikačního procesu, tedy jejich biotransformaci a adsorpci na dřevní štěpku (hobliny). Účelem testování různých parametrů je nastavení vhodných podmínek pro průběh denitrifikace. Testovanými parametry jsou velikostní frakce, potřebná dávka hoblin a množství přídavku  $\text{NaHCO}_3$ .

### 4.1 Popis testu

Celkem se uskutečnily tři sériové testy s cílem optimalizace předem zvolených parametrů. Test byl simulován v laboratorních podmínkách za použití lahví o objemu 2 l. Každé měření probíhalo ve třech opakováních z důvodu vyšší přesnosti výsledků.

V prvním testu bylo potřeba zjistit vhodnou frakci topolových hoblin, které slouží jako zdroj organického uhlíku pro denitrifikační bakterie. Pro druhý test byla použita vhodná frakce hoblin zjištěná v předešlém měření a úkolem bylo zjistit optimální dávku hoblin do 2 l média. V posledním testu bylo cílem zjistit nejvhodnější dávku  $\text{NaHCO}_3$ , který je do kapalného média přidáván jako zdroj tlumivé kapacity.

Pro nasazení testu byly použity láhve o objemu 2 l, do kterých bylo postupně naváženo testované množství topolových hoblin. Vzorky byly zpracovány ve trojím opakování. Médium se skládalo z 2000 ml destilované vody obohacené o  $\text{NaHCO}_3$  v koncentraci  $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$  a  $\text{KNO}_3$  o koncentraci  $5 \text{ mg.l}^{-1}$ . Výsledná koncentrace  $\text{N-NO}_3$  a hodnota pH se po důkladném rozmíchání změřila sondou a zaznamenala do zápisového archu. Obsah každé lahve bylo potřeba probublat argonem po dobu několika minut, dokud koncentrace kyslíku ve vzorku neklesla pod  $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$ . To napomohlo ke značnému urychlení náběhu denitrifikace. Následně se lahve uzavřely gumovou rukavicí a umístili do termostatu bez přístupu světla o konstantní teplotě  $T = 20 \text{ }^\circ\text{C}$ . Vzorek se v termostatu nechal po dobu 7 dnů. Po uplynutí inkubační doby se provedlo ukončení testu. Ihned po otevření lahví se změřila hodnota  $\text{O}_2$  a pH. Následně se vzorky zfiltraly přes kvalitativní filtrační papír, který nám pomohl oddělit hobliny od kapalného média. Dle analytických návodů, blíže popsané v kapitole 4.4, se z filtrátu stanovily koncentrace  $\text{N-NO}_x$ ,  $\text{N-NO}_2$  a  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  ve vzorku. Dále se změřila absorbance a zákal a vše se zaznamenalo do zápisového archu pro budoucí vyhodnocení.

Průběh všech tří testů byl velice podobný. Rozdíly v jednotlivých testech jsou popsány v kapitole 4.2.



Obr. 3) *Optimalizace množství hoblin*



Obr. 4) *Nasazení testu*

## 4.2 Zkoumané parametry

Jednalo se o odzkoušení vlivu parametrů na průběh testu inhibice denitrifikace simulovaného v laboratorních podmínkách.

### 4.2.1 Optimalizace frakce hoblin

Prvním parametrem bylo určení vhodné velikostní frakce hoblin. Jednalo se o odzkoušení frakcí 1-1,5 cm a 0,5-1 cm, které se získaly pomocí prosévací zkoušky. Test byl proveden s dávkou hoblin 25 g a koncentrací  $\text{NaHCO}_3$   $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$  a bylo využito 6 lahví o objemu 2 l. Průběh testu je vyobrazen na obrázcích 3 a 4.

### 4.2.2 Optimalizace dávky organického uhlíku

Druhým parametrem byla dávka zdroje organického uhlíku. Pro tento účel nám sloužily topolové hobliny o rozdílném množství. Byly testovány dávky 15 g, 25 g a 40 g do 2 l média. Pracovalo se s frakcí 1-1,5 cm a koncentrací  $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$   $\text{NaHCO}_3$ . Pro určení tohoto parametru bylo využito 9 lahví.

### 4.2.3 Optimalizace dávky NaHCO<sub>3</sub>

V posledním testu bylo cílem zjistit nejvhodnější dávku NaHCO<sub>3</sub>, který je do kapalného média přidáván jako zdroj tlumivé kapacity a zároveň slouží k zajištění příznivého pH pro denitrifikační proces. Pracovalo se s 3 paralelními vzorky s celkovým počtem 12 vzorků. Pro tento test se navážilo 25 g hoblin o velikostní frakci 1-1,5 cm. Oproti minulému měření se v jednotlivých trojicích lišil přídavek NaHCO<sub>3</sub>. Jeho množství je uvedeno v následující tabulce.

Tab. 3 Dávky NaHCO<sub>3</sub>

Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	
[g na 7 l]	[g.l <sup>-1</sup> ]
0	0
3,5	0,5
7	1
14	2

### 4.3 Kritéria hodnocení

Vyhodnocení proběhlo na základě níže uvedených parametrů.

- pH
- N-NO<sub>x</sub>
- O<sub>2</sub>
- N-NO<sub>2</sub>
- CHSK<sub>Cr</sub>
- denitrifikační rychlost



## 4.4 Analytické metody

Pro uskutečnění testů byly použity níže uvedené analytické metody.

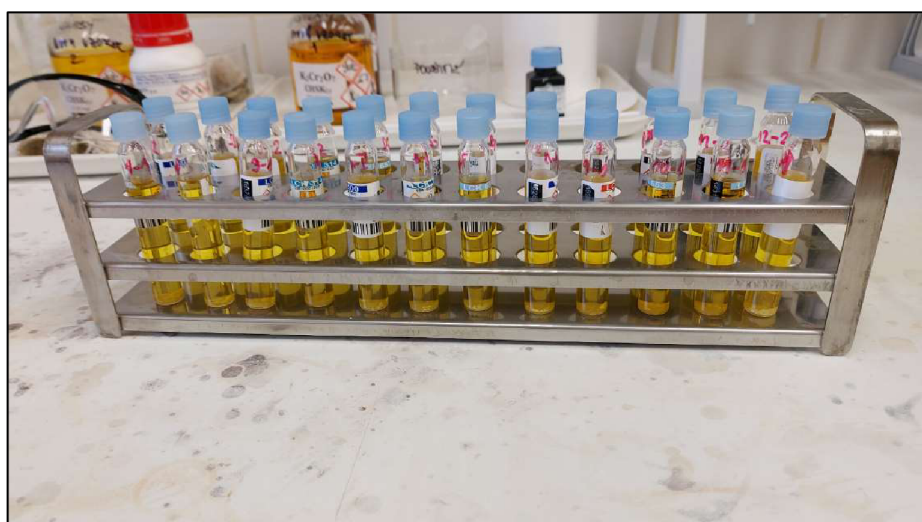
### 4.4.1 Stanovení $CHSK_{Cr}$

Stanovení organických látek se provedlo semimikrometodou na spektrofotometru HACH DR3900. Dále bylo pro stanovení použito: deionizovaná voda, mineralizační blok LT 200, pipeta s nastavitelným objemem Labopette od značky Hirschmann, dichroman draselný (standardní roztok o koncentraci  $1/48 \text{ mol.l}^{-1}$ ) a síran rtuťnatý v pevném skupenství. [1]

Nejprve se do řádně umytých a vychladlých zkumavek (Hach) v exikátoru odměřilo malou lžičkou přibližně 50 mg  $\text{HgSO}_4$  a přilily se 2 ml zfiltrovaného vzorku s hodnotou  $CHSK_{Cr}$  v rozmezí 30 až  $400 \text{ mg.l}^{-1}$ . Dále se pomocí pipety přidal 1 ml roztoku  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  o koncentraci  $1/48 \text{ mol.l}^{-1}$  a 3 ml roztoku síranu stříbrného v koncentrované kyselině sírové. Ihned začala probíhat reakce jejímž vedlejším produktem je teplo. Zkumavka se uzavřela a umístila do předem nahřátého mineralizačního bloku na teplotu  $148 \text{ }^\circ\text{C}$  a při této teplotě dále probíhal proces mineralizace po dobu 1 hodiny. Po skončení procesu mineralizace se vzorek nechal zcela vychladnout. Následné stanovení absorbance z vychladlých zkumavek je popsáno níže. Přepočítání hodnoty  $CHSK_{Cr}$  z absorbance je znázorněno následujícími rovnicemi. První rovnice popisuje obecný předpis pro výpočet chemické spotřeby kyslíku. Druhá rovnice popisuje výpočet na základě rozdílů intenzity zbarvení, která je již upravená našimi podmínkami. [1]

$$CHSK_{Cr} = \frac{500 \cdot (A_1 + A_v)}{A_0 - A_z} \quad (4.1)$$

$$CHSK_{Cr} = \frac{500 \cdot (1,475 - A_v)}{1,346} \quad (4.2)$$



Obr. 5) *Spektrometrické stanovení dusitanů*

Pro vyhodnocení absorbance byl použit spektrofotometr DR3900 zchlazený na laboratorní teplotu. Měření probíhalo na uzavřených zkumavkách Hach, které se postupně vsouvaly do spektrometru, který prováděl vyhodnocení. Před vsunutím bylo nutné přístroj

zkalibrovat a vynulovat pomocí zkumavky s destilovanou vodou. Dále bylo potřeba eliminovat možné rušivé vlivy jako je znečištění zkumavky. To se provedlo pomocí jemného hadříku. Stanovení probíhalo při vlnové délce 254 nm. Výsledná absorbance byla dosazena do rovnice 4.2 pro výpočet chemické spotřeby kyslíku. [1]

#### 4.4.2 Zákal

Měření zákalu dokonale homogenizovaného vzorku proběhlo pomocí spektrometru DR3900. Zákal vzorku se stanovil 5 cm kyvetou při vlnové délce 560 nm. [1]

#### 4.4.3 Stanovení N-NO<sub>x</sub>

Stanovení dusitanů a dusičnanů (dohromady označovány No<sub>x</sub>) na konci testu se provádělo sondou NITRATAX plus a vyhodnocujícím přístrojem DR LANGE-MULTIUNIT PLUS. Jedná se o válcový přístroj s otvorem pro měřený vzorek. Ten bylo potřeba před měřením zfiltrovat přes kvalitativní filtrační papír, který zamezí vniknutí nečistot do sondy. Přístroj umožňuje měření maximálně do koncentrace 20 mg.l<sup>-1</sup> N-NO<sub>x</sub>. Při vyšší koncentraci bylo nutno vzorek naředit destilovanou vodou a provést měření znovu. Připravený vzorek se nalil do cely sondy a po 1 minutě jsme obdrželi na displeji naměřenou hodnotu. Pro každý vzorek jsme provedli minimálně dvě měření pro zvýšení přesnosti. Výsledek se uvedl do tabulky v mg.l<sup>-1</sup> zaokrouhlený na 1 platnou číslici. [1]



Obr. 6) *Měření pomocí sondy DR LANGE-MULTIUNIT PLUS*

#### 4.4.4 Spektrometrické stanovení dusitanů $\alpha$ – naftolem

Pro stanovení dusitanů bylo zapotřebí následujících činidel a pomůcek. Odměrná baňka s obsahem 25 ml, pipeta Labopette s nastavitelným objemem od značky Hirschmann, elektronický pipetovací nástavec pipetus od značky Hirschmann napájený bateriemi pro

veškeré pipetování od 0,1 ml do 200 ml, spektrofotometr HACH, 2 ml kyseliny sulfanilové, 2 ml 1 - naftolu ( $C_{10}H_7OH$ ) a deionizovaná voda. Nejprve se pomocí elektronické pipety Pipetus odebralo 20 ml zfiltrovaného vzorku s obsahem  $N-NO_2$  do 0,015 mg ( $0,75 \text{ mg.l}^{-1}$ ) a umístilo do připravených baněk. Dále se pomocí pipety s nastavitelným objemem přidaly 2 ml kyseliny sulfanilové a počkalo se přibližně 1 minutu. Po uplynutí této doby se do baňky nadávkovaly 2 ml 1-naftolu a proběhlo doplnění destilovanou vodou až po rysku. Baňky se řádně se uzavřely a protřepaly. Intenzita zbarvení se změřila pomocí 1 cm kynety při vlnové délce 515 nm. Výsledek uvádíme v  $\text{mg.l}^{-1}$  zaokrouhleným na 2 platné číslice. [1]



Obr. 7) *Spektrometrické stanovení  $\alpha$  – NAFTOLEM*

#### 4.4.5 Výpočet denitrifikační rychlosti

Denitrifikační rychlost byla vypočtena jako podíl množství odstraněného dusičnanového dusíku a jednotky času. Přesné znění je vyjádřeno níže popsanou rovnicí.

$$\text{Denitrifikační rychlost} = \frac{c((N-NO_3)(z) - (N-NO_3)(k))}{7} [\text{mg.l}^{-1} \cdot \text{den}^{-1}], \text{ kde: } [4]$$

*z...koncentrace  $N-NO_3$  na začátku testu*

*k...koncentrace  $N-NO_3$  na konci testu*

## 5 VÝSLEDKY A DISKUSE

Naměřené hodnoty byly posuzovány na základě předem stanovených kritérií uvedených v kapitole 4.3.

Optimální hodnota pH vzorku se pro denitrifikaci pohybuje v rozmezí 7-8,5. Příliš nízká hodnota výrazně ovlivňuje aktivitu posledního enzymu denitrifikační přeměny, enzymu Nos, a tím i výsledné produkty. Pro udržení pH v optimu bylo do vzorku nadávkováno určité množství  $\text{NaHCO}_3$ . V jednotlivých vzorcích lišící se dávkou hydrogenuhličitanu se provedlo porovnání hodnot pH závisící na jeho dávce a následně vyhodnocení.

Množství rozpuštěného kyslíku má vliv na regulaci syntézy enzymů Nar a Nir v průběhu denitrifikace, a to tak, že se zvyšující koncentrací  $\text{O}_2$  ve vzorku dochází k jejímu potlačení. Při nízké hodnotě pH a vyšší koncentraci rozpuštěného kyslíku ve vzorku se z větší části stává výsledným produktem oxid dusný. Toto upřednostnění  $\text{N}_2\text{O}$  před  $\text{N}_2$  vychází z míry senzitivity enzymů vůči  $\text{O}_2$  obsaženého ve vodě. Enzym reduktáza oxidu dusného (Nos) je známý nejvyšší senzitivitou, a naopak nejmenší senzitivitu má enzym Nar. [30] Množství rozpuštěného kyslíku ve vzorku by nemělo přesáhnout hodnotu  $1 \text{ mg.l}^{-1}$  z důvodu zachování anoxických podmínek pro průběh denitrifikace.

Úbytek dusitanů a dusičnanů v týdenním testu by měl být v souladu s udržením denitrifikačních podmínek. Zároveň je žádoucí mít po týdenním testu co nejvyšší pokles  $\text{N-NO}_x$ .

Hodnota zbytkové  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  po týdenním testu by se v ideálním případě pro průběh denitrifikace měla pohybovat v rozmezí 100 až  $200 \text{ mg.l}^{-1}$ . Množství substrátu při  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  v tomto rozpětí je dostatečné pro organotrofní denitrifikační bakterie a jako donor elektronů pro denitrifikaci.

Dalším kritériem pro hodnocení naměřených hodnot byla absorbance při 254 nm. Vzorek by neměl být příliš kalný, jelikož to může mít výrazný vliv na další analytická stanovení. Absorbanci vzorku požadujeme co nejmenší z důvodu možnosti zaznamenání přítomnosti látek fenolické povahy, z nichž některé působí toxicky na denitrifikační bakterie. Její stanovená hodnota pomocí spektrofotometru by se měla pohybovat v nízkých hodnotách. Důvodem je možnost vyluhování látek s toxickým účinkem.

Stanovení zákalu fotometrickým stanovením je rušeno zabarvením vzorku. To mohou způsobovat nerozpuštěné látky, které jsou ve vzorku obsaženy. V případě, kdy dochází k rychlé sedimentaci nerozpuštěných látek, není možné uskutečnit vyhodnocení zákalu touto metodou.

### 5.1 Optimalizace frakce hoblin

Na základě analýzy výsledků se zjistilo, že u vzorku č. 1 s velikostní frakcí hoblin 1-1,5 cm neprobíhala denitrifikace podobně jak tomu bylo u ostatních vzorků. Výraznější odchylka byla zaznamenána při výpočtu úbytku  $\text{N-NO}_x$  po 7denním testu. U tohoto vzorku byl zaznamenán podstatně menší úbytek, než tomu bylo u ostatních vzorků téže frakce. U vzorku č. 1 byl naměřen úbytek  $\text{N-NO}_x$   $7,66 \text{ mg.l}^{-1}$  a u vzorků 2 a 3 byl  $11,97 \text{ mg.l}^{-1}$  a  $11,83 \text{ mg.l}^{-1}$ . Tato odchylka vzorku č. 1 od ostatních mohla být způsobena jednak laboratorní chybou, jednak tím, že u biologických procesů není průběh vždy přesně predikovatelný. Proto se

biologické testy provádějí vždy ve více opakováních. Odlišný vzorek byl ze stanovení průměrných hodnot vyřazen a pro samotné vyhodnocení frakce 1-1,5 cm bylo uvažováno pouze se vzorky č. 2 a 3. Dále byl z důvodu odlišnosti vyřazen vzorek 3 frakce 0,5-1 cm. Ten se rozcházel koncentrací dusitanů při analýze supernatantu. U vzorku č. 3 s frakcí 0,5-1 cm byla naměřena koncentrace dusitanů  $0,063 \text{ mg.l}^{-1}$ , zatímco u ostatních vzorků těže frakce se koncentrace pohybovala nad hodnotou  $3 \text{ mg.l}^{-1}$ . Pro následné vyhodnocení nebylo tedy ani s tímto vzorkem uvažováno. Kompletní souhrn naměřených hodnot je uveden v příloze 1 tabulkách 13.1.1 a 13.2.1.

### 5.1.1 Analýza surové vody

Při nasazení testu pro optimalizaci hoblin byla stanovena ve všech třech vzorcích koncentrace N-NO<sub>x</sub> a O<sub>2</sub>. Průměrné hodnoty jsou uvedeny v tabulce č. 4. a kompletní výčet naměřených parametrů ve třech opakováních je uveden v příloze 1 tab. 13.1.1.

Tab. 4 Optimalizace frakce hoblin-souhrnná tabulka analýzy surové vody

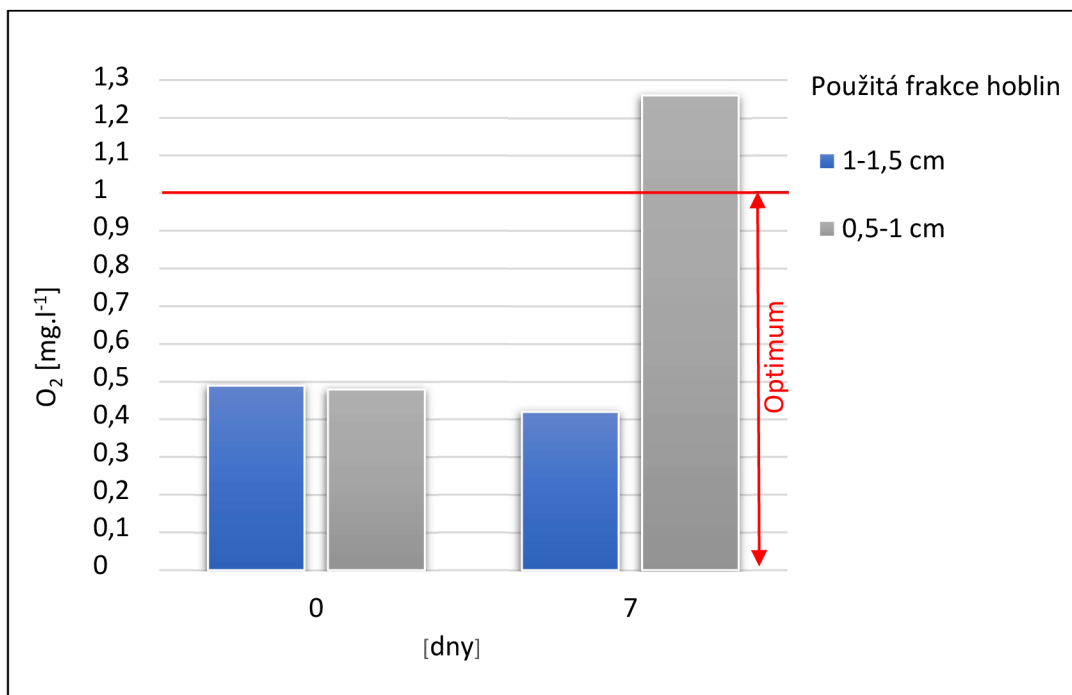
Frakce hoblin	pH	O <sub>2</sub>	N-NO <sub>3</sub> =N-NO <sub>x</sub>
[cm]	[-]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]
1-1,5	7,51	0,49 ± 0,01	15,40
0,5-1	7,66	0,48 ± 0,02	15,30

Frakce hoblin	pH	O <sub>2</sub>	N-NO <sub>3</sub> =N-NO <sub>x</sub>
[cm]	[-]	[mg.l-1]	[mg.l-1]
1-1,5	7,51	0,49 ± 0,01	15,40
0,5-1	7,66	0,48 ± 0,02	15,30

### 5.1.2 Analýza supernatantu

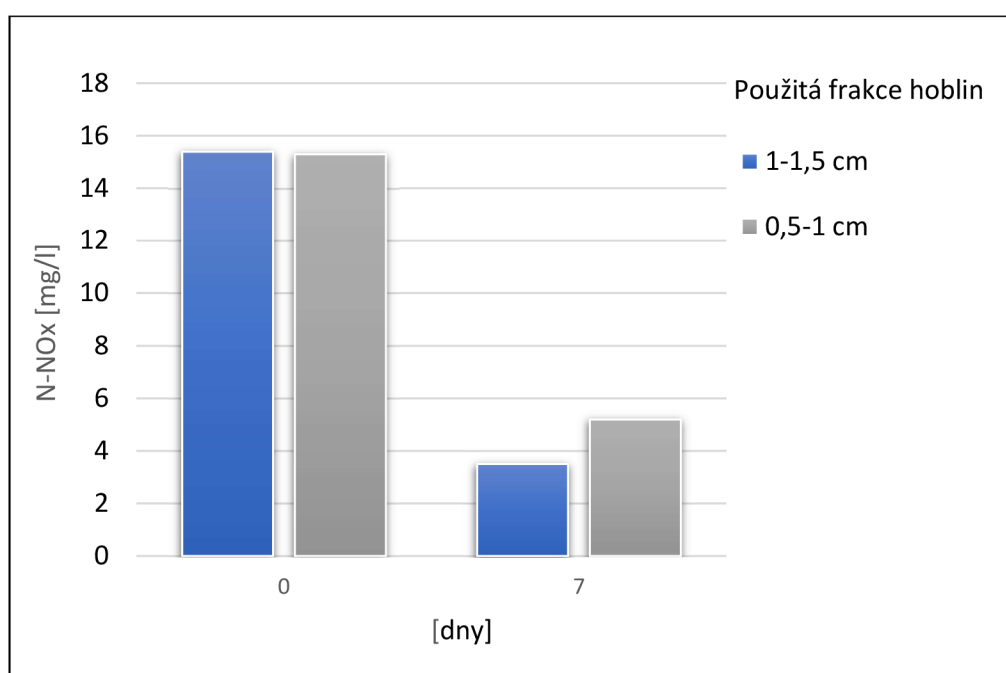
Hodnota pH po týdenním testu zůstala téměř beze změny. U vzorku s frakcí hoblin 1-1,5 cm byla naměřena hodnota  $7,60 \pm 0,04$  a u frakce 0,5-1 cm  $7,54 \pm 0,08$ . Je patrné, že se hodnoty pohybují v optimálním rozmezí umožňující průběh denitrifikace a že v průběhu testu nedošlo k výraznému navýšení ani snížení s maximálním variačním koeficientem 1,6 %.

Koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vzorku se pro vzorky s různou frakcí hoblin liší. U vzorku s vyšší frakcí hoblin byla naměřena průměrná hodnota  $0,42 \pm 0,04$  s variabilitou výsledků 8,43 %, zatímco u vzorku s frakcí 0,5-1 cm jsme se dostali na více než dvojnásobnou hodnotu. Z toho vyplývá, že vzorek s frakcí hoblin 1-1,5 cm překračuje optimální mez stanovenou v kapitole 4.3 a je pro denitrifikaci méně příznivý. Tato situace je znázorněna v následujícím grafu.



*Graf 1 Koncentrace rozpuštěného kyslíku před a po uplynutí inkubační doby v závislosti na frakci hoblin*

Na konci 7denního testu došlo k výraznému snížení koncentrace dusitanů a dusičnanů ve vzorku, a to zejména u vzorku s frakcí hoblin 1-1,5 cm. Zde došlo k úbytku v průběhu testu o  $11,9 \pm 0,07 \text{ mg.l}^{-1}$ , což je o  $2,76 \text{ mg.l}^{-1}$  více, než tomu bylo u vzorku s frakcí hoblin 0,5-1 cm. V obou případech se jedná o průměrné hodnoty. Všechny naměřené hodnoty v rámci analýzy supernatantu jsou přehledně uvedeny v příloze 1 tab. 13.2.1. Závislost úbytku N-NO<sub>x</sub> na zkoumané frakci hoblin je znázorněna na grafu 2.



*Graf 2 Koncentrace N-NO<sub>x</sub> před a po uplynutí 7 dnů v závislosti na frakci hoblin*

Rychlost denitrifikace vycházela u obou zkoušených frakcí podobně, tedy hodnoty  $1,70 \pm 0,01 \text{ mg.l}^{-1}.\text{d}^{-1}$  pro frakci hoblin 1-1,5 cm a  $1,89 \pm 0,08 \text{ mg.l}^{-1}.\text{d}^{-1}$  pro frakci 0,5-1 cm. Lze přesto konstatovat, že vzorek k frakci hoblin 0,5-1 cm nabízí o několik desetín  $\text{mg.l}^{-1}.\text{d}^{-1}$  vyšší hodnotu denitrifikační rychlosti.

Hodnota  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  byla vyšší u vzorku s frakcí hoblin 1-1,5 cm a hodnotou  $123,0 \pm 7,0 \text{ mg.l}^{-1}$ . U vzorku s nižší frakcí hoblin byla vypočtena hodnota  $113,5 \pm 0,11 \text{ mg.l}^{-1}$ . Zbytková  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  se v obou vzorcích nachází v optimálním rozmezí pro průběh denitrifikace.

Spektrometricky stanovený zákal nabýval hodnot  $9,4 \pm 1,6 \text{ ZF}$  u frakce 1-1,5 cm a  $9,20 \pm 0,7 \text{ ZF}$  u frakce 0,5-1 cm.

Tab. 5 Optimalizace frakce hoblin-souhrnná tabulka analýzy supernatantu

Frakce hoblin	Množství hoblin	Přídavek $\text{NaHCO}_3$	pH		$\text{O}_2$		N- $\text{NO}_x$	
			[cm]	[g]	[ $\text{g.l}^{-1}$ ]	[-]	$v_x$ [%]	[ $\text{mg.l}^{-1}$ ]
1-1,5	25	0,5	$7,60 \pm 0,04$	0,53	$0,42 \pm 0,04$	8,43	$3,50 \pm 0,07$	2,00
0,5-1	25	0,5	$7,54 \pm 0,08$	1,06	$1,26 \pm 0,06$	4,38	$5,20 \pm 0,5$	9,62

Frakce hoblin	Množství hoblin	Přídavek $\text{NaHCO}_3$	N- $\text{NO}_2$		N- $\text{NO}_3$		Denitrifikační rychlost	
			[cm]	[g]	[ $\text{g.l}^{-1}$ ]	[ $\text{mg.l}^{-1}$ ]	$v_x$ [%]	[ $\text{mg.l}^{-1}$ ]
1-1,5	25	0,5	$0,04 \pm 0,00$	6,67	$3,46 \pm 0,07$	1,95	$1,70 \pm 0,01$	0,59
0,5-1	25	0,5	$3,17 \pm 0,09$	2,84	$2,06 \pm 0,58$	27,98	$1,89 \pm 0,08$	4,33

Frakce hoblin	Množství hoblin	Přídavek $\text{NaHCO}_3$	Úbytek N- $\text{NO}_x$ v průběhu testu		$\text{CHSK}_{\text{Cr}}$		Zákal	
			[cm]	[g]	[ $\text{g.l}^{-1}$ ]	[ $\text{mg.l}^{-1}$ ]	$v_x$ [%]	[ $\text{mg.l}^{-1}$ ]
1-1,5	25	0,5	$11,90 \pm 0,07$	0,59	$123 \pm 7$	6	$9,4 \pm 1,6$	17,0
0,5-1	25	0,5	$9,14 \pm 1,46$	15,97	$114 \pm 0$	7	$9,2 \pm 0,7$	7,6

### 5.1.3 Zhodnocení testu optimalizace frakce hoblin

Všechny hodnoty vycházely s nízkým variačním koeficientem, a proto je možné brát tyto hodnoty jako spolehlivé.

Na základě všech stanovení se jeví nejvhodnější frakce pro průběh denitrifikace frakce 1-1,5 cm. Důvodem je vyšší účinnost při odstraňování sloučenin N- $\text{NO}_x$  ze vzorku. Úbytek N- $\text{NO}_x$  je po sedmi denním testu u frakce 1-1,5 cm přibližně  $11,9 \text{ mg.l}^{-1}$ , zatímco u frakce hoblin 0,5-1 cm o  $1,8 \text{ mg.l}^{-1}$  méně. Tento poznatek lze vidět na grafu 2, kde jsou znázorněny obě zkoušené frakce se stejnými podmínkami testu. Dále z grafu 1 je patrné, že potřebné oxické podmínky splňuje po 7denním testu pouze vzorek s použitou frakcí hoblin 1-1,5 cm.

## 5.2 Optimalizace dávky hoblin

Po důkladné analýze výsledků byla zjištěna odchylka koncentrace N-NO<sub>3</sub> ve vzorku č. 1 s 25 g hoblin od vzorků 2 a 3 při analýze supernatantu. Tyto odchylky výsledků nebyly příliš výrazné, ale jelikož další dvě stanovení, tedy vzorky 2 a 3 se sobě velmi blížily, rozhodla jsem se vzorek s největší odchylkou ze stanovení vyřadit. Ukazatelé, ve kterých byly patrná odchylka jsou koncentrace N-NO<sub>x</sub>, N-NO<sub>3</sub>, zákal a denitrifikační rychlost. Zákal u vyřazeného vzorku byl 11,9 ZF, zatímco u ostatních dvou se pohyboval kolem 9 ZF. Dále bych zde zmínila denitrifikační rychlost, která u vzorku č. 1 byla při analýze 0,57 u vzorku 2 0,94 a u vzorku 3 0,84. I tady je jasně patrná odlišnost vzorku č.1. Stejná situace nastala i při vyhodnocení množství hoblin 40 g. I zde se vzorek č. 1 od ostatních dvou mírně odlišoval v koncentraci N-NO<sub>3</sub>, která se lišila o 1,4 mg.l<sup>-1</sup> oproti ostatním dvěma, a dále denitrifikační rychlosti a zákalu. Denitrifikační rychlost byla u vzorku č. 1 1,36 mg.l<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>, u vzorku č.2 1,55 mg.l<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> a u vzorku č. 3 1,56 mg.l<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>. Zde je vidět nízká variabilita mezi vzorky 2 a 3 a naopak vzorek 1 je odchýlen. Zákal naměřen u vzorku č. 1 s hodnotou 19,7 ZF byl přibližně dvojnásobný oproti vzorkům 2 a 3. Na základě všech odlišností bylo účelné vzorky ze stanovení vyřadit, a proto nebudou v rámci souhrnné tabulky analýzy supernatantu zahrnuty. Vyřazen byl vzorek č. 1 s 25 g hoblin a vzorek č. 1 s 40 g hoblin. U vzorku s 15 g hoblin bylo uvazováno se všemi naměřenými parametry. Kompletní analýzy surové vody a následně supernatantu jsou uvedeny v příloze 2 tabulkách 13.3.1, 13.3.2, 13.4.1 a 13.4.2.

### 5.2.1 Analýza surové vody

Pro tento test byla použita frakce hoblin 1-1,5 cm a vzorky se lišily v jejich dávce. Byly testovány dávky 15 g, 25 g a 40 g. Před inkubací vzorků se změřily vstupní průměrné hodnoty uvedené v následující tabulce. Naměřené hodnoty před zprůměrováním jsou uvedeny v příloze 2 tabulce 13.3.1.

Tab. 6 Optimalizace dávky hoblin-souhrnná tabulka analýzy surové vody

Množství hoblin	Frakce hoblin	pH	N-NO <sub>3</sub> =N-NO <sub>x</sub>	O <sub>2</sub>
[g]	[cm]	[-]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]
15	1-1,5	8,31	15,30	0,44 ± 0,05
25	1-1,5	8,29	15,30	0,40 ± 0,06
40	1-1,5	8,28	15,30	0,48 ± 0,01

### 5.2.2 Analýza supernatantu

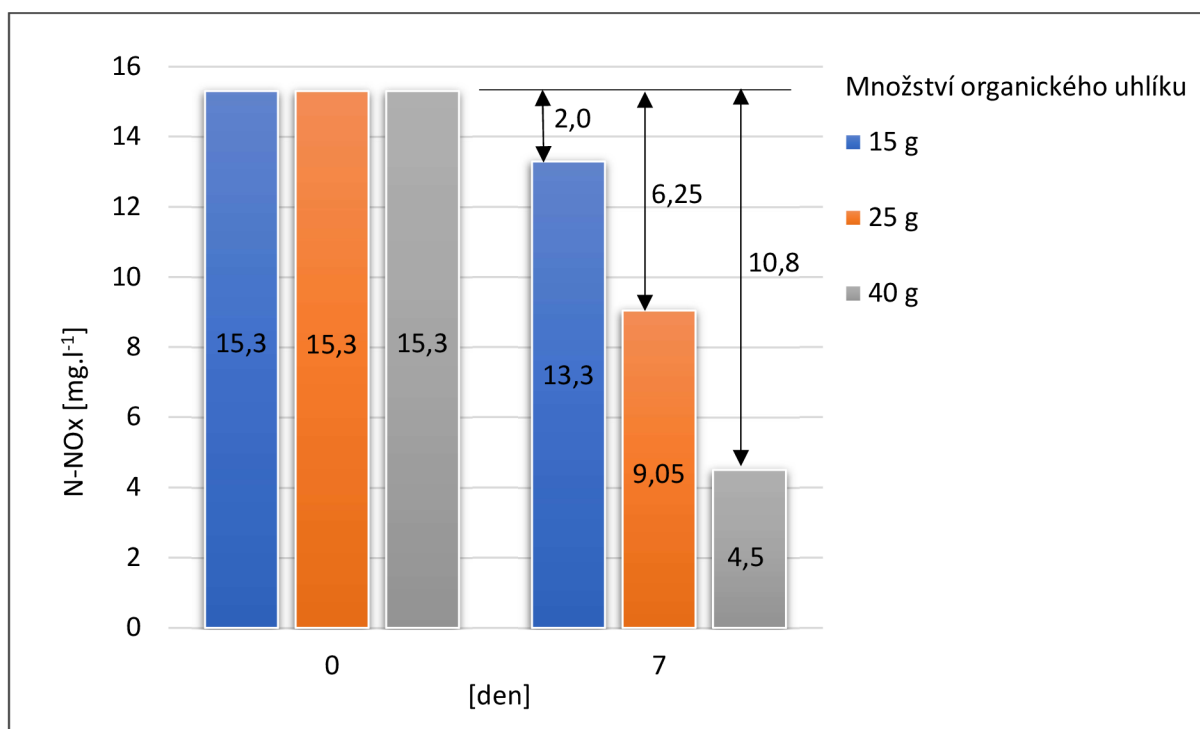
Hodnota pH po týdenním testu ve všech vzorcích mírně klesla ale stále zůstala v požadovaném rozmezí 7-8,5. Ve všech případech byla splněna podmínka optimálního pH.

Koncentrace rozpuštěného kyslíku zůstává u všech vzorků pod 1 mg.l<sup>-1</sup> a je tedy vyhovující pro průběh denitrifikace.

Koncentrace N-NO<sub>x</sub> se u navážených 15 g hoblin pohybovala při nasazení testu 15,30 mg.l<sup>-1</sup> a po ukončení testu 13,30 ± 0,91 mg.l<sup>-1</sup> s variačním koeficientem 6,84 %. Při 25 g hoblin ve vzorku se koncentrace N-NO<sub>x</sub> oproti původní snížila na 9,05 ± 0,35 s v<sub>x</sub> = 3,87 % a při 40 g hoblin na 4,50 ± 0,0 %. Z porovnání těchto hodnot jasně vidíme, že s rostoucím

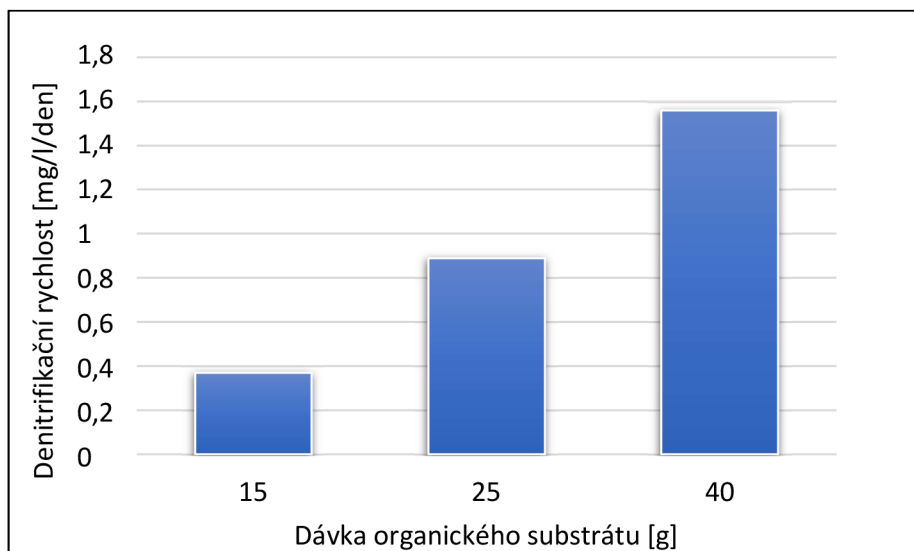


množstvím hoblin dochází k většímu úbytku dusičnanů, což je výsledkem denitrifikace a naším cílem. Porovnání všech tří dávek hoblin je zobrazeno v grafu 3. V tabulce 5 jsou uvedeny hodnoty stejného testu při optimalizaci frakce hoblin pro vzorek s 25 g hoblin frakce 1-1,5. Tam byla naměřena koncentrace N-NO<sub>x</sub> ve vzorku po 7 denním testu  $11,9 \pm 0,07 \text{ mg.l}^{-1}$ , zatímco v testu optimalizace dávky hoblin byla při stejných podmínkách naměřena hodnota  $6,25 \pm 0,35 \text{ mg.l}^{-1}$  a u testu optimalizace přídavku NaHCO<sub>3</sub> byla koncentrace N-NO<sub>x</sub>  $5,86 \text{ mg.l}^{-1}$ . Tento rozdíl koncentrací N-NO<sub>x</sub> při stejných podmínkách může souviset s menší zbytkovou CHSK, která byla zjištěna v rámci analýzy testu optimalizace dávky hoblin. Svědčí to o tom, že biologický systém se chová pokaždé trochu jinak a vzorky by bylo potřeba vždy zpracovávat současně.



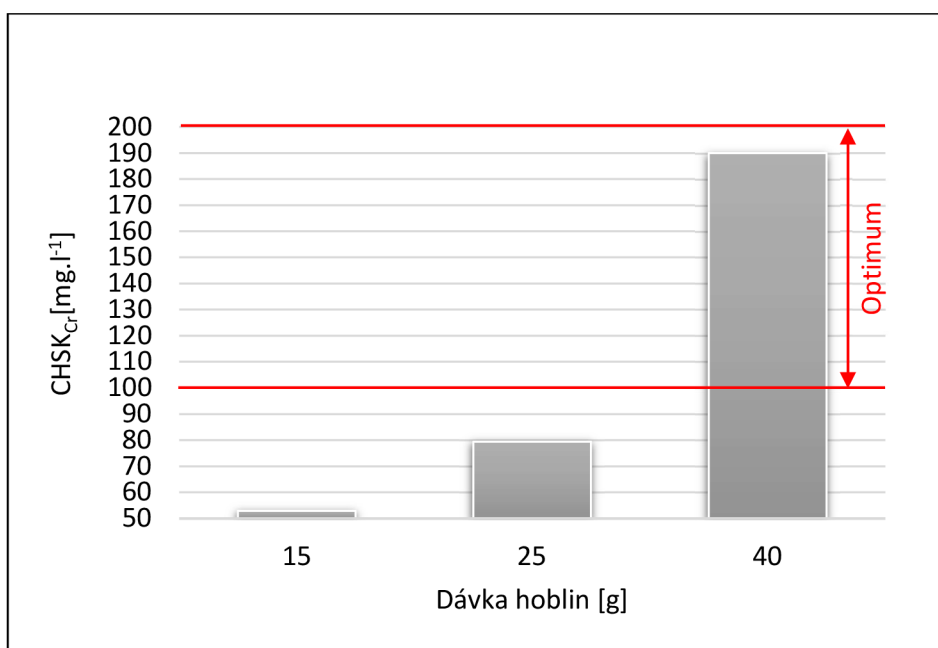
Graf 3 Úbytek N-NO<sub>x</sub> po uplynutí 7 dnů v závislosti na dávce organického uhlíku

Bylo zjištěno že rychlost denitrifikace je rostoucí s rostoucí dávkou hoblin. U vzorku se 40 g hoblin je denitrifikační rychlost nejvyšší s hodnotou  $1,56 \pm 0,00 \text{ mg.l}^{-1}.\text{den}$  a variabilitou výsledků 0,29 %. Tato závislost denitrifikační rychlosti na množství organického substrátu je znázorněna v grafu č. 3. Zde je vidět, že při 25 g hoblin je hodnota denitrifikační rychlosti více než dvojnásobná, než je tomu ve vzorku s 15 g, a dále ve vzorku se 40 g je více než čtyřnásobná oproti vzorku s 15 g.



Graf 4 Závislost denitrifikační rychlosti na dávce organického substrátu

Zbytková  $CHSK_{Cr}$  se u vzorků s obsahem 15 g a 25 g hoblin pohybuje pod optimální hodnotou. Konkrétně se jedná o hodnoty  $53 \pm 2 \text{ mg.l}^{-1}$  u vzorku s 15 g hoblin a  $80 \pm 7 \text{ mg.l}^{-1}$  u vzorku s 25 g hoblin.  $CHSK_{Cr}$  u vzorku se 40 g hoblin je  $190 \pm 2 \text{ mg.l}^{-1}$ ,  $v_x = 1 \%$ . Při porovnání výsledku měření s výsledkem stejného testu při optimalizaci frakce je vidět, že hodnota  $CHSK_{Cr}$  byla při přidavku 25 g hoblin větší, než tomu bylo v tomto testu s určením dávky hoblin. V předchozím testu s 25 g hoblin frakce 1-1,5 vyšla hodnota  $CHSK_{Cr}$   $123 \pm 7 \text{ mg.l}^{-1}$ . Zároveň byla  $CHSK_{Cr}$  porovnána s testem optimalizace přidavku  $\text{NaHCO}_3$ , kde byly nastaveny stejné podmínky, tedy 25 g hoblin frakce 1-1,5 cm. Zde vycházela průměrná  $CHSK_{Cr}$   $116 \pm 2 \text{ mg.l}^{-1}$ . Z tohoto porovnání 3 hodnot je vidět mírná variabilita výsledků měření, avšak všechny hodnoty se pohybují v optimálním rozmezí, což je pro průběh denitrifikace klíčové.



Graf 5 Porovnání hodnot  $CHSK_{Cr}$  u vzorků s dávkami hoblin 15 g, 25 g a 40 g

Absorbance při 254 nm je rostoucí s rostoucím množstvím hoblin. Nejvyšší hodnota byla zaznamenána u vzorku s 40 g hoblin. Tato hodnota byla  $1,00 \pm 0,01$  s variabilitou výsledků 1,05 %. Naopak nejnižší hodnotu absorbance měl vzorek s 15 g hoblin. Jednalo se o hodnotu  $0,39 \pm 0,001$  s variačním koeficientem 0,26 %.

Hodnoty zákalu jsou  $6,65 \pm 0,75$  ZF ve vzorku s přídavkem 15 g hoblin,  $9,65 \pm 0,25$  ZF s přídavkem 25 g hoblin a ve vzorku s přídavkem 40 g hoblin byla naměřena hodnota zákalu  $11,15 \pm 0,45$  ZF.

Tab. 7 Optimalizace dávky hoblin-souhrnná tabulka analýzy supernatantu

Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	pH		O <sub>2</sub>		N-NO <sub>x</sub>	
			[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[-]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]
15	1-1,5	0,5	$7,07 \pm 0,23$	3,28	$0,98 \pm 0,33$	34,02	$13,30 \pm 0,91$	6,84
25	1-1,5	0,5	$7,42 \pm 0,01$	0,07	$0,48 \pm 0,08$	16,67	$9,05 \pm 0,35$	3,87
40	1-1,5	0,5	$7,35 \pm 0,02$	0,20	$0,46 \pm 0,03$	16,67	$4,50 \pm 0,00$	0,00

Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	N-NO <sub>2</sub>		N-NO <sub>3</sub>		Denitrifikační rychlost	
			[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]
15	1-1,5	0,5	$0,06 \pm 0,01$	16,31	$13,24 \pm 0,92$	6,94	$0,29 \pm 0,06$	20,00
25	1-1,5	0,5	$0,07 \pm 0,01$	9,63	$9,00 \pm 0,36$	4,02	$0,89 \pm 0,05$	5,60
40	1-1,5	0,5	$0,07 \pm 0,00$	0,68	$4,41 \pm 0,03$	0,69	$1,56 \pm 0,00$	0,29

Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Úbytek N-NO <sub>x</sub> v průběhu testu		CHSK <sub>Cr</sub>		Absorbance 254 nm	
			[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]
15	1-1,5	0,5	$2,00 \pm 0,91$	45,46	$52 \pm 2$	4	$0,379 \pm 0,013$	3,490
25	1-1,5	0,5	$6,25 \pm 0,35$	5,60	$80 \pm 7$	8	$0,570 \pm 0,020$	4,042
40	1-1,5	0,5	$10,50 \pm 0,00$	0,00	$190 \pm 2$	1	$1,000 \pm 0,010$	1,055

Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Zákal	
			[g]	[cm]
15	1-1,5	0,5	$6,5 \pm 0,2$	3,3
25	1-1,5	0,5	$9,7 \pm 0,3$	2,6
40	1-1,5	0,5	$11,2 \pm 0,5$	4,0

### 5.2.3 Zhodnocení testu optimalizace dávky hoblin

Variační koeficient byl stanoven u všech naměřených hodnot a s ohledem na jeho nízkou hodnotu ve všech případech lze považovat výsledky testu za věrohodné, a lze na jejich základě provést vyhodnocení daných parametrů.

Po sestrojení grafu 3 bylo patrné, že vzorek s přidavkem 40 g organického uhlíku po ukončení 7denního testu zajišťuje nejvyšší úbytek dusičnanů, a to až o 10,8 mg.l<sup>-1</sup>, což je více než 4krát větší hodnota, než je tomu u vzorku s 15 g. V grafu 4 je vidět dosažení nejvyšší hodnoty denitrifikační rychlosti opět u vzorku se 40 g hoblin. Nakonec byl sestrojen graf 5, který utvrzuje naši predikci, že optimální dávkou hoblin pro test inhibice denitrifikace bude právě dávka 40 g. Jediná ze zkoumaných dávek se pohybuje hodnotou CHSK<sub>Cr</sub> v optimálním rozmezí vhodným pro průběh denitrifikace. Dále bylo zjištěno z analýzy supernatantu, že zákal a absorbance u tohoto vzorku vychází méně příznivě, než je tomu u 15 g a 25 g, ale i tak je považován přidavek 40 g hoblin do 2 l média za nejlepší variantu.

## 5.3 Optimalizace dávky NaHCO<sub>3</sub>

Prostřednictvím tohoto testu byl zkoumán vliv přidavku NaHCO<sub>3</sub> na hodnotu pH, která ovlivňuje rychlost denitrifikace. Žádná hodnota nebyla z posouzení vyřazena.

### 5.3.1 Analýza surové vody

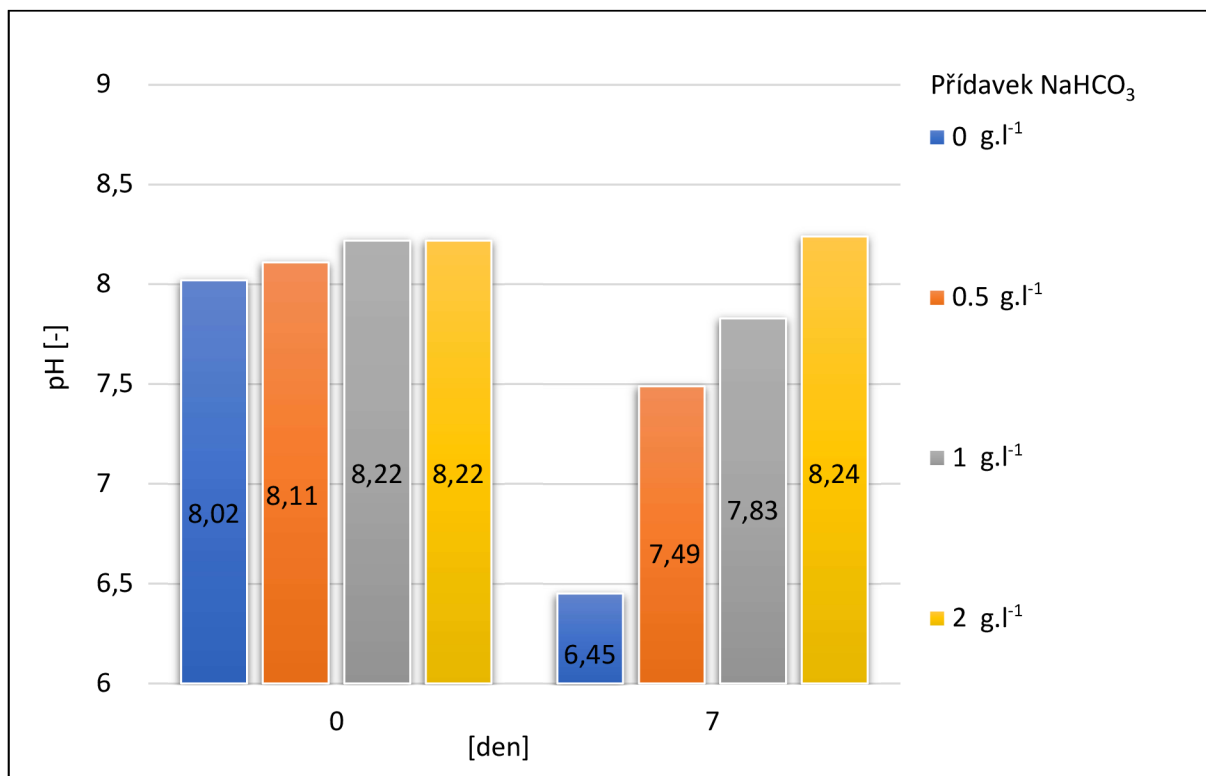
V tomto testu se jednalo o odzkoušení dávek hydrogenuhličitanu 0 g.l<sup>-1</sup>, 0,5 g.l<sup>-1</sup>, 1 g.l<sup>-1</sup> a 2 g.l<sup>-1</sup>. Vstupní průměrné ukazatele se zaznamenaly do tabulky č. 8. Kompletní tabulka analýzy surové vody je v příloze 3 tabulkách 13.5.1 a 13.5.2.

Tab. 8 Optimalizace dávky NaHCO<sub>3</sub>-souhrnná tabulka analýzy surové vody

Přídavek NaHCO <sub>3</sub> [g.l <sup>-1</sup> ]	Množství hoblin [g]	Frakce hoblin [cm]	pH [-]	N-NO <sub>3</sub> =N-NO <sub>x</sub> [mg.l <sup>-1</sup> ]	O <sub>2</sub> [mg.l <sup>-1</sup> ]
0	15	1-1,5	8,02	15,60	0,40 ± 0,06
0,5	15	1-1,5	8,11	15,50	0,42 ± 0,03
1	15	1-1,5	8,22	15,50	0,39 ± 0,09
2	15	1-1,5	8,22	15,70	0,47 ± 0,02

### 5.3.2 Analýza supernatantu

Hodnota pH ve vzorku s nulovým přidavkem NaHCO<sub>3</sub> byla 6,45 ± 0,16 s variačním koeficientem 2,44 %. Tato hodnota je mimo optimální mez, a proto není vhodná pro průběh denitrifikace. Ostatní vzorky s přidavkem 0,5 g.l<sup>-1</sup>, 1 g.l<sup>-1</sup> a 2 g.l<sup>-1</sup> mají pH v optimálním rozmezí 7-8,5. Vliv přidavku hydrogenuhličitanu je znázorněn na následujícím grafu.

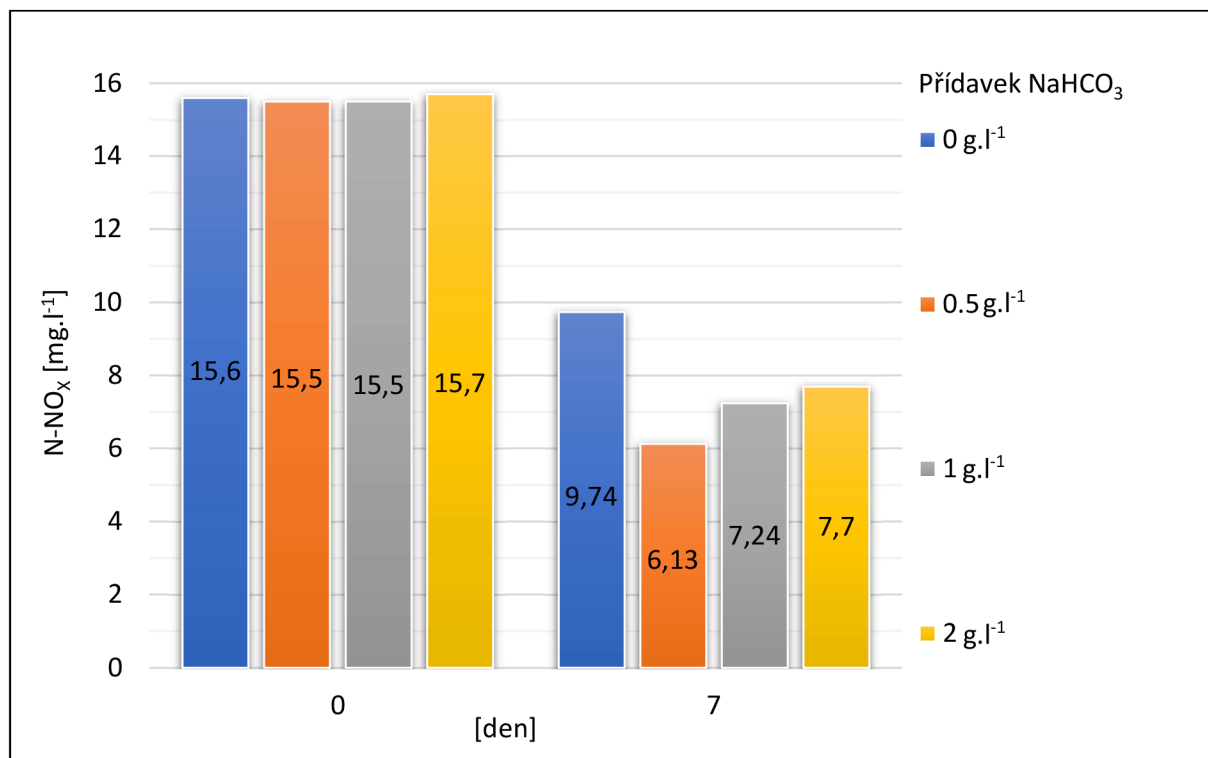


*Graf 6 Vliv přidavku hydrogenuhličitanu sodného na pH*

Koncentrace O<sub>2</sub> v rámci testu byla ve všech vzorcích pod 1 mg.l<sup>-1</sup> a jedná se tedy o příznivé hodnoty pro denitrifikaci.

Při porovnání naměřených hodnot byla objevena relativně vysoká variabilita výsledků měření při stanovení N-NO<sub>2</sub>, což je vidět v příloze 3 tab. 13.6.1. Bylo zajímavé, že u vzorku bez přidavku hydrogenuhličitanu dusitany ve vzorku nezůstávaly ale byly dál přeměňovány dle vztahu 3.17. U tohoto vzorku byla stanovena průměrná hodnota dusitanů 0,04 ± 0,01 mg.l<sup>-1</sup>. U vzorků s přidavky 0,5 mg.l<sup>-1</sup>, 1 mg.l<sup>-1</sup> a 0,5 mg.l<sup>-1</sup> se dusitany ve vzorku hromadily a po 7denním testu jich ve vzorku zůstalo v rozmezí od 0,59 mg.l<sup>-1</sup> do 3,90 mg.l<sup>-1</sup>. Tato skutečnost testu nevádí, jelikož nedošlo ke změně podmínek, které vy měly za následek zamezení procesu denitrifikace. Ovšem je možné se do budoucna dané problematice více věnovat, ověřit následně přesněji zdůvodnit toto chování.

Koncentrace N-NO<sub>x</sub> se oproti původní hodnotě nejvíce snížila ve vzorku s přidavkem 2 mg.l<sup>-1</sup> NaHCO<sub>3</sub>. Koncová koncentrace tohoto vzorku po 7denním testu byla 7,70 ± 0,71 mg.l<sup>-1</sup>, v<sub>x</sub> = 9,20 %. Rozdíly úbytku pro všechny dávky hydrogenuhličitanu jsou přehledně znázorněny v grafu 7.



Graf 7 Poměrové vyjádření úbytku N-NO<sub>x</sub> ve vzorku po 7 dnech v závislosti na přidavku NaHCO<sub>3</sub>

Nejvyšší denitrifikační rychlosti bylo dosaženo u vzorku s 1 g.l<sup>-1</sup> NaHCO<sub>3</sub> a to rychlosti  $1,74 \pm 0,38$  mg.l<sup>-1</sup>.d a variací výsledků 22,12 %.

Zbytková CHSK<sub>Cr</sub> se v rámci tohoto testu pohybovala v rozmezí 108,33 až 116,00 mg.l<sup>-1</sup>. Dále bylo provedeno porovnání zbytkové CHSK<sub>Cr</sub> při testu na optimalizaci dávky hydrogenuhličitanu s testem optimalizace frakce hoblin, kde byl analyzován tentýž vzorek s 25 g hoblin frakce 1-1,5 cm a přidavkem NaHCO<sub>3</sub> 0,5 g.l<sup>-1</sup>. Za těchto specifických podmínek bylo CHSK<sub>Cr</sub> v prvním testu  $123 \pm 7$  a ve třetím testu  $116 \pm 2$  mg.l<sup>-1</sup>. Variabilita výsledků měření je nízká. Zároveň se všechny vzorky pohybovaly v optimálním rozmezí.

Bylo zjištěno, že absorpance při 254 nm mírně roste s přidavným množstvím hydrogenuhličitanu. Maximální hodnota nastala při dávce 2 g.l<sup>-1</sup> NaHCO<sub>3</sub> a byla  $0,72 \pm 0,04$  mg.l<sup>-1</sup>,  $v_x = 6,17$  %. Naopak nejnižší hodnota byla  $0,55 \pm 0,02$ ,  $v_x = 3,68$  % při absenci hydrogenuhličitanu.

Tab. 9 Optimalizace dávky NaHCO<sub>3</sub>-souhrnná tabulka analýzy supernatantu

Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	pH		O <sub>2</sub>		N-NO <sub>x</sub>	
			[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[-]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]
0	25	1-1,5	6,45 ± 0,16	2,44	0,90 ± 0,34	38,11	9,74 ± 1,00	10,29
0,5	25	1-1,5	7,49 ± 0,05	0,61	0,71 ± 0,16	22,71	6,13 ± 0,65	10,56
1	25	1-1,5	7,83 ± 0,08	1,00	0,92 ± 0,55	60,01	7,24 ± 1,08	14,97
2	25	1-1,5	8,24 ± 0,02	0,21	0,68 ± 0,30	43,74	7,70 ± 0,71	9,20

Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	N-NO <sub>2</sub>		N-NO <sub>3</sub>		Denitrifikační rychlost	
			[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]
0	25	1-1,5	0,04 ± 0,01	20,18	9,70 ± 1,01	10,38	1,49 ± 0,09	6,28
0,5	25	1-1,5	0,62 ± 0,52	84,16	5,51 ± 1,06	19,17	1,43 ± 0,15	10,57
1	25	1-1,5	3,90 ± 1,77	45,19	3,33 ± 2,69	80,72	1,74 ± 0,38	22,12
2	25	1-1,5	0,59 ± 0,61	103,16	7,11 ± 0,41	5,76	1,23 ± 0,06	4,76

Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	Úbytek N-NO <sub>x</sub> v průběhu testu		CHSK <sub>Cr</sub>		Absorbance 254 nm	
			[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]
0	25	1-1,5	5,86 ± 1,00	17,11	113 ± 9	8	0,552 ± 0,020	3,682
0,5	25	1-1,5	9,37 ± 0,65	6,91	116 ± 2	2	0,626 ± 0,017	2,757
1	25	1-1,5	8,26 ± 1,60	17,36	113 ± 3	3	0,664 ± 0,034	5,162
2	25	1-1,5	8,00 ± 2,81	27,18	108 ± 5	5	0,720 ± 0,044	6,174

Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	Zákal	
			[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]
0	25	1-1,5	7,23 ± 0,59	8,17
0,5	25	1-1,5	9,20 ± 1,02	11,08
1	25	1-1,5	8,20 ± 1,13	13,83
2	25	1-1,5	8,60 ± 1,56	18,11

### 5.3.3 Zhodnocení testu optimalizace dávky NaHCO<sub>3</sub>

Variační koeficient je u všech analyzovaných parametrů kromě dusitanů nízký, a tudíž jsou výsledky měření spolehlivé.

Klíčovým ukazatelem pro určení optimálního přídavku hydrogenuhličitanu je pH, které se pohybovalo ve všech případech v optimálním rozmezí. Jedinou výjimkou byl vzorek s absencí hydrogenuhličitanu, a tudíž zdroje tlumivé kapacity. V tomto případě klesla hodnota pH po týdenním testu pod 7 a vzorek byl vyhodnocen jako neoptimální.

Na základě grafu 5 vidíme, že nejvyšší úbytek N-NO<sub>x</sub> je u vzorku s přidavkem 0,5 g.l<sup>-1</sup>. Zde došlo k úbytku po 7denním testu o  $9,37 \pm 0,65$  mg.l<sup>-1</sup> s variabilitou výsledků 6,91 %. Hodnoty absorbance i zákalu jsou u tohoto vzorku poměrně nízké. Na základě všech naměřených a vypočtených hodnot uvedených v tabulce 9 byl určen optimální přídavek hydrogenuhličitanu, kterým je koncentrace 0,5 g.l<sup>-1</sup>.



## 6 ZÁVĚR, NÁVRH OPTIMÁLNÍCH PARAMETRŮ TESTU

Průběh denitrifikace je ovlivňován množstvím faktorů jako jsou teplota, pH, koncentrace lehce rozložitelných organických látek a koncentrace rozpuštěného kyslíku. Z důvodu absence informací, které by pomohly přiblížit chování polutantů v denitrifikačních podmínkách bylo potřeba standardizovat test inhibice denitrifikace, který byl vyvinut na ústavu chemie VUT v Brně. Mým přínosem bylo odzkoušení různých parametrů s cílem optimalizace vstupních parametrů testu.

Na základě naměřených hodnot v tabelární a grafické podobě proběhlo vyhodnocení. V prvního testu, kde bylo cílem zjistit optimální frakci topolových hoblin jakožto zdroje organického uhlíku, byl sestrojen graf závislosti úbytku N-NO<sub>x</sub> na naváženém množství hoblin. Byly zkoušené frakce hoblin 0,5-1 cm a 1-1,5 cm. Na grafu byl vidět větší úbytek N-NO<sub>x</sub> způsoben biochemickými procesy v průběhu testu u vzorku s frakcí 1-1,5 cm, a proto byla tato frakce vyhodnocena jako optimální. V druhém testu, kde bylo potřeba určit optimální dávku hoblin byla již použita optimalizovaná frakce hoblin z předešlého měření. Při analýze supernatantu byla zpracována závislost chemické spotřeby kyslíku na použité dávce hoblin do grafické podoby. Na grafu bylo vidět, že ze zkoušených dávek 15 g, 25 g, a 40 g hoblin pouze jedna vychází v optimálním rozmezí pro průběh denitrifikace. V rozmezí 100 až 200 mg.l<sup>-1</sup>, které bylo vyhodnoceno jako dostačující se pohyboval pouze vzorek se 40 g hoblin. V těchto predikcích optimálního množství nás utvrdila i závislost úbytku N-NO<sub>x</sub> po 7denním testu na množství hoblin. Zde nejvyšší úbytek nastal opět u vzorku se 40 g hoblin, a proto bylo toto množství vyhodnoceno za optimální. V posledním testu bylo cílem optimalizovat přídavek NaHCO<sub>3</sub>, který byl do vzorků nadávkován pro udržení pH v rozmezí 7-8. Koncentrace hydrogenuhličitanu ve vzorku přímo ovlivňuje pH, a proto se naše pozornost zaměřila zejména na tuto závislost. Z grafu bylo vidět, že ani vzorek bez přídavku hydrogenuhličitanu ani vzorek s maximální zkoušenou koncentrací 2 mg.l<sup>-1</sup> toto rozmezí nesplňují. Optimální přídavek byl jednoznačněji určen až po sestrojení dalšího grafu, kterým je graf ukazující úbytek N-NO<sub>x</sub> po ukončení testu. Nejvyšší úbytek byl zaznamenán u vzorku s koncentrací 0,5 mg.l<sup>-1</sup>, a proto je tato hodnota považována za optimální.

Výstupem je metodika testu inhibice denitrifikace s optimalizovanými parametry. Optimální podmínky pro denitrifikaci nastaly v případě použití:

- Frakce topolových hoblin: 1-1,5 cm
- Množství organického substrátu: 40 g
- Přídavek NaHCO<sub>3</sub>: 0,5 mg.l<sup>-1</sup>

Tento test s jasně stanovenými parametry bude dále sloužit k testování vlivů pesticidů na průběh denitrifikace a zároveň umožní sledování osudu těchto látek během denitrifikačního procesu, tedy biotransformace a adsorpce na dřevní štěpku.

## 7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] HORÁKOVÁ, Marta. *Analytika vody*. 2. vydání. Praha: VŠCHT, 2003. ISBN 978-80-7080-520-6.
- [2] BERTILSSON, Göte O.B. a Holger KIRCHMANN. Sustainable N fertilizer production based on a loop: Straw - biogas – ‘Haber-Bosch’ process. *Science Direct: Agricultural Systems* [online]. 18 February 2021, 190 [cit. 2021-5-12]. ISSN 0308-512X. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.agsy.2021.103100>
- [3] ČSN ISO 6107-6 (75 0175), 2010. *Jakost vod*. ČR: ÚNMZ.
- [4] KUENEN, J. Gijis, 2008. Anammox bacteria: from discovery to application. *Nature reviews microbiology* [online]. 326 [cit. 2021-5-12]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1038/nrmicro1857>
- [5] KRATZER, Karel, František KOŽÍŠEK a Vladimíra PUKLOVÁ, 2009. *Jakost pitné vody z veřejných vodovodů* [online]. [cit. 2010-11-04].
- [6] PITTER, Pavel, 2009. *Hydrochemie*. 4. vydání. Praha: VŠCHT Praha. ISBN 978-80-7080-701-9.
- [7] Nejdůležitější anionty ve vodách: Sloučeniny dusíku, 2020. *Hydrochemie: Stanovení a význam sloučenin dusíku, fosforu, chloridů a síranů* [online]. Brno: Fčela [cit. 2021-5-16]. Dostupné z: <http://www.rybarstvi.eu/dok%20rybari/anionty.pdf>
- [8] SCHIPPER, Louis A., Will D. ROBERTSON, Arthur J. GOLD, Dan B. JAYNES a Stewart C. CAMERON. Denitrifying bioreactors—An approach for reducing nitrate loads to receiving waters. *Ecological Engineering* [online]. 2010, 36(11), 1532-1543 [cit. 2020-11-12]. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2010.04.008. ISSN 09258574. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925857410000807> Dostupné z: doi:10.1016/j.ecoleng.2010.04.008
- [9] Vyhláška č. 70/2018 Sb., kterou se mění vyhláška č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody, ve znění pozdějších předpisů.
- [10] BERNHARD, Anne, 2014. *The Nitrogen Cycle: Processes, Players, and Human Impact. Scitable: The nature education*. Cambridge: Nature education, 2020, s. 478. ISBN 1-5275-5513-5, 978-1-5275-5513-6. Dostupné také z: <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/the-nitrogen-cycle-processes-players-and-human-15644632/>
- [11] KOZELSKÝ, Jiří. *Minimalizace množství nutrientů a odpadních vod vypouštěných do vod povrchových*. In: JUNIORSTAV 2008, Brno: odborná konference doktorského studia s mezinárodní účastí, ECON publishing, 2008, s 8-13.
- [12] Water Environment Federation, 2011. *Nutrient Removal: WEF MoP No. 34*. New York, United States: McGraw-Hill Education - Europe, 668 s. ISBN 978-0-07-173710-4.

- [13] MALÁ, Jitka, BÍLKOVÁ, Zuzana, HRICH, Karel, SCHRIMPELOVÁ, Kateřina, KRIŠKA, Michal. *Sustainability of denitrifying bioreactors with various fill media. Plant, Soil and Environment* [online]. 2017, 63(No. 10), 442-448 [cit. 2019-11-10]. DOI: 10.17221/372/2017-PSE. ISSN 12141178. Dostupné z: <http://www.agriculturejournals.cz/web/pse.htm?volume=63&firstPage=442&type=publishedArticle>
- [14] VENSKÁ, Petra, 2015. Dusík a jeho sloučeniny v odpadních vodách. Brno. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí. Vedoucí práce Ing. Veronika Řezáčová, Ph.D.
- [15] NÖMMIK H., 1956. *Investigations on denitrification in soils. Acta Agriculturae Scandinavica* 6, p 195- 228.
- [16] Nařízení vlády č. 401/2015 Sb., *o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech*. In: Sbirka zákonů České republiky, ročník 2015, částka 166, ze dne 14. prosince 2015.
- [17] BRADE W., & LEBZIEN P. (2008). *Reduzierungspotentiale für treibhausgase in der tierernährung und tierhaltung*. In BMELV Moderne Tiernahrung – sicher, effizient und klimaschonend. Tagungsband. Braunschweig, 13/14, November 2008 (pp. 45–46). Bonn: BMELV.
- [18] ERBANOVÁ, Evelína, 2018. *Denitrifikace průmyslových odpadních vod*. Pardubice. Disertace. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, ústav environmentálního a chemického hospodářství. Vedoucí práce Prof. Ing. Petr Mikulášek, CSc.
- [19] European Commission. *Ochrana podzemních vod v Evropě: Nová směrnice o ochraně podzemních vod - sjednocení evropského regulačního rámce* [online]. In: . Lucembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2008, s. 35 [cit. 2021-5-16]. ISBN 978-92-79-09813-0. Dostupné z: doi:10.2779/12178
- [20] Směrnice Rady 91/676/EHS ze dne 12. prosince 1991 *o ochraně vod před znečištěním dusičnany ze zemědělských zdrojů*. Úřední věstník Evropské unie.
- [21] Plán dílčího povodí Horní Odry: Užívání vod a dopady lidské činnosti na stav vod, 2016. *Povodí Odry, státní podnik* [online]. Ostrava, 2016 Dostupné z: [https://www.pod.cz/plan-Horni-Odry/kapitola-ii/kapitola-ii.html#a\\_ii\\_2](https://www.pod.cz/plan-Horni-Odry/kapitola-ii/kapitola-ii.html#a_ii_2)
- [22] ZHAO, Jiamin, Qiaochong HE, Nan CHEN, Tong PENG a Chuanping FENG *Denitrification behavior in a woodchip-packed bioreactor with gradient filling for nitrate-contaminated water treatment. Biochemical Engineering Journal* [online]. 2020, 154. ISSN 1369703X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bej.2019.107454

- [23] LU, Huijie, Kartik CHANDRAN a David STENSEL, 2014. Microbial ecology of denitrification in biological wastewater treatment. *Water Research* [online]. 2014, 237-254 [cit. 2021-5-16]. ISSN 0043-1354. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135414004886?via%3Dihub>
- [24] *Hnojení dusíkem: specifika a aplikace* [online], 2011. Česká zemědělská univerzita v Praze Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin: Profi Press. Dostupné z: <https://www.zemedelec.cz/hnojeni-dusikem-specifika-a-aplikace/>
- [25] ERBANOVÁ, Evelína, 2018. *Denitrifikace průmyslových odpadních vod*. Pardubice. Disertace. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, ústav environmentálního a chemického hospodářství. Vedoucí práce Prof. Ing. Petr Mikulášek, CSc.
- [26] GERARDI H., Michael, 2006. *Wastewater bacteria*. Canada: John Wiley. ISBN 978-0-471-20691-0.
- [27] ŠEREŠ, Michal, Klára Anna MOCOVÁ, Jabbar MORADI, Michal KRIŠKA, Vladimír KOČÍ a Tereza HNÁTKOVÁ. *The impact of woodchip-gravel mixture on the efficiency and toxicity of denitrification bioreactors. Science of The Total Environment*. 2019, 647, 888-894. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2018.08.042
- [28] PÁNIKOVÁ, Kristýna. *Vývoj testu inhibice denitrifikace*. In: JUNIORSTAV 2020. Brno: odborná konference doktorského studia s mezinárodní účastí, ECON publishing, 2020, s 515-521. ISBN 978-80-86433-73-8.
- [29] SEITZINGER, S., HARRISON, J A., BÖHLKE, J K., BOUWMAN, A F., LOWRANCE, R., PETERSON, B., TOBIAS, C., Van DRECHT, G. *Denitrification across landscapes and waterscapes: A synthesis. Ecological Applications* 16(6) (2006) 2064–2090. Dostupné z: [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2006\)016\[2064:DALAWA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2006)016[2064:DALAWA]2.0.CO;2)
- [30] MALÁ, J (2007): *Odstranění dusíku z vod s vysokou koncentrací amonných solí a nízkou koncentrací biologicky rozložitelné organické hmoty v SB-reaktoru*. Habilitační práce, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta stavební, Brno. ISBN 978-80-214-3639-8.
- [31] MARGNI, M., D. ROSSIER, P. CRETТАZ a O. JOLLIET, 2002. *Life cycle impact assessment of pesticides on human health and ecosystems. Agriculture, Ecosystems & Environment* [online]. s. 379-392 [cit. 2021-5-16]. ISSN 01678809. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(01\)00336-X](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(01)00336-X)
- [32] RICE, Pamela J., Patricia J. RICE, Ellen L. ARTHUR a Aldos C. BAREFOOT. *Advances in Pesticide Environmental Fate and Exposure Assessments. Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2007, 55(14), 5367-5376 [cit. 2020-08-26]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf063764s

- [33] MZe (2019): *Rozloha zranitelných oblastí v ČR*. [online] Portál eAGRI, Ministerstvo zemědělství [cit. 17. 7. 2019]. Dostupné z: [http://eagri.cz/public/web/file/595765/Rozloha\\_zranitelných\\_oblastí\\_v\\_CR.xlsx](http://eagri.cz/public/web/file/595765/Rozloha_zranitelných_oblastí_v_CR.xlsx)

## 8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

CHSK <sub>Cr</sub>	... chemická spotřeba kyslíku (oxidace dichromanem draselným)
N <sub>org</sub>	... organicky vázaný dusík
N <sub>anorg</sub>	... anorganicky vázaný dusík
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	... celkový amoniakální dusík
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	... dusitanový dusík
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	... dusičnanový dusík
N-NO <sub>x</sub>	... oxidované formy dusíku (N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	... dusičnanový dusík
T	... teplota
N <sub>ox</sub>	... celkový oxidovaný dusík
N <sub>ar</sub>	... disimilační nitrátová reductáza
N <sub>ir</sub>	... nitrit reductáza
N <sub>or</sub>	... reductáza oxidu dusnatého
N <sub>os</sub>	... reductáza oxidu dusného
z	... koncentrace N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> na začátku testu
k	... koncentrace N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> na konci testu
TN <sub>b</sub>	... celkový vázaný dusík

## 9 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1)	Koloběh dusíku ve vodách .....	15
Obr. 2)	Syntéza denitrifikačních enzymů [30].....	21
Obr. 3)	Optimalizace množství hoblin.....	23
Obr. 4)	Nasazení testu.....	23
Obr. 5)	Spektrometrické stanovení dusitanů.....	25
Obr. 6)	Měření pomocí sondy DR LANGE-MULTIUNIT PLUS.....	26
Obr. 7)	Spektrometrické stanovení $\alpha$ – NAFTOLEM.....	27

## 10 SEZNAM TABULEK

Tab. 1 Oxidační stupně dusíku ve vodách [14] .....	13
Tab. 2 Faktory ovlivňující průběh denitrifikace .....	20
Tab. 4 Optimalizace frakce hoblin-souhrnná tabulka analýzy surové vody.....	29
Tab. 5 Optimalizace frakce hoblin-souhrnná tabulka analýzy supernatantu .....	31
Tab. 6 Optimalizace dávky hoblin-souhrnná tabulka analýzy surové vody .....	32
Tab. 7 Optimalizace dávky hoblin-souhrnná tabulka analýzy supernatantu .....	35
Tab. 8 Optimalizace dávky NaHCO <sub>3</sub> -souhrnná tabulka analýzy surové vody.....	36
Tab. 9 Optimalizace dávky NaHCO <sub>3</sub> -souhrnná tabulka analýzy supernatantu .....	39



## 11 SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 Koncentrace rozpuštěného kyslíku před a po uplynutí inkubační doby v závislosti na frakci hoblin.....	30
Graf 2 Koncentrace N-NO <sub>x</sub> před a po uplynutí 7 dnů v závislosti na frakci hoblin .....	30
Graf 3 Úbytek N-NO <sub>x</sub> po uplynutí 7 dnů v závislosti na dávce organického uhlíku.....	33
Graf 4 Závislost denitrifikační rychlosti na dávce organického substrátu .....	34
Graf 5 Porovnání hodnot CHSK <sub>Cr</sub> u vzorků s dávkami hoblin 15 g, 25 g a 40 g.....	34
Graf 6 Vliv přídavku hydrogenuhličitanu sodného na pH .....	37
Graf 7 Poměrové vyjádření úbytku N-NO <sub>x</sub> ve vzorku po 7 dnech v závislosti na přídavku NaHCO <sub>3</sub>	38

## 12 SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha 1      Analýza výsledků měření – Optimalizace frakce hoblin
- Příloha 2      Analýza výsledků měření – Optimalizace množství organického uhlíku
- Příloha 3      Analýza výsledků měření – Optimalizace dávky  $\text{NaHCO}_3$

## 13 PŘÍLOHY

### Příloha 1 analýza výsledků měření – optimalizace frakce hoblin

#### 13.1 Analýza surové vody (2.12.2020)

##### 13.1.1 Výčet všech naměřených hodnot

	Frakce hoblin	pH	N-NO <sub>3</sub> =N-NO <sub>x</sub>	O <sub>2</sub>	
	[cm]	[-]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	
Vzorek 1	1-1,5	7,51	15,4	0,50	0,49 ± 0,01
Vzorek 2				0,49	
Vzorek 3				0,49	

	Frakce hoblin	pH	N-NO <sub>3</sub> =N-NO <sub>x</sub>	O <sub>2</sub>	
	[cm]	[-]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	
Vzorek 1	0,5-1	7,66	15,3	0,49	0,48 ± 0,02
Vzorek 2				0,46	
Vzorek 3				0,50	

##### 13.1.2 Souhrnná tabulka průměrných hodnot

Frakce hoblin	pH	O <sub>2</sub>	N-NO <sub>3</sub> =N-NO <sub>x</sub>
[cm]	[-]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]
1-1,5	7,51	0,49 ± 0,01	15,40
0,5-1	7,66	0,48 ± 0,02	15,30

#### 13.2 Analýza supernatantu (9.12.2020)

##### 13.2.1 Výčet všech naměřených hodnot

	Frakce hoblin	Množství hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	pH			O <sub>2</sub>		
	[cm]	[g]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[-]		v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]		v <sub>x</sub> [%]
Vzorek 1	1-1,5	25	0,5	7,45	7,60 ± 0,04	0,53	0,47	0,42 ± 0,04	8,43
Vzorek 2				7,64			0,45		
Vzorek 3				7,56			0,38		

	Frakce hoblin	Množství hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	N-NO <sub>x</sub>			N-NO <sub>2</sub>		
	[cm]	[g]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]		v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]		v <sub>x</sub> [%]
Vzorek 1	1-1,5	25	3,5	7,74	3,50 ± 0,07	2,00	0,06	0,04 ± 0,00	6,67
Vzorek 2				3,43			0,04		
Vzorek 3				3,57			0,04		

	Frakce hoblin	Množství hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	N-NO <sub>3</sub>		Denitrifikační rychlost			
	[cm]	[g]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	1-1,5	25	0,5	7,68	3,46 ± 0,07	1,95	1,09	1,70 ± 0,01	0,59
Vzorek 2				3,40			1,71		
Vzorek 3				3,53			1,69		

	Frakce hoblin	Množství hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Úbytek N-NO <sub>x</sub> v průběhu testu		CHSK <sub>Cr</sub>			
	[cm]	[g]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	1-1,5	25	0,5	7,66	11,90 ± 0,07	0,59	183	123 ± 7	6
Vzorek 2				11,97			116		
Vzorek 3				11,83			130		

	Frakce hoblin	Množství hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Zákal		
	[cm]	[g]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[ZF]	v <sub>x</sub> [%]	
Vzorek 1	1-1,5	25	0,5	12,2	9,4 ± 1,6	17,0
Vzorek 2				7,8		
Vzorek 3				11,0		

	Frakce hoblin	Množství hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	pH		O <sub>2</sub>			
	[cm]	[g]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[-]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	1-1,5	25	0,5	7,46	7,54 ± 0,08	1,06	1,20	1,26 ± 0,06	4,38
Vzorek 2				7,62			1,31		
Vzorek 3				7,77			0,60		

	Frakce hoblin	Množství hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	N-NO <sub>x</sub>		N-NO <sub>2</sub>			
	[cm]	[g]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	1-1,5	25	0,5	4,70	5,20 ± 0,50	9,62	3,26	3,17 ± 0,09	2,84
Vzorek 2				5,70			3,08		
Vzorek 3				3,30			0,06		

	Frakce hoblin	Množství hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	N-NO <sub>3</sub>		Denitrifikační rychlost			
	[cm]	[g]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	1-1,5	25	0,5	1,48	2,06 ± 0,58	27,98	1,97	1,89 ± 0,08	4,33
Vzorek 2				2,63			1,81		
Vzorek 3				3,28			1,72		

	Frakce hoblin	Množství hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Úbytek N-NO <sub>x</sub> v průběhu testu		CHSK <sub>Cr</sub>			
	[cm]	[g]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	1-1,5	25	0,5	10,60	9,14 ± 1,46	15,97	106	114 ± 0	7
Vzorek 2				7,68			121		
Vzorek 3				12,00			129		

	Frakce hoblin	Množství hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Zákal		
	[cm]	[g]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[ZF]	v <sub>x</sub> [%]	
Vzorek 1	1-1,5	25	0,5	9,90	9,2 ± 0,7	7,6
Vzorek 2				8,50		
Vzorek 3				11,90		

### 13.2.2 Souhrnná tabulka průměrných hodnot

Frakce hoblin	Množství hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	pH		O <sub>2</sub>		N-NO <sub>x</sub>	
[cm]	[g]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[-]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]
1-1,5	25	0,5	7,60 ± 0,04	0,53	0,42 ± 0,04	8,43	3,50 ± 0,07	2,00
0,5-1	25	0,5	7,54 ± 0,08	1,06	1,26 ± 0,06	4,38	5,20 ± 0,50	9,62

Frakce hoblin	Množství hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	N-NO <sub>2</sub>		N-NO <sub>3</sub>		Denitrifikační rychlost	
[cm]	[g]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]
1-1,5	25	0,5	0,04 ± 0,00	6,67	3,46 ± 0,07	1,95	1,70 ± 0,01	0,59
0,5-1	25	0,5	3,17 ± 0,09	2,84	2,06 ± 0,58	27,98	1,89 ± 0,08	4,33

Frakce hoblin	Množství hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Úbytek N-NO <sub>x</sub> v průběhu testu		CHSK <sub>Cr</sub>		Zákal	
[cm]	[g]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[ZF]	v <sub>x</sub> [%]
1-1,5	25	0,5	11,90 ± 0,07	0,59	123 ± 7	6	9,4 ± 1,6	17,0
0,5-1	25	0,5	9,14 ± 1,46	15,97	114 ± 0	7	9,2 ± 0,7	7,6

## Příloha 2 analýza výsledků měření – optimalizace množství organického uhlíku

### 13.3 Analýza surové vody (20.1.2021)

#### 13.3.1 Výčet všech naměřených hodnot

	Množství hoblin	Frakce hoblin	pH	N-NO <sub>3</sub> =N-NO <sub>x</sub>	O <sub>2</sub>	
	[g]	[cm]	[-]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	
Vzorek 1	15	1-1,5	8,31	15,30	0,47	0,44 ± 0,05
Vzorek 2					0,38	
Vzorek 3					0,48	

	Množství hoblin	Frakce hoblin	pH	N-NO <sub>3</sub> =N-NO <sub>x</sub>	O <sub>2</sub>	
	[g]	[cm]	[-]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	
Vzorek 1	25	1-1,5	8,29	15,30	0,34	0,40 ± 0,06
Vzorek 2					0,48	
Vzorek 3					0,38	

	Množství hoblin	Frakce hoblin	pH	N-NO <sub>3</sub> =N-NO <sub>x</sub>	O <sub>2</sub>	
	[g]	[cm]	[-]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	
Vzorek 1	40	1-1,5	8,28	15,30	0,46	0,48 ± 0,01
Vzorek 2					0,49	
Vzorek 3					0,48	

#### 13.3.2 Souhrnná tabulka průměrných hodnot

Množství hoblin	Frakce hoblin	pH	N-NO <sub>3</sub> =N-NO <sub>x</sub>	O <sub>2</sub>
[g]	[cm]	[-]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]
15	1-1,5	8,31	15,30	0,44 ± 0,05
25	1-1,5	8,29	15,30	0,40 ± 0,06
40	1-1,5	8,28	15,30	0,48 ± 0,01

### 13.4 Analýza supernatantu (27.1.2021)

#### 13.4.1 Výčet všech naměřených hodnot

	Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	pH		O <sub>2</sub>			
	[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[-]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	15	1-1,5	0,5	6,95	7,07 ± 0,23	3,28	1,42	0,98 ± 0,33	34,02
Vzorek 2				6,86			0,89		
Vzorek 3				7,39			0,62		

	Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	N-NO <sub>x</sub>			N-NO <sub>2</sub>		
	[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	15	1-1,5	0,5	14,50	13,30 ± 0,91	6,84	0,05	0,06 ± 0,01	16,31
Vzorek 2				13,10			0,06		
Vzorek 3				12,30			0,07		

	Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	N-NO <sub>3</sub>			Denitrifikační rychlost		
	[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	15	1-1,5	0,5	14,45	13,24 ± 0,92	6,94	0,11	0,29 ± 0,06	20,00
Vzorek 2				13,04			0,31		
Vzorek 3				12,23			0,43		

	Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Úbytek N-NO <sub>x</sub> v průběhu testu			CHSK <sub>Cr</sub>		
	[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	15	1-1,5	0,5	0,80	2,00 ± 0,91	45,46	51	52 ± 2	4
Vzorek 2				2,20			55		
Vzorek 3				3,00			51		

	Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Absorbance 254 nm			Zákal		
	[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[-]	v <sub>x</sub> [%]	[ZF]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	15	1-1,5	0,5	0,360	0,379 ± 0,013	3,492	6,20	6,5 ± 0,2	3,3
Vzorek 2				0,387			6,60		
Vzorek 3				0,389			6,70		

	Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	pH			O <sub>2</sub>		
	[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[-]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	25	1-1,5	0,5	7,24	7,42 ± 0,01	0,07	0,57	0,48 ± 0,08	16,67
Vzorek 2				7,42			0,56		
Vzorek 3				7,41			0,40		

	Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	N-NO <sub>x</sub>			N-NO <sub>2</sub>		
	[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	25	1-1,5	0,5	11,30	9,05 ± 0,35	3,87	0,07	0,07 ± 0,01	9,63
Vzorek 2				8,70			0,07		
Vzorek 3				9,40			0,06		

	Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	N-NO <sub>3</sub>		Denitrifikační rychlost			
	[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	25	1-1,5	0,5	11,23	9,00 ± 0,36	4,02	0,57	0,89 ± 0,05	5,60
Vzorek 2				8,64			0,94		
Vzorek 3				9,36			0,84		

	Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Úbytek N-NO <sub>x</sub> v průběhu testu		CHSK <sub>Cr</sub>			
	[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	25	1-1,5	0,5	4,00	6,25 ± 0,35	5,60	97	80 ± 7	8
Vzorek 2				6,60			86		
Vzorek 3				5,90			73		

	Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Absorbance 254 nm		Zákal			
	[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[-]	v <sub>x</sub> [%]	[ZF]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	25	1-1,5	0,5	0,634	0,569 ± 0,023	4,04	11,9	9,7 ± 0,3	2,6
Vzorek 2				0,592			9,9		
Vzorek 3				0,546			9,4		

	Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	pH		O <sub>2</sub>			
	[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[-]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	40	1-1,5	0,5	7,41	7,35 ± 0,02	0,20	0,41	0,46 ± 0,03	16,67
Vzorek 2				7,33			0,48		
Vzorek 3				7,36			0,43		

	Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	N-NO <sub>x</sub>		N-NO <sub>2</sub>			
	[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	40	1-1,5	0,5	5,90	4,50 ± 0,00	0,00	0,08	0,07 ± 0,00	0,68
Vzorek 2				4,50			0,07		
Vzorek 3				4,50			0,07		

	Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	N-NO <sub>3</sub>		Denitrifikační rychlost			
	[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	40	1-1,5	0,5	5,79	4,41 ± 0,03	0,69	1,36	1,56 ± 0,00	0,29
Vzorek 2				4,44			1,55		
Vzorek 3				4,38			1,56		



	Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Úbytek N-NO <sub>x</sub> v průběhu testu		CHSK <sub>Cr</sub>			
	[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	40	1-1,5	0,5	9,30	10,50 ± 0,00	0,00	189	190 ± 2	1
Vzorek 2				10,70			192		
Vzorek 3				10,30			188		

	Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Absorbance 254 nm		Zákal			
	[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[-]	v <sub>x</sub> [%]	[ZF]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	40	1-1,5	0,5	0,947	1,000 ± 0,011	1,055	19,7	11,2 ± 0,5	4,0
Vzorek 2				0,985			11,6		
Vzorek 3				1,006			10,7		

### 13.4.2 Souhrnná tabulka průměrných hodnot

Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	pH		O <sub>2</sub>		N-NO <sub>x</sub>	
			[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[-]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]
15	1-1,5	0,5	7,07 ± 0,23	3,28	0,98 ± 0,33	34,02	13,30 ± 0,91	6,84
25	1-1,5	0,5	7,42 ± 0,01	0,07	0,48 ± 0,08	16,67	9,05 ± 0,35	3,87
40	1-1,5	0,5	7,35 ± 0,02	0,20	0,46 ± 0,03	16,67	4,50 ± 0,00	0,00

Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	N-NO <sub>2</sub>		N-NO <sub>3</sub>		Denitrifikační rychlost	
			[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]
15	1-1,5	0,5	0,06 ± 0,01	16,31	13,24 ± 0,92	6,94	0,29 ± 0,06	20,00
25	1-1,5	0,5	0,07 ± 0,01	9,63	9,00 ± 0,36	4,02	0,89 ± 0,05	5,60
40	1-1,5	0,5	0,07 ± 0,00	0,68	4,41 ± 0,03	0,69	1,56 ± 0,00	0,29

Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Úbytek N-NO <sub>x</sub> v průběhu testu		CHSK <sub>Cr</sub>		Absorbance 254 nm	
			[g]	[cm]	[g.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]
15	1-1,5	0,5	2,00 ± 0,91	45,46	52 ± 2	4	0,379 ± 0,013	3,490
25	1-1,5	0,5	6,25 ± 0,35	5,60	80 ± 7	8	0,570 ± 0,020	4,042
40	1-1,5	0,5	10,50 ± 0,00	0,00	190 ± 2	1	1,000 ± 0,010	1,055

Množství hoblin	Frakce hoblin	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Zákal	
			[g]	[cm]
15	1-1,5	0,5	6,5 ± 0,2	3,3
25	1-1,5	0,5	9,7 ± 0,3	2,6
40	1-1,5	0,5	11,2 ± 0,5	4,0

## Příloha 3 analýza výsledků měření – optimalizace dávky NaHCO<sub>3</sub>

### 13.5 Analýza surové vody (9.2.2021)

#### 13.5.1 Výchyt všech naměřených hodnot

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	pH	N-NO <sub>3</sub> =N-NO <sub>x</sub>	O <sub>2</sub>	
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[-]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	
Vzorek 1	0	15	1-1,5	8,02	15,6	0,36	0,40 ± 0,06
Vzorek 2						0,49	
Vzorek 3						0,36	

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	pH	N-NO <sub>3</sub> =N-NO <sub>x</sub>	O <sub>2</sub>	
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[-]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	
Vzorek 1	0,5	15	1-1,5	8,11	15,5	0,42	0,42 ± 0,03
Vzorek 2						0,45	
Vzorek 3						0,38	

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	pH	N-NO <sub>3</sub> =N-NO <sub>x</sub>	O <sub>2</sub>	
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[-]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	
Vzorek 1	1	15	1-1,5	8,22	15,5	0,41	0,39 ± 0,09
Vzorek 2						0,48	
Vzorek 3						0,27	

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	pH	N-NO <sub>3</sub> =N-NO <sub>x</sub>	O <sub>2</sub>	
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[-]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	
Vzorek 1	2	15	1-1,5	8,22	15,7	0,50	0,47 ± 0,02
Vzorek 2						0,46	
Vzorek 3						0,45	

#### 13.5.2 Souhrnná tabulka průměrných hodnot

Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	pH	N-NO <sub>3</sub> =N-NO <sub>x</sub>	O <sub>2</sub>
[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[-]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	[mg.l <sup>-1</sup> ]
0	15	1-1,5	8,02	15,60	0,40 ± 0,06
0,5	15	1-1,5	8,11	15,50	0,42 ± 0,03
1	15	1-1,5	8,22	15,50	0,39 ± 0,09
2	15	1-1,5	8,22	15,70	0,47 ± 0,02

## 13.6 Analýza supernatantu (16.2.2021)

### 13.6.1 Výčet všech naměřených hodnot

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	pH		O <sub>2</sub>			
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[-]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	0	15	1-1,5	6,67	6,45 ± 0,16	2,44	1,39	0,90 ± 0,34	38,11
Vzorek 2				6,30			0,67		
Vzorek 3				6,39			0,65		

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	N-NO <sub>x</sub>		N-NO <sub>2</sub>			
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	0	15	1-1,5	8,71	9,74 ± 1,00	10,29	0,05	0,04 ± 0,01	20,18
Vzorek 2				11,10			0,04		
Vzorek 3				9,42			0,03		

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	N-NO <sub>3</sub>		Denitrifikační rychlost			
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	0	15	1-1,5	8,66	9,70 ± 1,01	10,38	1,36	1,49 ± 0,09	6,28
Vzorek 2				11,06			1,55		
Vzorek 3				9,39			1,56		

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	Úbytek N-NO <sub>x</sub> v průběhu testu		CHSK <sub>Cr</sub>			
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	0	15	1-1,5	6,89	5,86 ± 1,00	17,11	101	113 ± 9	8
Vzorek 2				4,50			121		
Vzorek 3				6,18			116		

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	Absorbance 254 nm		Zákal			
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[-]	v <sub>x</sub> [%]	[ZF]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	0	15	1-1,5	0,536	0,55 ± 0,020	3,682	6,4	7,2 ± 0,6	8,2
Vzorek 2				0,581			7,6		
Vzorek 3				0,540			7,7		

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	pH		O <sub>2</sub>			
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[-]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	0,5	15	1-1,5	7,50	7,49 ± 0,05	0,61	0,63	0,71 ± 0,16	22,71
Vzorek 2				7,43			0,56		
Vzorek 3				7,54			0,93		

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	N-NO <sub>x</sub>		N-NO <sub>2</sub>			
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	0,5	15	1-1,5	7,02	6,13 ± 0,65	10,56	0,04	0,62 ± 0,52	84,16
Vzorek 2				5,87			1,31		
Vzorek 3				5,50			0,52		

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	N-NO <sub>3</sub>		Denitrifikační rychlost			
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	0,5	15	1-1,5	6,98	5,51 ± 1,06	19,17	1,22	1,43 ± 0,15	10,57
Vzorek 2				4,56			1,56		
Vzorek 3				4,98			1,50		

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	Úbytek N-NO <sub>x</sub> v průběhu testu		CHSK <sub>Cr</sub>			
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	0,5	15	1-1,5	8,50	9,37 ± 0,65	6,91	113	116 ± 2	2
Vzorek 2				9,60			117		
Vzorek 3				10,00			118		

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	Absorbance 254 nm		Zákal			
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[-]	v <sub>x</sub> [%]	[ZF]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	0,5	15	1-1,5	0,612	0,630 ± 0,017	2,757	8,2	9,2 ± 1,0	11,1
Vzorek 2				0,615			8,8		
Vzorek 3				0,65			10,6		

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	pH		O <sub>2</sub>			
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[-]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	1	15	1-1,5	7,92	7,83 ± 0,08	1,00	1,70	0,92 ± 0,55	60,01
Vzorek 2				7,73			0,56		
Vzorek 3				7,85			0,50		

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	N-NO <sub>x</sub>			N-NO <sub>2</sub>		
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	1	15	1-1,5	8,52	7,24 ± 1,08	14,97	1,42	3,90 ± 1,77	45,19
Vzorek 2				7,32			5,38		
Vzorek 3				5,87			4,91		

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	N-NO <sub>3</sub>			Denitrifikační rychlost		
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	1	15	1-1,5	7,09	3,33 ± 2,687	80,72	1,201	1,740±0,384	22,12
Vzorek 2				1,94			1,937		
Vzorek 3				0,96			2,077		

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	Úbytek N-NO <sub>x</sub> v průběhu testu			CHSK <sub>Cr</sub>		
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	1	15	1-1,5	7,00	9,23 ± 1,60	17,36	114	113 ± 3	3
Vzorek 2				10,10			109		
Vzorek 3				10,60			116		

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	Absorbance 254 nm			Zákal		
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[-]	v <sub>x</sub> [%]	[ZF]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	1	15	1-1,5	0,692	0,664 ± 0,034	5,162	9,8	8,2 ± 1,1	13,8
Vzorek 2				0,616			7,3		
Vzorek 3				0,685			7,5		

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	pH			O <sub>2</sub>		
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[-]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	2	15	1-1,5	8,23	8,24 ± 0,02	0,21	1,10	0,68 ± 0,30	43,74
Vzorek 2				8,22			0,49		
Vzorek 3				8,26			0,45		

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	N-NO <sub>x</sub>			N-NO <sub>2</sub>		
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	2	15	1-1,5	7,90	7,70 ± 0,71	9,20	0,25	0,59 ± 0,61	103,16
Vzorek 2				8,45			1,45		
Vzorek 3				6,75			0,08		

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	N-NO <sub>3</sub>			Denitrifikační rychlost		
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	2	15	1-1,5	7,65	7,11 ± 0,41	5,76	1,15	1,23 ± 0,06	4,76
Vzorek 2				7,00			1,24		
Vzorek 3				6,67			1,29		

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	Úbytek N-NO <sub>x</sub> v průběhu testu			CHSK <sub>Cr</sub>		
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	2	15	1-1,5	7,80	10,33 ± 2,81	27,18	113	108 ± 5	5
Vzorek 2				14,25			101		
Vzorek 3				8,95			111		

	Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	Absorbance 254 nm			Zákal		
	[g.l <sup>-1</sup> ]	[g]	[cm]	[-]	v <sub>x</sub> [%]	[ZF]	v <sub>x</sub> [%]		
Vzorek 1	2	15	1-1,5	0,778	0,720 ± 0,044	6,174	10,8	8,6 ± 1,6	18,1
Vzorek 2				0,670			7,4		
Vzorek 3				0,712			7,6		

### 13.6.2 Souhrnná tabulka průměrných hodnot

Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	pH		O <sub>2</sub>		N-NO <sub>x</sub>	
			[-]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]
0	25	1-1,5	6,45 ± 0,16	2,44	0,90 ± 0,34	38,11	9,74 ± 1,00	10,29
0,5	25	1-1,5	7,49 ± 0,05	0,61	0,71 ± 0,16	22,71	6,13 ± 0,65	10,56
1	25	1-1,5	7,83 ± 0,08	1,00	0,92 ± 0,55	60,01	7,24 ± 1,08	14,97
2	25	1-1,5	8,24 ± 0,02	0,21	0,68 ± 0,30	43,74	7,70 ± 0,71	9,20

Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	N-NO <sub>2</sub>		N-NO <sub>3</sub>		Denitrifikační rychlost	
			[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]
0	25	1-1,5	0,04 ± 0,01	20,18	9,70 ± 1,01	10,38	1,49 ± 0,09	6,28
0,5	25	1-1,5	0,62 ± 0,52	84,16	5,51 ± 1,06	19,17	1,43 ± 0,15	10,57
1	25	1-1,5	3,90 ± 1,77	45,19	3,33 ± 2,69	80,72	1,74 ± 0,38	22,12
2	25	1-1,5	0,59 ± 0,61	103,16	7,11 ± 0,41	5,76	1,23 ± 0,06	4,76

Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	Úbytek N-NO <sub>x</sub> v průběhu testu		CHSK <sub>Cr</sub>		Zákal	
			[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[mg.l <sup>-1</sup> ]	v <sub>x</sub> [%]	[ZF]	v <sub>x</sub> [%]
0	25	1-1,5	5,86 ± 1,00	17,11	113 ± 9	8	7,2 ± 0,6	8,2
0,5	25	1-1,5	9,37 ± 0,65	6,91	116 ± 2	2	9,2 ± 1,0	11,1
1	25	1-1,5	9,23 ± 1,60	17,36	113 ± 3	3	8,2 ± 1,1	13,8
2	25	1-1,5	10,33 ± 2,81	27,18	108 ± 5	5	8,6 ± 1,6	18,1

Přídavek NaHCO <sub>3</sub>	Množství hoblin	Frakce hoblin	Absorbance 254 nm	
			[-]	v <sub>x</sub> [%]
0	25	1-1,5	0,550 ± 0,020	3,682
0,5	25	1-1,5	0,630 ± 0,017	2,757
1	25	1-1,5	0,660 ± 0,034	5,162
2	25	1-1,5	0,720 ± 0,044	6,174