

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

Optimalizace průběhu biologické úpravy fugátu

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Tereza Kubová

Obor studia: Technologie zpracování a využití odpadů

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

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Optimalizace průběhu biologické úpravy fugátu" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 2.7.2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu diplomové práce panu Ing. Pavlu Švehlovi Ph.D. za jeho vstřícnost a ochotu při konzultacích, za věnovaný čas, cenné rady a připomínky. Mé poděkování patří i Ing. Heleně Radechovské a Ing. Pavlu Míchalovi, Ph.D. za pomoc v laboratoři při praktické části této práce.

Výzkum realizovaný v rámci diplomové práce byl součástí aktivit spojených s řešením projektu podporovaného MZe ČR v rámci NAZV, registrační číslo projektu QK1710176. Děkujeme poskytovateli dotace za finanční podporu výzkumu.

Optimalizace průběhu biologické úpravy fugátu

Souhrn

V rámci diplomové práce probíhal v prostorách ČZU od 7. 3. 2016 do 19. 5. 2017 laboratorní experiment zabývající se zpracováním fugátu nitrifikací. Fugát je kapalná frakce fermentačního zbytku vznikající jako sekundární produkt v bioplynových stanicích (BPS). Během experimentu byl kladen důraz na optimalizaci podmínek panujících v nitrifikačním reaktoru tak, aby výsledným produktem oxidace amoniakálního dusíku byly dusičnany. Pozornost byla věnována především hodnotě pH, koncentraci rozpuštěného kyslíku, toxickým nedisociovaným formám dusíku a dalším faktorům, které měly vliv na biologickou předúpravu fugátu, zejména na nitratační bakterie oxidující toxické dusitany na žádoucí dusičnany.

Laboratorní model byl umístěn v laboratoři o provozní teplotě $24,0 \pm 2,0$ °C. Reaktor o objemu 5 l nitrifikoval fugát ze zemědělské BPS zpracovávající biologicky rozložitelný odpad a jako inokulum byl využit aktivovaný kal z velké městské čistírny odpadních vod. Koncentrace N-amon se ve vstupním fugátu pohybovala mezi 2130 a 7450 mg/l. Hodnota pH v reaktoru se pohybovala mezi 5,8 a 9,3, přičemž byla regulována prostřednictvím přidavku roztoku NaOH. Reaktor byl uměle provzdušňován a koncentrace rozpuštěného kyslíku byla naměřena od 0,61 do 9,01 mg/l. Během experimentu objemové zatížení reaktoru amoniakálním dusíkem v průměru činilo $0,23 \pm 0,08$ kg.m⁻³.d⁻¹.

Výsledky laboratorního experimentu dokázaly, že i přes extrémní charakteristiky fugátu v něm lze dlouhodobě provozovat úplný nitrifikační proces. Bylo prokázáno, že v agresivním prostředí fugátu je možné vytvářet dusičnany jako výsledný produkt nitrifikace. Průměrná účinnost převedení N-amon na oxidované formy činila $92,0 \pm 14,0$ % a významně na ni působila regulace hodnoty pH. Mezi oxidovanými produkty nitrifikace bylo procentuální zastoupení N-NO₃⁻ v průměru $86,5 \pm 28,0$ %, u N-NO₂⁻ byl průměr $13,5 \pm 28,0$ %. Podíl dusičnanů a dusitanů značně ovlivňovaly nedisociované formy dusíku – volný amoniak (Free Ammonia - FA) a volná kyselina dusitá (Free Nitrous Acid - FNA), jež inhibují nitratační bakterie převádějící dusitany na dusičnany. Při zvýšené koncentraci FA a FNA tak docházelo ke kumulaci dusitanů.

Klíčová slova: bioplynové stanice, fugát, nitrifikace, inhibice, živiny

Optimalization of the Course of Biological Treatment of Fugate

Summary

As part of diploma thesis, a laboratory experiment, dealing with the processing of the fugate by nitrification, took place in a laboratory in CZU from 7.03.2016 until 19.05.2017. The fugate is the liquid phase of digestate (LPD), formed as a secondary product in the biogas plants. During the experiment, an emphasis was placed on optimizing the conditions in the nitrification reactor so that the resulting product of ammonia nitrogen oxidation was nitrates. Particular attention was paid especially to the pH value, dissolved oxygen concentration, toxic undissociated forms of nitrogen and the other factors that influenced the biological pretreatment of the LPD, above all the nitrating bacteria oxidizing toxic nitrites to the desirable nitrates.

The laboratory model was placed in the laboratory and the temperature range was 24.0 ± 2.0 °C. A nitrification reactor of five liters operational volume nitrified LPD from agricultural biogas plant, which processes biodegradable waste, as an inoculum was used activated sludge from a large urban wastewater treatment plant. In the beginning was the total ammonium nitrogen (TAN) concentration between 2130 to 7450 mg/l. The pH in the reactor ranged between 5.8 and 9.3, and was controlled by the addition of NaOH solution. The reactor was artificially aerated and the dissolved oxygen concentration was measured from 0.61 to 9.01 mg/l. During the experiment, the volume loading of the reactor with ammonia nitrogen averaged 0.23 ± 0.08 kg.m⁻³.d⁻¹.

The results of the laboratory experiment proved that despite the extreme characteristics of the LPD, a complete nitrification process can be operated in it for a long time. It has been proved that in the aggressive environment of the LPD it is possible to form nitrates as a final product of nitrification. The average efficiency of conversion of TAN to oxidized forms was 92.0 ± 14.0 % and was significantly affected by pH regulation. Among the oxidized nitrification products, the percentage of N-NO₃⁻ was on average 86.5 ± 28.0 %, for N-NO₂⁻ the average was 13.5 ± 28.0 %. The proportion of nitrates and nitrites was considerably affected by undissociated forms of nitrogen – Free Ammonia (FA) and Free Nitrous Acid (FNA), which inhibit nitrating bacteria that convert nitrites to nitrates. With increased concentrations of FA and FNA, nitrites accumulated.

Keywords: biogas plants, fugate, nitrification, inhibition, nutrients

Obsah

1 Úvod	1
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	3
3 Literární rešerše.....	4
3.1 Biomasa	4
3.2 Bioplynové stanice.....	4
3.3 Anaerobní fermentace	5
3.3.1 Produkty anaerobní fermentace	7
3.4 Fermentační zbytek.....	8
3.4.1 Využití a skladování	9
3.4.2 Použití fermentačního zbytku jako hnojiva	11
3.4.3 Separace fermentačního zbytku	12
3.5 Separát	14
3.6 Fugát.....	15
3.6.1 Využití fugátu	15
3.6.2 Skladování fugátu	17
3.7 Metody pro zpracování a úpravu fugátu za účelem racionalizace využití živin ..	17
3.7.1 Iontová výměna	18
3.7.2 Srážení struvitu	18
3.7.3 Stripování amoniaku.....	19
3.7.4 Membránové technologie	19
3.7.5 Využití řas.....	20
3.7.6 Nitrifikace	20
3.7.6.1 Faktory ovlivňující nitrifikaci	22
3.7.7 Nitrifikace + tepelné zahušťování	24
3.8 Metody zpracování fugátu jako odpadní vody využívající nitrifikační proces...	25
3.8.1 Denitrifikace	25
3.8.2 Nitritace/Denitritace	26
3.8.3 Deamonifikace.....	26
4 Metodika	28
4.1 Laboratorní model M₁	28

4.2	Analytické metody stanovující jednotlivé parametry	29
4.2.1	Stanovení koncentrace N-amon	31
4.2.2	Stanovení koncentrace N-NO ₂ ⁻	31
4.2.3	Stanovení koncentrace N-NO ₃ ⁻	32
4.2.4	Stanovení koncentrace O ₂ , hodnoty pH a průtoku.....	32
4.2.5	Stanovení CHSK dichromanem draselným	33
4.2.6	Stanovení veškerých, nerozpuštěných a rozpuštěných látek, stanovení ztrát žiháním	34
4.3	Výpočty základních parametrů procesu	34
5	Výsledky	37
5.1	Hodnota pH.....	37
5.2	Koncentrace O₂.....	37
5.3	Průtok, objemové zatížení dusíkem, hydraulická doba zdržení	38
5.4	Koncentrace sloučenin dusíku	39
5.5	Účinnost oxidace N-amon	40
5.6	Objemová rychlost odstranění N-amon	41
5.7	Procentuální zastoupení N-NO₃⁻ a N-NO₂⁻ mezi produkty nitrifikace.....	42
5.8	CHSK	42
5.9	Účinnost odstranění CHSK	43
5.10	FA, FNA	44
6	Diskuze	45
6.1	Vliv hodnoty pH na průběh oxidace N-amon	45
6.1.1	Vliv pH nitrifikovaného fugátu na možnosti jeho využití a dalšího zpracování..	46
6.2	Koncentrace O₂.....	47
6.3	Vliv FA a FNA	48
6.4	Možné využití výsledků v praxi	49
7	Závěr.....	51
8	Literatura.....	52

1 Úvod

Bioplynové stanice při procesu zvaném anaerobní fermentace zpracovávají biologicky rozložitelný organický materiál za vzniku bioplynu a vedlejšího produktu, tzv. fermentačního zbytku. Přesto, že bioplyn představuje velkou příležitost při výrobě energie z obnovitelných zdrojů, ekologická účinnost jeho výroby je závislá také na udržitelném hospodaření s fermentačním zbytkem.

Fermentační zbytek je možné zpracovávat tak, aby došlo k co nejefektivnějšímu využití živin, které obsahuje. Lze ho separovat na tuhou část označovanou jako separát a na tekutou část nazývanou fugát. Separát je možno kompostovat, použít jako pěšební substrát nebo po dosušení a následném peletizování ho lze využít jako tuhé palivo. Fugát obsahuje 2 - 4 % sušiny a svým vzhledem připomíná odpadní vodu. Je bohatý na živiny, zejména na amoniakální dusík (N-amon, dusík přítomný ve formě NH_4^+ a NH_3). Přítomné jsou ale i další živiny jako např. fosfor, draslík, hořčík. Fugát lze bez úpravy při vyhovění legislativních podmínek využívat jako hnojivo na zemědělské půdy.

Z dlouhodobého hlediska je však tento způsob využití neudržitelný. Při skladování v uskladňovacích nádržích a i při samotné aplikaci na zemědělskou půdu dochází ke ztrátě živin v podobě těkání amoniaku do ovzduší, což je velice nežádoucí vliv jak z hlediska ekonomického, tak environmentálního (ztráta dusíkaté živiny, kontaminace ovzduší). Únikem amoniaku do ovzduší mohou ztráty dusíku při manipulaci s fugátem dosahovat až 30 %. Tím je fugát ochuzen o značnou část živin. Nevýhodou použití surového fugátu jako hnojiva je také jeho relativně nízký podíl sušiny a velký podíl balastní vody. Tyto faktory vedou k nutnosti zajištění dostatečně velkých kapacit na jeho skladování a vyšším nákladům za převoz a jeho aplikaci. Dále také zvyšují riziko ztuhnutí půdy z důvodu častých přejezdů cisteren při aplikaci.

Tyto problémy vedou k rozvoji a inovaci různých technologií schopných efektivněji využít živiny a zamezit jejich ztrátám. Perspektivním řešením se jeví biologická úprava fugátu nitrifikací, kterou se i tato diplomová práce zabývá. Principem nitrifikace je oxidace N-amon za vzniku dusičnanového dusíku, který do ovzduší netěká a je snadno přijatelnou živinou pro rostliny. S nitrifikačním procesem je spojen i pokles pH a vznik H^+ kationtu, který má díky

snížení zastoupení těkavého NH_3 v rámci N-amon potenciál minimalizovat ztráty dusíku při nakládání s fugátem i v případě, že podstatná část N-amon není nitrifikací převedena na dusičnanový dusík. Nitrifikace fugátu je příhodná i pro případné další zpracování fugátu pomocí tepelného zahušťování, které vede ke snížení objemu fugátu.

V rámci této práce se zkoumaly faktory ovlivňující průběh nitrifikace a jejich optimalizace na prostředí fugátu.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem práce je identifikovat optimální podmínky pro biologickou úpravu fugátu spočívající v nitrifikaci v něm obsaženého amoniakálního dusíku. Pozornost bude věnována maximalizaci výkonu nitrifikačního reaktoru a zamezení hromadění dusitanů v průběhu nitrifikačního procesu. Vlastnosti fugátu upraveného nitrifikačním procesem budou optimalizovány s ohledem na jeho předpokládané následné zpracování tepelným zahuštěním.

Základní hypotézou je předpoklad, že s využitím regulace pH v počáteční fázi provozu reaktoru bude možno velice rychle iniciovat nitrifikační proces, který bude produkovat dusičnany jako dominantní produkt. Zároveň se předpokládá, že fugát podrobený nitrifikaci bude možno následně zpracovat tepelným zahuštěním s využitím přebytečného tepla produkovaného kogeneračními jednotkami bioplynových stanic.

3 Literární rešerše

3.1 Biomasa

Poslední dobou je možné se stále častěji setkat s pojmem biomasa, výrazem, pod kterým je rozuměn materiál rostlinného a živočišného původu (Andert et al. 2006). Téměř 800 000 let biomasu člověk využívá ke svému prospěchu, je to nejdéle člověkem používaný zdroj energie. Celosvětově byla biomasa až do 18. století i nejdůležitějším zdrojem energie, v některých zemích, jako např. Etiopie nebo Mozambik, je tomu tak i v současnosti. Nyní však v průmyslově vyspělých státech biomasa překračuje podobu tradičního využití jakožto palivového dřeva a je využívána pro výrobu moderní formy energie, do níž je zahrnuta i energie získaná z bioplynu v rámci provozu bioplynových stanic (Quaschnig 2008).

Nejčastěji se jedná o dřevo a dřevní odpad, slámu a jiné zemědělské zbytky včetně exkrementů užitkových zvířat. Dalším zdrojem biomasy mohou být různé druhy odpadů či vedlejší produkty ze zemědělství a potravinářského průmyslu (vedlejší živočišné produkty z jatek, výpalky, pivovarské mláto apod.) (Drosg et al. 2015). Z rostlinné biomasy je jako vstupní materiál v bioplynových stanicích nejvíce používána kukuřice (Petříková & Weger 2015), při sklizni je obsah sušiny přibližně 27 % (Benda 2012). Důležitým faktorem je hodnota pH (zásaditost nebo kyselost) materiálu na vstupu do procesu. Za optimální se považuje interval blízký neutrální hodnotě pH, a to 6,5 - 7,8 (Hlavatá 2004).

3.2 Bioplynové stanice

Bioplynové stanice (BPS) jsou zařízení, která mohou zpracovávat širokou škálu materiálů. Stanice jsou rozšířené po celém světě. Výhodou BPS je, že se materiál při zpracování stabilizuje, a tím se eliminuje zatížení oblasti pachovými látkami (Al Seadi et al. 2013). BPS zpracovávají biologicky rozložitelný organický materiál, mezi který se řadí například kejda, drůbeží hnůj, siláž, cíleně pěstované plodiny jako je například kukuřice, bobovité plodiny, obiloviny. Dále také zpracovávají zbytky z jídelen nebo domácností (Straka et al. 2006). BPS jsou založeny na procesu anaerobní fermentace, která probíhá v uzavřených reaktorech bez přístupu vzduchu (viz kapitola 3.3.). Výsledkem procesu jsou bioplyn, který se dále využívá k výrobě obnovitelných zdrojů tepla a energie, a fermentační zbytek, který se dá využívat jako hnojivo (Al Seadi et al. 2013). Dle vstupní biomasy rozlišujeme tři typy BPS, jsou to zemědělské, průmyslové a komunální (Lindkvist & Karlsson 2018).

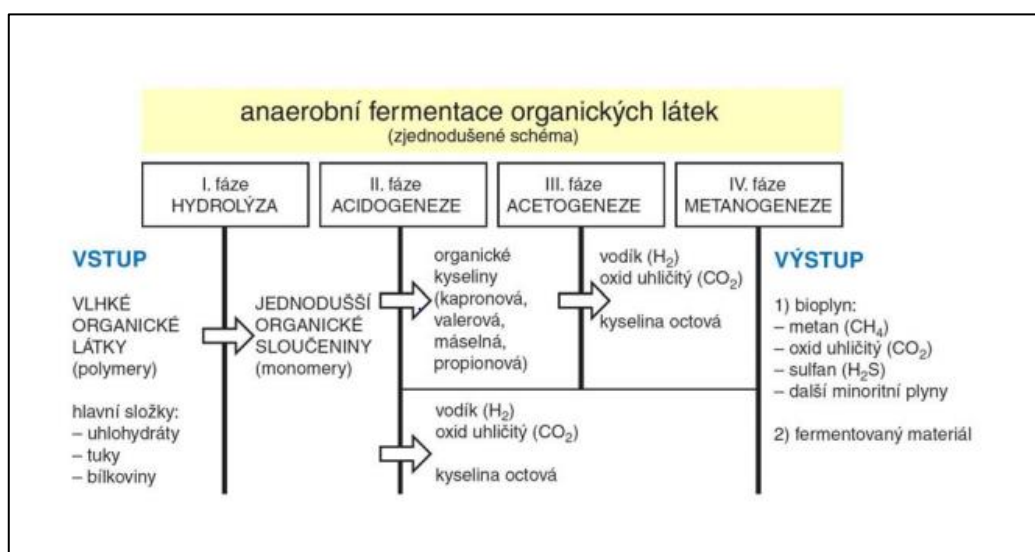
Základním předpokladem pro fungující BPS je vhodně zvolený vstupní materiál. Vstupní materiál se dělí do tří kategorií: produkty živočišné výroby, biologicky rozložitelný odpad a cíleně pěstované plodiny (Straka et al. 2006).

Příjmové místo slouží k úpravě čerstvého substrátu (upravení velikosti částic, míchání, homogenizace, ředění apod.) a k dávkování vstupního materiálu do anaerobního procesu. To vše se děje před vstupem do fermentoru (Straka et al. 2006).

Ve fermentoru dochází k anaerobní fermentaci a tento krok je základním článkem celého zařízení. Probíhají zde biochemické procesy, které vedou k výrobě bioplynu. Fermentor musí být odolný, je tedy nutné, aby se pro stavbu konstrukce použila nerezová ocel, železobeton či beton. Střecha zároveň slouží jako zásobník pro vzniklý bioplyn (Schulz & Eder 2004).

3.3 Anaerobní fermentace

Tento proces bývá označován také jako biometanizace, metanové kvašení, anaerobní digesce, metanová fermentace, anaerobní stabilizace atd. Jedná se o složitý biochemický proces, který je tvořen dílčími, na sebe navazujícími biologickými, fyzikálně - chemickými a fyzikálními reakcemi. Tento proces vede k výrobě bioplynu (Drosg et al. 2015). Jedna skupina mikroorganismů vytváří produkt, který se stává substrátem skupiny druhé, a proto výpadek jedné skupiny může zapříčinit poruchu v celém systému (Lee et al. 2009). Celý proces je rozdělen do čtyř základních fází (obr. 1). Každá fáze vyžaduje jiné podmínky, jelikož se v průběhu procesu uplatňují různé druhy mikroorganismů (Weiland 2010).



Obr. 1 Zjednodušené schéma anaerobní fermentace (Kára 2007)

Hydrolýza

Vstupující biomasa je tvořena vysokomolekulárními látkami (celulóza, škrob, bílkoviny). Přítomny jsou také oleje a tuky. Hydrolytické bakterie svými enzymy rozloží zmíněné polymery na jednodušší organické látky - monomery (Dohányos et al. 1998).

Acidogeneze

Působením acidogenních mikroorganismů se produkty hydrolýzy ve druhé fázi transformují na jednodušší organické látky, konkrétně na mastné kyseliny s krátkými řetězci, jako např. kyselina octová a některé vyšší organické kyseliny, kyselina mléčná, dále pak i alkoholy, oxid uhličitý a vodík. Hydrolytické a acidogenní mikroorganismy svou činností vytvářejí bezkyslíkaté prostředí, kde se mohou vytvářet metanogeny. K nejvýznamnějším rodům patří rody *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Sporobacterium* a další (Deublein & Steinhauser 2008).

Acetogeneze

Bývá také někdy označovaná jako mezifáze. V další fázi rozkladu transformují specializované kmeny homoacetogenních bakterií vzniklé mastné organické kyseliny (především kyselinu propionovou, máselnou, isomáselnou, valerovou, isovalerovou a kapronovou), kyselinu mléčnou a alkoholy na kyselinu octovou, vodík a oxid uhličitý. Mezi nejvýznamnější rody patří zástupce acetogenních mikroorganismů *Desulfovibrio*, *Acidaminococcus*, *Aminobacterium* (Evans et al. 2011).

Metanogeneze

Působením metanogenních mikroorganismů vzniká ve čtvrté fázi metan. Metanogenní mikroorganismy patří k druhu archaických bakterií a náleží k nejstarším projevům života na Zemi. Mají specifické nároky na životní podmínky, jsou striktně anaerobní a stávají se často limitujícím faktorem celého procesu. Dle specifiky substrátu je možné mikroorganismy rozdělit na dvě skupiny, acetotrofní a hydrogenotrofní. Metanogenní acetotrofní bakterie vytváří metan ze vzniklých jednoduhlíkatých látek, např. z kyseliny mravenčí a octové, z methanolu či methylaminů. Mezi metanogeny patří kultury rodu *Methanococcus*, *Methanosarcina*, *Methanobacterium* (Deublein & Steinhauser 2008). Druhá skupina, metanogenní hydrogenotrofní bakterie, produkuje metan z dříve vzniklého oxidu uhličitého a vodíku.

Metanogeneze probíhá zhruba 5krát pomaleji než fáze předcházející, je tedy nutné přizpůsobit dávkování surového materiálu a konstrukci bioplynových, technologických systémů, jinak hrozí přetížení fermentoru (Straka et al. 2006; Kára 2007; Deublein & Steinhauser 2008).

Organismy provádějící anaerobní fermentaci jsou velmi citlivé na přítomnost kyslíku, sebemenší koncentrace na ně působí jako prudký jed. Pokud je v prostředí kyslík přítomen, k přeměně organických látek nedochází (Murtinger & Beranovský 2008).

Anaerobní fermentace se dělí na suchou a mokrou. V mokré anaerobní fermentaci se zpracovává tekutá biomasa, která má obsah sušiny od 8 - 12 %. Je nutné biomasu míchat, aby nedošlo k sedimentaci. Tento proces je nejpopulárnější. Obsah sušiny v suché anaerobní fermentaci se pohybuje kolem 30 - 35 %, jde o sypký materiál. Nedochází k míchání biomasy a tento proces se příliš nevyužívá (Škorvan 2012).

V případě, že všechny čtyři výše zmíněné fáze probíhají v jednom reaktoru, jedná se o jednostupňový systém, ve kterém se musí nalézt kompromis podmínek tak, aby vyhovoval požadavkům všem typům mikroorganismů (Evans et al. 2011).

3.3.1 Produkty anaerobní fermentace

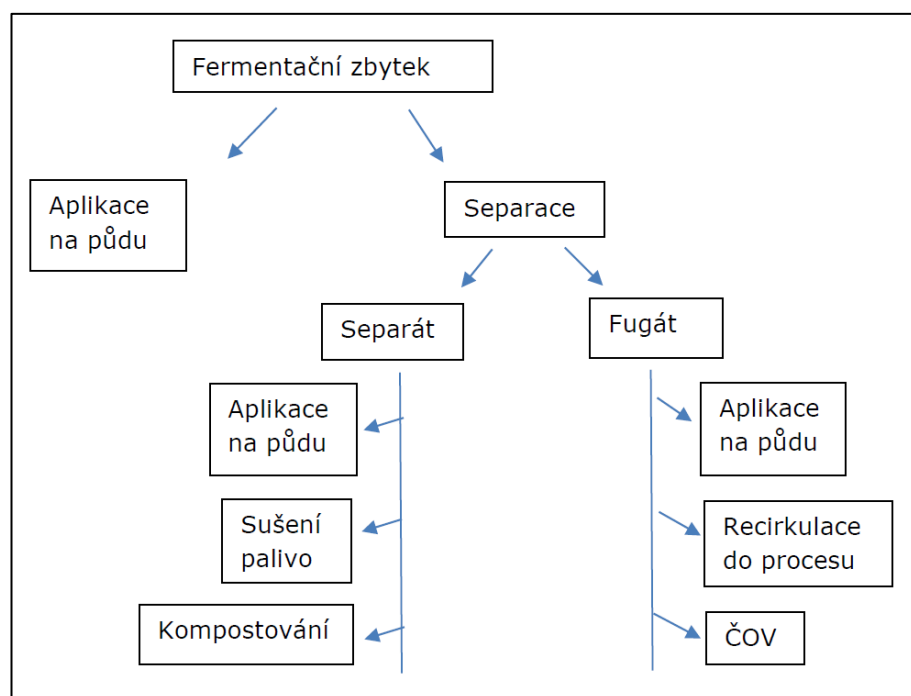
Produkty jsou fermentační zbytek a bioplyn. Fermentační zbytek je zbytek po fermentačním procesu, který vzniká v bioplynových stanicích po anaerobní fermentaci a blíže popsán bude v kapitole 3.4.

Bioplyn je směs plynů, největší podíl tvoří majoritní plyny 50 - 75 % hořlavý metan a 25 - 45 % CO₂. Dalšími komponenty jsou minoritní plyny jako např. dusík, amoniak, sirovodík, vodní pára a případně ve velmi nízkých koncentracích kyslík, jehož přítomnost obvykle značí poruchu vzduchotěsnosti zařízení (Quaschnig 2008). Díky vysokému obsahu metanu je bioplyn s výhřevností 16 - 27 MJ/m³ řazen mezi ušlechtilé zdroje energie (Brandejsová & Přibyla 2009).

3.4 Fermentační zbytek

Jedná se o sekundární produkt anaerobní fermentace. Další název tohoto produktu je například digestát. Lze ho popsat jako organický stabilní materiál obsahující lignin, celulózu a řadu minerálních látek. Fermentační zbytek se dále různými separačními technikami dělí na tuhou frakci (separát) a tekutou frakci (fugát) (Vítěz et al. 2013).

Nutriční obsah a kvalita fermentačního zbytku jsou ovlivněny několika faktory, jsou jimi: chemické složení vstupních materiálů a jejich případná předúprava, procesní podmínky (obsah sušiny, provozní teplota ve fermentoru, doba zdržení apod.), doba a způsob skladování. Fermentační zbytek vykazuje vyšší pH (7 až 9) a vysokou koncentraci dusíku, ze kterého 60 - 80 % představuje dusík amoniakální. Kvalitní fermentační zbytek se vyznačuje tím, že obsahuje hodnotné minerální a organické látky, zápach je minimální, popřípadě žádný (Marada et al. 2008). Při aplikaci fermentačního zbytku na půdu se zhruba 15 % přítomného dusíku uvolní ve formě amoniaku do atmosféry v závislosti na způsobu aplikace, environmentálních podmínkách a podmínkách skladování daného stanoviště (Chiumenti et al. 2013). Možné způsoby nakládání s fermentačním zbytkem jsou zobrazeny v obr. 2.



Obr. 2 Způsob nakládání s fermentačním zbytkem (Marada et al. 2008)

Jak bude v následující kapitole uvedeno, fermentační zbytek lze použít jako hnojivo. Ovšem lze jej využít i jinak, například při výrobě biopesticidů, kde se využívá pro *Bacillus thuringiensis* jako kultivační médium (Lukehurst et al. 2010). Mnohem kuriózněji využívají

fermentační zbytek například v Číně, kde jej používají jako krmný přídatek k výživě kuřat, prasat a krevet, toto použití je však přísně limitováno veřejným míněním a legislativou (Al Seadi et al. 2013).

3.4.1 Využití a skladování

V případě splnění legislativních podmínek lze fermentační zbytek aplikovat na pozemky jako organické hnojivo (Havlíčková 2008). Duffková & Mühlbachová (2016) uvádí, že fermentační zbytek má mít minimální podíl sušiny 3 - 13 % a 0,3 % celkového dusíku ve vzorku. Takový fermentační zbytek je považován za typové organické hnojivo vyrobené anaerobní fermentací. Maximální aplikační dávka organických hnojiv se sušinou nad 13 % je 20 tun sušiny.ha⁻¹ v průběhu 3 let. Nejvyšší aplikační dávka organických hnojiv se sušinou do 13 % je 10 tun sušiny.ha⁻¹ v průběhu 3 let. Průměrné obsahy živin ve fermentačním zbytku a v jeho složkách separace, které jsou zobrazeny v tabulce 1.

Tabulka 1 Průměrné obsahy živin ve vlhké hmotě (Duffková & Mühlbachová 2016)

	Fermentační zbytek	Fugát	Separát
Obsah sušiny	5,8%	3,9%	23%
Obsah N	0,53%	0,51%	0,68%
P ₂ O ₅	0,16%	0,14%	0,30%
K ₂ O	0,35%	0,34%	0,45%

V případě, že by fermentační zbytek obsahoval nadlimitní obsah rizikových prvků (tabulka 2), musel by se likvidovat jako odpad podle zákona o odpadech (Marada et al. 2008).

Tabulka 2 Hodnoty rizikových prvků ve fermentačním zbytku (Marada et al. 2008)

Rizikové prvky	Hodnota mg/kg vysušeného vzorku
Rtuť Hg	max. 1,0
Kadmium Cd	max. 2,0
Olovo Pb	max. 100,0
Chrom Cr	max. 100,0
Měď Cu	max. 100,0
Zinek Zn	max. 300,0
Nikl Ni	max. 50,0
Molybden Mo	max. 5,0
Arsen As	max. 10,0

Skladování, přeprava a aplikace fermentačního zbytku jako hnojiva má za následek značné náklady pro zemědělce ve srovnání s jeho hodnotou – velký objem při nízkém obsahu sušiny. Doprava do míst vzdálenějších než 20 km je velice ekonomicky náročná pro BPS. Náklady se dále zvyšují i s investicemi do skladovacích kapacit. Ideální je vybudovat BPS s dostatečně velkou kapacitou pro uskladnění vzniklého fermentačního prvku v rámci areálu. Další možností je odvoz na místo, kde má být uskladněn, dle požadavků v rámci lokace (Al Seadi et al. 2013).

BPS produkují fermentační zbytek po celý rok, to vede k nutnosti ho uskladnit, než nastane vegetační období vhodné pro hnojení. Mimo vegetační období platí omezení pro použití fermentačního zbytku na půdu, z tohoto důvodu je nutné vyřešit otázku se skladováním. Fermentační zbytek je nutno skladovat v nepropustných nadzemních, popřípadě částečně zapuštěných nádržích, nebo v zemních jámkách. Při provozu těchto jímek a nádrží se musí zamezit přítoku srážkových a povrchových vod do jímek či nádrží, pokud kolaudační zpráva neuvede jinak. Součástí těchto staveb musí být sběrná jámka tekutého podílu (Švec et al. 2010).

Pokud se fermentační zbytek skladuje v otevřených nádržích, metan a amoniak mají tendenci unikat jako emise do ovzduší. Čím větší hodnotu pH má, tím více emisí NH_3 se uvolňuje do ovzduší. Tomuto procesu lze zabránit, pokud se použije vzduchotěsná ochranná vrstva, kterou se zakryje skladovací nádrž. Toto zakrytí je jak ekonomické, tak i ekologické řešení z hlediska zachování živin (Švec et al. 2010).

Na obr. 3 a obr. 4 je uvedeno zapracování do půdy. Je doporučena aplikace hadicovými aplikátory, které zamezují ztrátám dusíku. Zapracování do půdy je důležitý krok, jelikož zabraňuje úniku amoniaku do ovzduší. Evidence hnojení je vyžadovaná od roku 1998, kdy vznikl zákon o hnojivech (Švec et al. 2010).



Obr. 3 Zapracování aplikovaného fermentačního zbytku (Kasal et al. 2016)



Obr. 4 Zapravení fermentačního zbytku do půdy (Marada et al. 2008)

Fermentační zbytek není možné aplikovat na předvlhčenou, promrzlou nebo zasněženou půdu, nelze jej aplikovat mimo vegetační období, proto je nutné jej skladovat. Musí se aplikovat rovnoměrně po pozemku a je nutné zapracovat jej do půdy a zamezit úniku amoniaku. Na pozemcích se sklonem k vodnímu toku musí být zachován ochranný pás, kde fermentační zbytek aplikován nebude. Jelikož je fermentační zbytek definován jako závadná látka, je nutné přijmout opatření proti jeho vniknutí do povrchových nebo podzemních vod (Nedělník et al. 2016).

3.4.2 Použití fermentačního zbytku jako hnojiva

Jsou různé pohledy na to, zda je možné použít fermentační zbytek jako hnojivo. Za organické hnojivo je považován, pokud je vyroben pouze z objemných krmiv a ze statkových hnojiv anaerobní fermentací při výrobě bioplynu. Z hlediska svého působení na půdu a v půdě je spíše považován za kombinované minerální hnojivo s převažujícími živinami draslíkem a dusíkem. Po chemické stránce je jasně prokázáno, že fermentační zbytek nemůže do skupiny

organických hnojiv patřit, jelikož nespĺňuje základní vlastnosti organického materiálu (Pancíková 2019).

Kolář et al. (2008) uvádí, že fermentační zbytek jako odpad z procesů anaerobní fermentace je spíše minerálního než organického původu. Při jeho využití jako organického hnojiva je kvalita nižší. Není možné říci, že anaerobní fermentace vede ke zlepšení vlastností organického materiálu. Za hnojivo se spíše považuje kapalná složka (fugát) než pevná složka (separát). Využití tohoto materiálu je velice komplikované z ekonomického hlediska na současné náklady za pohonné hmoty a náklady na dopravu.

3.4.3 Separace fermentačního zbytku

Vzhledem k vlastnostem fermentačního zbytku je účelnější před aplikací na půdu provést separaci (odvodnění). Tím, že se fermentační zbytek odvodní, se získají dva různé produkty, které se dají dále efektivně využít. Jsou jimi fugát (kapalná část) a separát (pevná část). Tyto dva vzniklé produkty musí být skladovány odděleně. Výsledné produkty se liší především obsahem sušiny (Fuchs & Drosig 2011). Hlavními důvody pro separaci je snížení nákladů za skladování a dopravu a také zvýšení nutriční hodnoty hnojiva (Míchal et al. 2017).

Úpravu fermentačního zbytku lze provádět dvěma postupy. Jednou z možností je kompletní zpracování, jedná se o snížení objemu a zkoncentrování živin. Druhou možností je metoda částečného zpracování – zde se sníží objem. Pro úpravu se nejčastěji používá částečné zpracování, tedy mechanické metody úpravy, při kterých vznikají již zmíněné dva produkty (Møller et al. 2000). Zařízení používaná při separaci fermentačního zbytku jsou mechanické separátory, tedy šnekové separátory (obr. 5), sítopásové lisy, dekantální odstředivky (obr. 6) a diskontinuální odstředivky (Møller et al. 2000).



Obr. 5 Šnekový separátor <<https://www.cerpadla-michadla.cz>>



Obr. 6 Dekantační odstředivka <<http://hgf10.vsb.cz/546/ZpracovaniKalu/postupy.html>>

Pokud je požadováno důkladnější zpracování po mechanické separaci, lze využít chemické metody. Tyto metody se využívají hlavně pro zvýšení účinnosti mechanických separačních zařízení a rozdělení živin, tedy například převedení fosforu do separátu (Szücs et al. 2006). Mezi tyto metody patří srážení - flotace, flokulace a vibrační plošiny. Požadavky pro zdokonalení eliminace pevných látek závisí na konceptu zpracování fermentačního zbytku. Tato eliminace pevných látek je nezbytná, jestliže je fugát dále podroben membránovým procesům (Meixner et al. 2015).

3.5 Separát

Jedná se o tuhou nerozloženou frakci organických látek vláknité povahy, která vzniká při separování fermentačního zbytku (obr. 7). Jelikož obsahuje tuhou frakci organických látek, je rozklad v půdě obtížný (Dubský & Kaplan 2012).



Obr. 7 Separát <<https://biom.cz/cz/obrazek/odvodneny-digestat-z-kejdy-drubeze>>

Liedl et al. (2006) uvádějí, že obsah celkové sušiny separátu se pohybuje přibližně mezi 20 - 30 %. Hodnota pH se pohybuje v rozmezí 7 až 9. Z pokusů Dubský & Kaplan (2012) lze uvést, že hnojení separátem je výhodné z důvodů zvyšujícího se podílu fosforu v půdě. Bylo zjištěno, že fosfáty po separaci fermentačního zbytku zůstávají právě převážně v separátu. Separát má řadu využití, lze jej využít jako pěstební substrát, podestýlku pro hospodářská zvířata, pro produkci hub, může být také kompostován na kvalitní statkové hnojivo (Ditl et al. 2017).

Hlavatá (2004) uvádí, že je možné ho dosušovat a lisovat do podoby např. briket nebo pelet, a tím se tak dá využít jako biopalivo. Separát lze vysušit různými způsoby, lze například využít přebytečné teplo z BPS, nebo pomocí slunečního záření. Dubský & Kaplan (2012) uvádí, že surový separát obsahuje velké procento amonného dusíku, ale po vysušení při 60 °C se jeho obsah redukuje.

Separát může být aplikován na zemědělskou půdu jako hnojivo, je však nezbytné jej zapravit do půdy do 48 hodin (Havlíčková 2008). Před jeho použitím jej lze uložit na zemědělskou půdu, nejdéle však po dobu 24 měsíců. Kapacita prostorů pro skladování musí odpovídat skutečné produkci fermentačního zbytku (Marada et al. 2008).

3.6 Fugát

Jedná se o tmavě šedou až černou tekutou frakci (obr. 8), která obsahuje produkty anaerobního rozkladu organických látek. Fugát je charakteristický relativně nízkým obsahem sušiny, která se pohybuje v rozmezí od 2 - 4 %, hodnota pH je mírně zásaditá a pohybuje se v rozmezí 7,5 - 8,5 (Míchal et al. 2017). Hlavatá (2004) zmiňuje, že se zde nachází vysoká koncentrace živin, a to především amoniakální dusík (N-amon), který má dvě disociační formy, a to nedisociovaný amoniak NH_3 a amonný kationt NH_4^+ . Poměr těchto forem je daný fyzikálně - chemickými podmínkami, nejpodstatnější z nich jsou pH a teplota. S rostoucí hodnotou pH a s rostoucí teplotou se zvyšuje zastoupení těkavého NH_3 (Míchal et al. 2017). Jelikož se při vysokých koncentracích uvolňuje do okolí, musí se jeho obsah eliminovat z důvodů vysoké toxicity. Li et al. (2016) uvádí, že fugát obsahuje mimo jiné rostlinné hormony (například kyselinu abscisovou, indolactovou a gibberelovou), které mají příznivý vliv na řadu fyziologických procesů.



Obr. 8 Fugát <<https://biom.cz/cz/obrazek/tekuty-digestat-fugat>>

3.6.1 Využití fugátu

Při aplikaci na zemědělskou půdu se fugát hodnotí jako hnojivo s rychle uvolňujícím se dusíkem. Jeho aplikace je zakázána v období od 15. 11. do 15. 2. pro klimatický region 0 - 5 (tzn. region velmi teplý, teplý až po mírně teplý - mírně vlhký region), respektive od 5. 11. do 28. 2. pro klimatický region 6 - 9 (mírně teplý - vlhký až po chladný region) (Míchal et al. 2018). V tabulce 3 jsou uvedena období zákazu používání dusíkatých hnojivých látek na orné půdě a trvale travnatých porostech (TTP).

Tabulka 3 Období zákazu používání dusíkatých hnojivých látek na orné půdě a TTP

Klimatický region	Hnojiva s rychle uvolnitelným dusíkem
0 - 5	15.11. - 31. 1. (pro ozimé plodiny)
	15.11. - 15. 2. (pro ostatní plodiny a kultury)
6 - 9	5.11. - 15.2 (pro ozimé plodiny)
	5.11. - 28.2 (pro ostatní plodiny a kultury)

Fugát je aplikován jako hnojivo na zemědělskou půdu. K hnojícím účelům by měl být využíván pouze fugát, který prošel optimálním technologickým postupem a správným procesem anaerobní fermentace (Schievano et al. 2009). Dle vyhlášky č. 377/2013 Sb., o skladování a způsobu používání hnojiv lze aplikovat fugát pouze na pozemky, na kterých nebyla provedena meliorace. Také je zakázána aplikace fugátu na půdu přesycenou vodou, půdu pokrytou vrstvou sněhu vyšší než 5 cm nebo promrzlou do hloubky více než 8 cm. Aplikace fugátu na zemědělskou půdu je zobrazena na obr. 9. Chen et al. (2001) uvádí, že se používají hadicové aplikátory z důvodu minimalizace ztrát dusíkatých látek. Při aplikaci fugátu na zemědělskou půdu je nezbytné jej zapravit do 24 hodin do půdy s výjimkou řádkového přihnojování porostu hadicovými aplikátory (Havlíčková 2008; Švec et al. 2010).



Obr. 9 Aplikací cisterna <<https://www.crs-marketing.cz/fotogalerie/?strana=7#group-28>>

Jestliže fugát obsahuje zvýšené množství rizikových látek, není možné jej využít jako hnojivo pro zemědělskou půdu ani jako surovinu pro jeho další výrobu. Proto s ním pak musí být zacházeno jako s odpadem (Došek et al. 2015).

V provozu BPS lze fugát i částečně recyklovat za účelem ředění čerstvých surovin, nebo ho vypouštět do čistíren odpadních vod, nikoliv však do vodních toků. Pokud by se fugát v BPS použil, je potřeba dbát na to, aby se ve fermentačním procesu nezakonzentrovaly soli nebo amoniak, tyto látky by velice tento proces ohrozily (Dostál & Richter 2008).

3.6.2 Skladování fugátu

Přesto, že fugát je charakteristický velkým množstvím živin, obsahuje také velký objem balastní vody. Toto vede k tomu, že se zvyšují nároky na objem uskladňovacích nádrží. Problém dlouhodobého uskladňování fugátu je zásadní především v období zákazu hnojení. Dle vyhlášky č. 377/2013 Sb., o skladování a způsobu používání hnojiv, jej lze skladovat v zemních jámkách nebo v uskladňovacích nádržích částečně zapuštěných, či nepropustných nad zemí. Je zapotřebí zamezit přítoku srážkových a povrchových vod.

Dalším problémem při skladování fugátu je to, že těkavý NH_3 uniká do ovzduší. To je velice nežádoucí vliv z ekonomického hlediska (Renard et al. 2004), kdy ztráty mohou činit až 30 % z celkového množství dusíku původně obsaženého ve fugátu. Únik NH_3 je problematický i z hlediska environmentálního, jelikož tím přispívá ke kontaminaci ovzduší (Hlušek 2004).

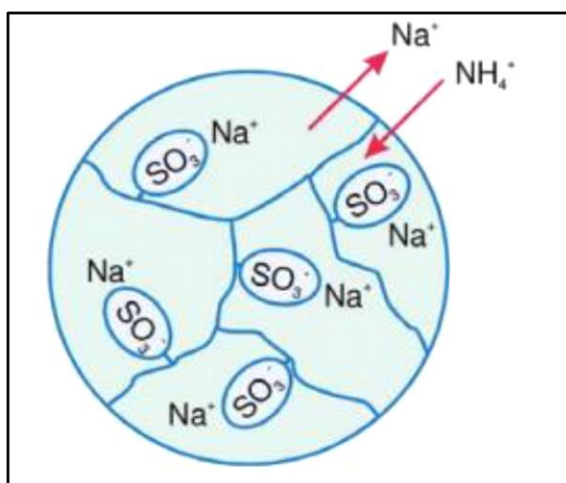
3.7 Metody pro zpracování a úpravu fugátu za účelem racionalizace využití živin

Optimalizovat využití živin obsažených ve fugátu je možné různými postupy, které jsou založeny na zakoncentrování živin nebo jejich získání v relativně čisté podobě (Tampio et al. 2016). Známé jsou fyzikálně - chemické metody, které vedou k získání amonného dusíku, popřípadě k současnému získávání amonného dusíku a fosforu - například srážení struvitu, stripování amoniaku, membránová separace a iontová výměna. Tyto metody jsou provozně nákladné a to z důvodů přidavku různých chemických činidel (Chudoba et al. 1991). Biologickou metodou je převedení živin obsažených ve fugátu do biomasy řas a vyšších rostlin. (Prajapati et al. 2014). Uvedené metody zpracování fugátu jsou více či méně selektivní, tedy s jejich pomocí je možné získávat pouze jednu (např. stripování amoniaku), dvě (dusík a fosfor při srážení struvitu) nebo několik (inkorporací do biomasy řas) živin (Míchal et al. 2017). Ostatní cenné látky obsažené v surovém fugátu není možné zpravidla využít. Výše uvedené postupy jsou navíc spojené s vyšší produkcí odpadního materiálu, tedy vody zbavené vybraných živin. Čištění takové vody je velice komplikované, jelikož fugát obsahuje pestrou škálu chemických látek. Zásadním problémem z hlediska biologického čištění takového proudu

odpadní vody je vysoký obsah těžko biologicky rozložitelných organických látek charakteristickým pro materiál, který již prošel anaerobním biologickým rozkladem v biologickém reaktoru bioplynové stanice (Míchal et al. 2017). V následující kapitole budou vybrané metody samostatně popsány.

3.7.1 Iontová výměna

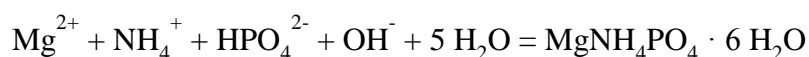
Al Seadi et al. (2013) uvádějí, že se tato metoda v praxi využívá pouze okrajově, protože zpracovaný fugát musí být nejprve zbaven všech pevných částic. To však není možné, proto této metodě musí předcházet reverzní osmóza s čistícími membránami. Pryskyřice je využívaným materiálem v iontoměničích, které mají nabité postranní řetězce. Například Na^+ nabité ionty, které jsou vázány na vedlejší řetězce pryskyřice, je možné nahradit jinými stejně nabitými ionty. V případě fugátu se nahrazují ionty NH_4^+ , tím se v něm sníží jejich koncentrace. Na obr. 10 je znázorněn princip iontové výměny. Po nějaké době je zapotřebí pryskyřice vyměnit a tím se může spustit nový cyklus (Drosg et al. 2015).



Obr. 10 Princip iontové výměny (Drosg et al. 2015)

3.7.2 Srážení struvitu

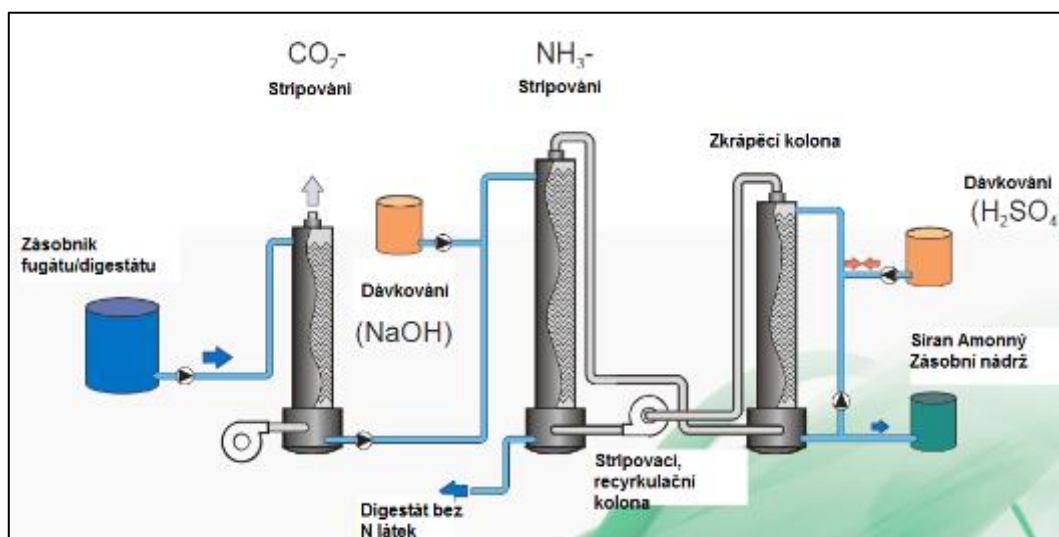
Principem této metody je to, že se v určitém poměru k předupravenému fugátu přidá oxid hořečnatý a kyselina fosforečná. Výsledkem metody je struvit jako sediment. Drosg et al. (2015) uvádějí rovnici reakce:



Struvit, neboli fosforečnan hořečnato-amonný ($\text{NH}_4\text{MgPO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) je krystal, jehož sražení je vhodným řešením pro recyklaci dusíku ve formě NH_4^+ a fosforu ve formě PO_4^{3-} z fugátu produkovaného v rámci BPS. Z této metody srážení lze získat anorganické hnojivo (Romero-Güiza et al. 2016).

3.7.3 Stripování amoniaku

Tento proces (obr. 11) je jednou z možností nakládání s fugátem. V první fázi procesu je nejdříve fugát stripován pomocí CO_2 , tímto se zamezí inkrustaci. V dalším kroku je zapotřebí zvýšit hodnotu pH do zásadité oblasti, nejčastěji se využívá NaOH. Tímto podstatná část amoniaku přejde do plynné fáze. Uvolněný amoniak se zachytává v absorpční koloně. Zde se za přidání H_2SO_4 hodnota pH změní (sníží se) a NH_3 , který je obsažen v plynu, se rozpustí v kapalině a stává se z něj NH_4^+ ve skrápěcí koloně. Tímto vzniká síran amonný, který lze využívat jako tekuté hnojivo (Havlíčková 2008). Výhodou této metody je snadná proveditelnost, ovšem náklady jsou vysoké. Účinnost metody ovlivňují druhy stripovacích věží, hodnota pH, která musí být vyšší než 9,5, a teplota. Ta je důležitá, protože se zvyšující teplotou klesá hodnota pH (Guštin & Marinšek-Logar 2011).



Obr. 11 Schéma stripovací kolony (Došek et al. 2015)

3.7.4 Membránové technologie

Toto označení je obecné, spadá pod něj mnoho různých, specifických procesů separace, jejichž principem je fyzikální separace. Principem membránových technologií jsou transporty vybraných látek přes membránu, kterou lze označit jako bariéru mezi dvěma prostředími.

Membrána se chová jako filtr, zachycuje nečistoty a rozpustné látky. Proud, do kterého látky přejdou přes membránu, se nazývají permeát. Ty, které se zadrží, se nazývají retentát (Chiumenti et al. 2010). K hlavním výhodám této technologie patří zkoncentrování živin a snížení objemu hnojiva, které je aplikováno na pole. Mezi nevýhody patří značné náklady na provoz a regeneraci membrán. Pokud se nedodrží technologické postupy, může permeát obsahovat vysoký obsah amoniakálního dusíku. Podobně jako u fermentačního zbytku zde hrozí velká ztráta dusíku přechodem do plynného skupenství. Přestože má toto řešení perspektivu, jsou tyto metody z ekonomického hlediska velice nevýhodné (Chiumenti et al. 2010).

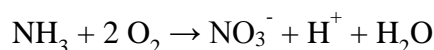
3.7.5 Využití řas

Řasy jsou mikroskopické autotrofní organismy využívající anorganické živiny (fosfor, oxid uhličitý, dusík) a světelné záření. Z nich syntetizují biomasu, která je hodnotná na proteiny, tuky, sacharidy a pigmenty. Tyto sloučeniny lze pomocí extrakce využít ke krmným účelům, v zemědělství a v sektoru bioenergetiky. Výhoda použití řas je taková, že nezabírají zemědělskou půdu a mají kratší životní cyklus v porovnání s rostlinami (Xia & Murphy 2016).

Wang et al. (2014) ve svém experimentu uvádí dva typy řas, jsou to mixotrofní a fotoautotrofní. Mixotrofní prokazovaly nejlepší podmínky pro aplikaci na fugát, protože nejsou závislé na světelných podmínkách. Na biomasu je jako první přeměněná amonná forma dusíku, což je pro řasy nejdůležitější. I přesto, že řasy představují atraktivní využití, prozatím nebylo provedeno dostatečné množství studií zabývajících se působením fermentačního zbytku na růst řas. Fugát je často charakterizován nadměrným zákalem a příliš vysokým obsahem dusíku. Pokud obsahuje příliš vysoké koncentrace sloučenin dusíku, mohou být překročeny inhibiční limity pro život řas. Tyto inhibiční hodnoty se liší a závisí na kultivačních podmínkách a druhu řas (Levine et al. 2011). Drosig et al. (2015) uvádějí, že řasy rodu *Chlorella* a *Scenedesmus* se jeví pro aplikaci jako nejvhodnější.

3.7.6 Nitrifikace

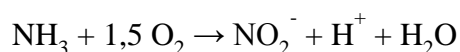
Tato biologická metoda je možností, jak zachovat živiny ve fugátu. Amoniakální dusík je zapotřebí převést na dusičnany z toho důvodu, že amoniak má tendenci těkat do ovzduší. Tím je fugát ochuzován o tuto živinu a zároveň únikem amoniaku do ovzduší dochází k jeho znečištění. Úprava v tomto procesu představuje využití procesu nitrifikace (viz rovnice č. 1).



Rovnice č. 1

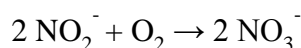
Jedná se o aerobní proces, kde dochází k přeměně amoniakálního dusíku na dusičnanový dusík (NO_3^-). Tato forma je stabilnější v půdě a je vysoce pohyblivým zdrojem dusíku pro rostliny (Botheju et al. 2010). V tomto procesu nedochází k odstranění dusíku, jedná se pouze o přeměnu na netoxickou formu. Proces nitrifikace probíhá ve dvou krocích, jedná se o nitritaci a nitrataci (Chudoba et al. 1991). Nitrifikace funguje především díky chemolitotrofním organismům, tzv. nitrifikačním bakteriím. Tyto bakterie využívají jako zdroj uhlíku oxid uhličitý. Energií získávají oxidací amoniakálního dusíku. Tímto procesem získávají málo energie, a proto mají malé množství biomasy (Pitter 2015).

Nitritace (rovnice č. 2) probíhá za pomoci organismů AOB (Ammonia-oxidizing bacteria) rodů *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosocystis*. V tomto procesu dochází k oxidaci amonného dusíku na dusitany (Lukehurst et al. 2010).



Rovnice č. 2

Nitratace (rovnice č. 3) probíhá za pomoci organismů NOB (Nitrite-oxidizing bacteria) rodů *Nitrobacter*, *Nitrocystis*, *Nitrospira* a *Nitrococcus*. V tomto procesu dochází k oxidaci dusitanů na dusičnany (Gerardi 2002).



Rovnice č. 3

Obě skupiny bakterií jsou charakterizovány jako chemotrofní gramnegativní bakterie, které jsou striktně aerobní. Pro úspěšný proběh nitrifikace je nezbytná přítomnost kyslíku, který bakterie využívají jako akceptor elektronů při oxidaci amoniakálního a dusitanového dusíku (Chudoba et al. 1991).

V průběhu zpracování fugátu nitrifikací je zapotřebí se vyvarovat kumulaci dusitanů, kterou může způsobit mnoho faktorů, viz kapitola níže 3.7.6.1. (Švehla et al. 2010).

3.7.6.1 Faktory ovlivňující nitrifikaci

Teplota

Teplota patří mezi podstatný vliv, jelikož nitrifikační bakterie jsou velmi citlivé na změnu teplot (Švehla et al. 2010). Chudoba et al. (1991) uvádějí, že ideální teplota nitrifikačních organismů je v rozmezí 28 - 32 °C. Pokud by se teplota snížila o 10 °C, tak by se rychlost nitrifikace snížila zhruba o polovinu. Výkonnost nitrifikačního reaktoru se snižuje s klesající teplotou. Bakterie mají pro funkci odlišné nároky. NOB bakterie rostou rychleji při teplotách nižších než 20 °C, naopak je tomu u AOB (Hao et al. 2002).

Koncentrace rozpuštěného kyslíku

Jelikož je nitrifikace založena na aerobním procesu, je koncentrace rozpuštěného kyslíku jedním z klíčových faktorů, který jej ovlivňuje. Chudoba et al. (1991) doporučují udržení koncentrace O₂ na hodnotě 2 mg/l. Za tohoto předpokladu dochází k optimálním procesním podmínkám. Autoři dále uvádějí, že při koncentraci 3 mg/l nastává maximální nitrifikace. S tímto tvrzením je v souladu i Gerardi (2002). Autoři Bae et al. (2002) tvrdí, že úplná nitrifikace může proběhnout i při koncentraci rozpuštěného kyslíku 1,5 mg/l. Pokud však koncentrace klesne pod 0,5 mg/l, proces nitrifikace nenastane, protože bez rozpuštěného kyslíku přežijí bakterie jen krátkou dobu (Gerardi 2002). Podle Švehly et al. (2007) dochází k zastavení činnosti NOB bakterií a k následné akumulaci dusitanů, pokud je koncentrace rozpuštěného kyslíku menší než 1,07 mg/l. Pokud se koncentrace zvyšuje, zvyšuje se tak i rychlost procesu.

Koncentrace anorganických forem dusíku

Koncentrace jednotlivých forem anorganického dusíku jsou důležité při čištění odpadních vod, které jsou znečištěné jeho vysokým obsahem. Jedná se především o formy dusitanového a amoniakálního dusíku, které snižují aktivitu nitrifikačních bakterií. Nedisociované formy, které způsobují toxický účinek, jsou například volný NH₃ (FA - Free Ammonia) a volná HNO₂ (FNA - Free Nitrous Acid). Autoři Anthonisen et al. (1976) publikovali, že inhibice AOB bakterií nastává při koncentraci FA 10 - 150 mg/l. Inhibice NOB bakterií pak nastává při koncentraci FA 0,1 - 1,0 mg/l. Kim et al. (2006) ve své práci uvádějí, že při koncentraci FA 0,7 mg/l NOB mohou snížit svoji aktivitu až o 50 %. Koncentrace FNA způsobuje inhibici NOB v intervalu 0,2 - 2,8 mg/l (Anthonisen et al. 1976). Nižší hodnotu uvádějí Zhang et al. (2010), a to konkrétně 0,01 - 0,07 mg/l. Tito autoři dále publikovali, že

FNA při koncentraci 0,42 - 1,72 snižuje aktivitu AOB o 50 %, přičemž k podobnému závěru dospěli i Vadivelu et al. (2006). Výše uvedená tvrzení o inhibičních koncentracích do jisté míry rozporují autoři Švehla et al. (2010), kteří ve svém výzkumu poukazují na schopnost nitratačních bakterií se adaptovat na prostředí a na hodnoty FA a FNA uváděné v odborné literatuře (Anthonisen et al. 1976) jako inhibiční. Schopnost NOB bakterií přizpůsobit se vyšším koncentracím FA a FNA také uvádějí Villaverde et al. (2000). Ti došli k závěru, že NOB se mohou adaptovat dokonce až na koncentraci FA 22 mg/l. Na adaptabilitu nitrifikačních bakterií vůči vyšším koncentracím FA poukazují i Ruiz et al. (2003). Pokud je koncentrace FA a FNA vyšší, lépe to snáší AOB bakterie. Nitratační bakterie jsou vůči nedisociovaným formám dusíku obecně mnohem citlivější než nitratační a to může vést k větší kumulaci dusitanů (Bagchi et al. 2010). Švehla et al. (2010) uvádějí, že hodnota pH a teplota mají velký vliv na výskyt FNA a FA.

Hodnota pH

Hodnota pH ovlivňuje především bakterie NOB a AOB, které mají rozdílné požadavky na pH. Chudoba et al. (1991) uvádí, že NOB bakterie rodu *Nitrobacter* mají optimální podmínky při pH 7,2 - 7,6. AOB bakterie rodu *Nitrosomonas* mají optimální podmínky při pH 7,9 - 8,2. Pokud se pH sníží na 6 - 6,5, může dojít k zastavení nitrifikace (Pitter 2015).

Doba zdržení kalu

Dalším faktorem ovlivňující nitrifikaci je doba, po kterou se kal zdrží v reaktoru. K procesu nitrifikace nemůže dojít, pokud je zdržení kalu nižší, než je doba, kdy dojde k vyplavení AOB a NOB bakterií ze systému. Regulací stáří kalu se dá vyvolat cílené hromadění dusitanů, lze tím eliminovat vznik dusičnanů při procesu nitrifikace (Chudoba et al. 1991).

Objemové zatížení N-amon

Účinnost procesu nitrifikace je omezena zatížením reaktoru N-amon dusíkem. Vysokým zatížením reaktoru může dojít ke kumulaci dusitanů v průběhu nitrifikace. Hromadění dusitanů je také spojeno s nízkou činností NOB bakterií. To zapříčiňuje hromadění meziproductů nitrifikace, zejména hydroxylaminu (Chudoba et al. 1991), jelikož jejich tvorba je při vysokém zatížení systému dusíkem intenzivnější. K hromadění hydroxylaminu dochází zejména při zvýšených hodnotách pH a omezené koncentraci rozpuštěného kyslíku (Švehla et al. 2010).

3.7.7 Nitrifikace + tepelné zahušťování

Z výše uvedených informací vyplývá, že celá řada technologických postupů pro úpravu fugátu má své specifické nedostatky a nevýhody. Ve většině případů jsou selektovány a využívány pouze základní živiny. Jedná se jen o dusík, nebo při srážení struvitu o dusík a fosfor. Velké množství živin stále zůstává nevyužito v produkované odpadní vodě. Za perspektivní metodu předúpravy fugátu před jeho aplikací na zemědělskou půdu se jeví kombinace biologického procesu nitrifikace N-amon a následného fyzikálně-chemického procesu v podobě tepelného zahušťování (Míchal et al. 2017).

Prvním krokem je proces nitrifikace, který je uveden v kapitole výše 3.7.6. Při výskytu vysoké koncentrace N-amon a nízké neutralizační kapacity může při nitrifikaci probíhající v prostředí fugátu docházet ke změně pH z cca 8 na cca 6. Jelikož jsou nitrifikační mikroorganismy velice citlivé na nízké hodnoty pH, vede to k eliminaci jejich činnosti a proces se zastaví (Jeníček et al. 2004). Koncentrace N-NO₃⁻ a N-amon je nejčastěji v poměru 50/50. Vzniká zředěný roztok NH₄NO₃. Působením acidifikace se v prostředí snižuje koncentrace těkavého NH₃ (Anthonisen et al. 1976). N-amon se stabilizuje, a tím se fugát může dlouhodobě uskladňovat, než se aplikuje na půdu. Nedochozí tak ke ztrátám dusíku a ke znečištění životního prostředí (Míchal et al. 2017).

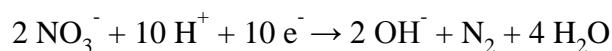
Druhým krokem je tepelné zahuštění, do kterého vstupuje fugát upravený nitrifikací. Výsledkem tepelného zahuštění fugátu podrobeného nitrifikací je koncentrát obsahující 10 - 15 % sušiny a vysoký podíl stabilních dusíkatých látek. Výsledkem při použití této metody je hnojivo, které se může použít jako komerční. Kombinovaný proces úpravy fugátu vede k vyřešení problému s přebytkem fermentačního zbytku vyprodukovaným v BPS (Míchal et al. 2017). Tepelným zahuštěním nitrifikovaného fugátu se zvýší obsah živin a sníží se jeho objem. Výhodou je tedy snížení nákladů na dopravu fugátu. Míchal et al. (2018) dále uvádí, že díky vyšší koncentraci živin není nutné aplikovat velké dávky fugátu pro zajištění dodání požadovaného množství dusíku a dalších živin k rostlinám. Toto je také spojené s redukcí přejezdů zemědělských strojů po půdě. Omezení počtu přejezdů má pozitivní vliv na půdu a snižuje se tím riziko zhutnění půdy.

3.8 Metody zpracování fugátu jako odpadní vody využívající nitrifikační proces

Vzhledem k tomu, že fugát obsahuje velké množství živin, viz kapitola 3.6, je prioritou vracet tyto živiny zpět do zemědělství použitím fugátu jako hnojiva. Pokud to ale není možné, je nutné hledat možnosti, jak jej zpracovat jako odpadní vodu. Tyto možnosti mohou být založeny na níže uvedených metodách.

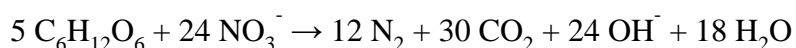
3.8.1 Denitrifikace

Jedná se o další způsob biologického čištění navazujícího na nitrifikaci. Denitrifikační proces nastává v anoxickém prostředí a je výsledkem metabolické činnosti anaerobních organotrofních bakterií. Organotrofní organismy využívají jako zdroj uhlíku organické látky. Organotrofní bakterie rodu *Pseudomonas*, *Denitrobacillus*, *Micrococcus* a *Chromobacterium* se řadí mezi vhodné činitele. Dochází k redukci dusičnanů a dusitanů na plynný dusík nebo oxidy dusíku (Ricklefs & Miller 2000). Schéma denitrifikace je znázorněno v rovnici č. 4, kde organické látky jsou znázorněny elektrony (e^-). Ty jsou jako oxidující se látky během procesu odevzdány (Švehla et al. 2007).

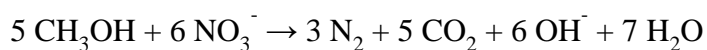


Rovnice č. 4

Velký vliv na poměr oxidů dusíku a elementárního dusíku má hodnota pH. Pokud je zdrojem uhlíku glukosa (rovnice č. 5) nebo methanol (rovnice č. 6), rovnice se znázorní takto:



Rovnice č. 5



Rovnice č. 6

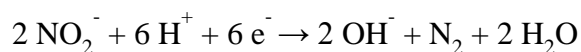
V tomto případě je možné si všimnout, že se uvolňují ionty OH^- . Toto může vést k rychlému nárůstu pH a tím k zastavení či snížení procesu denitrifikace (Chudoba et al. 1991).

3.8.2 Nitritace/Denitritace

Tato metoda je perspektivním řešením při odstraňování dusíkatého znečištění z kalové vody. Lze ji využít i pro čištění jiných odpadních vod s vysokou koncentrací N-amon (např. kapalného fermentačního zbytku z provozu BPS, nebo odpadních vod z jatečního průmyslu) (Abeling & Seyfried 1992).

Princip metody je založen na biochemické oxidaci N-amon pouze na dusitany (nitritace) a následné redukci dusitanového dusíku na elementární dusík N_2 (denitritace viz rovnice č. 7) (Švehla et al. 2007). Stěžejní pro tento proces je, aby nitrifikace byla zastavena ve fázi nitritace a aby dusitany nebyly oxidovány na dusičnany. Při ideálním provozu procesu nitritace/denitritace lze ušetřit až 25 % kyslíku v porovnání s klasickou nitrifikací. Denitritací se pak může uspořit až 40 % organického substrátu ve srovnání s běžnou denitrifikací. Objem narostlé biomasy je menší a celý proces je mnohem rychlejší oproti denitrifikaci (Peng & Zhu 2006).

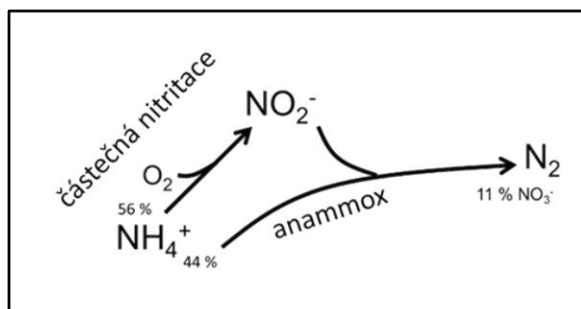
Organické látky v rovnici č. 7 jsou znázorněny elektrony (e^-), které jsou, jakožto oxidující se látky, během procesu odevzdány (Švehla et al. 2007).



Rovnice č. 7

3.8.3 Deamonifikace

V posledních letech došlo k velkému vývoji alternativních metod, které do jisté míry eliminují nedostatky předchozích metod. Nejprogresivnější z nich je proces autotrofní anaerobní oxidace amoniakálního dusíku zvaný ANAMMOX (Anaerobic ammonium oxidation) zobrazený na obr. 12 (Xu et al. 2014). Jedná se o netradiční biologickou metodu odstranění dusíku, která je založena na oxidačně redukční reakci mezi dusitanovým a amonným iontem za vzniku elementárního dusíku (Švehla et al. 2016a). Využívají se zde bakterie rodu *Planctomycetes*, které jsou chemolitotrofní a nepotřebují organický substrát (Mulder et al. 1995).



Obr. 12 Schéma procesu částečné nitrifkace - anammox (Kouba & Bartáček 2019)

Hlavním faktorem ovlivňující úspěšný provoz ANAMMOX je nutnost potlačit činnost nitrifikačních organismů v nitrifikační fázi. V porovnání s ostatními metodami biologického čištění, ve kterých je nežádoucí zvýšený výskyt dusitanů, je poté naopak u procesu ANAMMOX a nitrifkace/denitrifkace nutno maximalizovat zastoupení dusitanů mezi produkty nitrifikační fáze (Švehla et al. 2016a).

Výhody metody ANAMMOX oproti nitrifikaci/denitrifikaci jsou nižší emise oxidu uhličitého a to, že nevyžaduje zdroj organického uhlíku a že je zde menší spotřeba energie na provzdušnění systému (Mulder et al. 1995). V praxi se metoda kombinuje s procesem SHARON. Například kombinovaný systém SHARON - ANAMMOX se nabízí jako vhodný proces pro snížení obsahu dusíkatých látek a zatížení ČOV. Výhodou je, že se v tomto procesu nepoužívají žádné chemicky přidané látky (Van Dongen et al. 2001). Bakterie ANAMMOX používají NH_4^+ jako donor elektronů a NO_2^- jako akceptor elektronů a vedou k N_2 . Tento proces navíc snižuje celkový požadavek na kyslík pro oxidaci NH_4^+ v předchozí nitrifikaci (Xu et al. 2014).

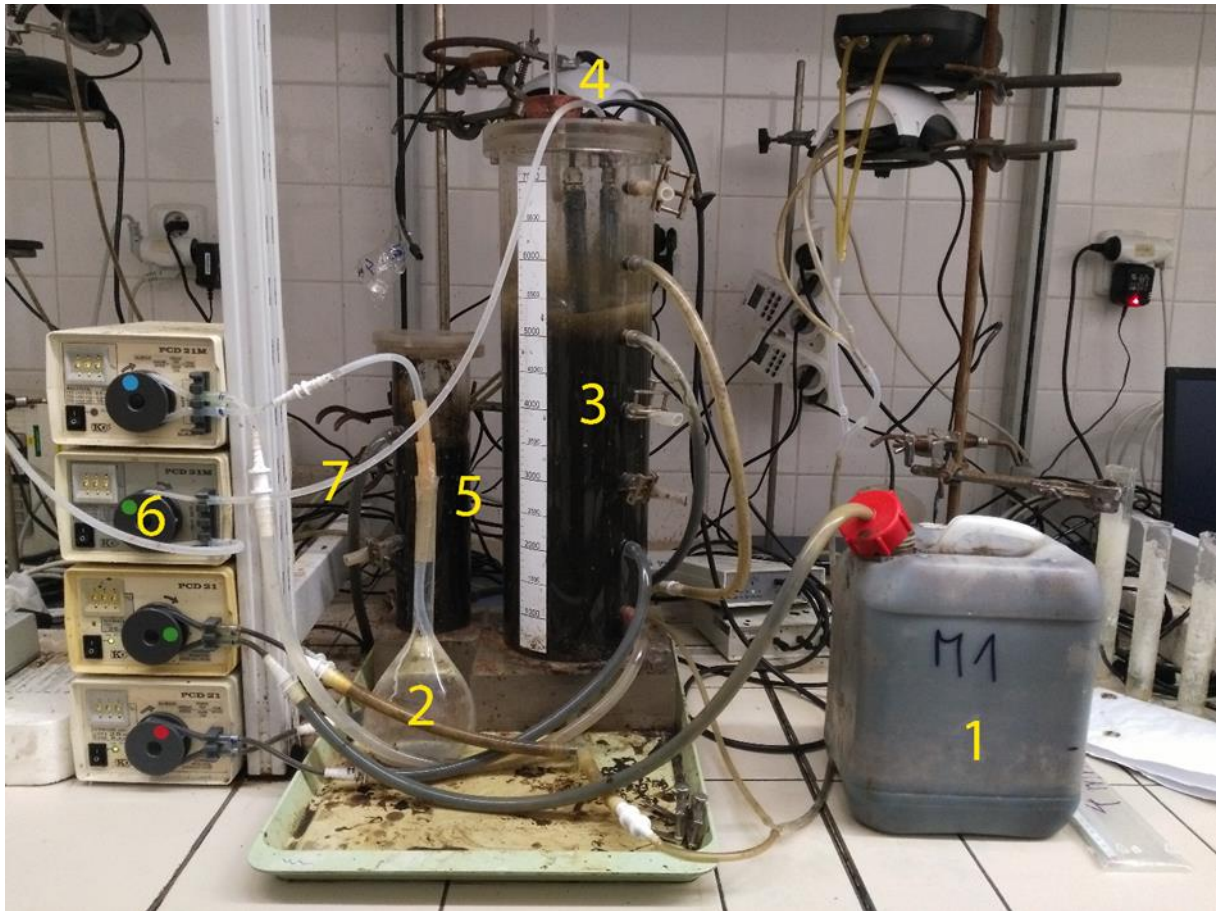
4 Metodika

V této kapitole bude popsán laboratorní model biologického reaktoru, jeho provoz a způsob zapojení. Budou zde také uvedeny analytické metody, podle kterých se jednotlivá měření v rámci diplomové práce na zkoumaném fugátu stanovovala. Laboratorní experiment probíhal na Katedře agroenvironmentální chemie a výživy rostlin České zemědělské univerzity v Praze od 7. 3. 2016 do 19. 5. 2017.

4.1 Laboratorní model M₁

Laboratorní model, který byl nazvaný M₁, měl kontinuální průtok a byl tvořen nitrifikačním reaktorem válcovitého tvaru z plexiskla o objemu 5 l. Nalevo od nitrifikačního reaktoru byla umístěna dosazovací nádrž opět válcovitého tvaru o objemu 1 l. Do reaktoru byl jako vstup použit fugát z BPS Vyškov. K inokulaci systému byl využit aktivovaný kal získaný z velké městské čistírny odpadních vod. V rámci laboratorního modelu byly všechny kapaliny přečerpávány silikonovými hadičkami pomocí peristaltických čerpadel. Aktivační směs byla provzdušňována díky akvarijnímu vzduchovacímu motorku. Jednotlivé části laboratorního modelu a způsob jeho zapojení jsou znázorněny na obr. 13.

Pokus probíhal v laboratoři při teplotě $24,0 \pm 2,0$ °C. Reaktor fungoval jako aktivační systém, který je provozován v režimu směšovací aktivace. Fugát byl kontinuálně přečerpáván ze zásobníku s fugátem do reaktoru. Měřicí a regulační systém GRYF byl použit pro dosažení požadované hodnoty pH, která byla systémem automaticky upravována přívodem roztoku NaOH. Během experimentu docházelo k pění reaktoru, proto byl v laboratorním modelu použit i odpěňovač.



Obr. 13 Laboratorní model (zdroj: autorka diplomové práce)

- 1) Uzaviratelný zásobník s fugátem
- 2) Zásobník s NaOH
- 3) Nitrifikační reaktor
- 4) Akvarijní vzduchovací motorek
- 5) Dosazovací nádrž
- 6) Peristaltická čerpadla
- 7) Hadička dodávající odpěňovač

4.2 Analytické metody stanovující jednotlivé parametry

U modelu M₁ se v laboratoři sledovaly a měřily následující parametry:

- koncentrace různých forem dusíku: N-amon, N-NO₂⁻ a N-NO₃⁻ [mg/l]
- koncentrace rozpuštěného kyslíku [mg/l]
- CHSK [mg/l]
- průtok [ml/d]

- hodnota pH
- ztráta žíháním a stanovení VL, NL, RL [g/l]

Stanovení výše zmíněných parametrů by v laboratoři nemohlo proběhnout bez níže uvedených přístrojů a vybavení:

- spektrofotometru HACH DR/4000
- přenosného pH-metru WTW pH 340i
- odstředivky Hettich-Rotina 420
- přenosného oxymetru WTW Oxi 340i
- sušárny BMT typu ECOCELL
- analytických vah DENVER INSTRUMENT SI-234 a SL-2002
- mineralizačního termostatu Hach DRB 200
- laboratorní muflové pece ELSKLO MF5
- topné ploténky STUART CB 500
- měřicího systému Magic XBC s měřicími hlavicemi a elektrodami pro měření a regulaci hodnoty pH od firmy GRYF HB
- exsikátoru
- mechanických pipet Eppendorf o různých objemech
- chemikálií potřebných ke stanovení analytických metod
- demineralizované vody, laboratorního skla a dalšího laboratorního vybavení

Měření bylo prováděno pravidelně jednou týdně. V nitrifikačním reaktoru se měřila hodnota pH a koncentrace rozpuštěného kyslíku. Dále byl měřen průtok fugátu, který ze zásobníku proudil do reaktoru. Sledovány také byly koncentrace N-amon, N-NO_3^- , N-NO_2^- . Koncentrace N-amon byla měřena na vstupu i výstupu. Koncentrace N-NO_3^- a N-NO_2^- se stanovovala pouze ve výstupu. Ve vstupu a výstupu se sledovala hodnota chemické spotřeby kyslíku (CHSK), a to jak ve vzorku odstředěném, tak i ve vzorku homogenizovaném.

Přibližně jednou měsíčně se měřila koncentrace veškerých látek (VL), (nerozpuštěných látek (NL), rozpuštěných látek (RL) a ztráta žíháním. Sušina se určovala na vstupu, výstupu a reaktoru jak u odstředěných vzorků, tak i ve vzorcích homogenizovaných.

Odstředování odebraných vzorků probíhalo v plastových zkumavkách po dobu 12 minut v centrifuze Hettich-Rotina 420 při 9 500 otáčkách za minutu. Díky tomu došlo k oddělení

nerozpuštěné části od vzorku, ve kterém tak zůstaly jen rozpuštěné látky. Poté vzorek mohl být použit k měření koncentrací forem dusíku, CHSK a rozpuštěných látek.

Vzorky byly ve většině případů ředěny v baňkách o objemu 50 ml demineralizovanou vodou tak, aby koncentrace látek dosáhla parametrů vhodných pro stanovení pomocí spektrofotometru. Spektrofotometr prováděl samotné vyhodnocení automaticky podle principu založeného na Lambert - Beerovu zákonu a kalibračních křivek.

Jednotlivé analytické postupy probíhaly podle standartních pokynů stanovení z vybraných kapitol dle Horákové et al. (2003).

4.2.1 Stanovení koncentrace N-amon

Koncentrace N-amon ve vstupu i výstupu byly stanovovány spektrofotometricky pomocí indofenolové metody. Tato metoda je schopna detekovat formy dusíku jak N-NH_4^+ , tak i N-NH_3 . Je založena na reakci amoniaku, salicylanu a chlornanu v alkalickém prostředí za vzniku sloučeniny indofenolového typu. Disociací sloučeniny vznikne intenzivní modrý roztok, jenž je žádoucí pro spektrofotometrické měření. Katalyzátor reakce nitroprusid sodný, který je zbarven žlutě, však barvu proměřovaného roztoku opticky změnil na modro-zelenou až zelenou. Roztok se vybarvoval jednu hodinu po přidání činidel. Samotné měření probíhalo ve spektrofotometru HACH DR/4000 ve skleněných čtvercových kyvetách při vlnové délce $\lambda = 655 \text{ nm}$ (Horáková et al. 2003).

4.2.2 Stanovení koncentrace N- NO_2^-

Koncentrace dusitanového dusíku N-NO_2^- byly stanovovány ve výstupu spektrofotometricky při vlnové délce $\lambda = 540 \text{ nm}$ skrze tvorbu růžového až růžovo-červeného azobarviva. Změna barvy byla zapříčiněna reakcí NED - dihydrochloridu s diazoniovou solí. Diazoniová sůl vzniká v prostředí okyseleném kyselinou fosforečnou (při pH 1,9) z kyseliny dusité a amidu kyseliny sulfanilové.

Po přidání činidel se vzniklý roztok vybarvoval 20 minut a následně bylo možné změřit koncentraci dusitanů ve spektrofotometru HACH DR/4000 ve skleněných čtvercových kyvetách (Horáková et al. 2003).

4.2.3 Stanovení koncentrace N-NO₃⁻

Koncentrace dusičnanového dusíku N-NO₃⁻ se stanovovaly ve výstupu spektrofotometricky na přístroji HACH DR/4000 ve skleněných fotometrických zkumavkách se závitem při vlnové délce $\lambda = 324$ nm.

Přítomné dusičnany ve vzorku reagovaly s 2,6-dimethylfenolem v kyselém prostředí, konkrétně ve směsi koncentrované kyseliny fosforečné a koncentrované kyseliny sírové. Výsledkem reakce byl cihlově červený 4-nitro-2,6-dimethylfenol. V testovaném vzorku koncentrace dusičnanů odpovídala přímo úměrně intenzitě zbarvení. Rušivý vliv přítomných dusitanů byl eliminován díky přidání amidosírové kyseliny před aplikací ostatních činidel. Po přidání všech činidel se zkumavka důkladně protřepala a po deseti minutách bylo možné změřit absorbanci (Horáková et al. 2003).

4.2.4 Stanovení koncentrace O₂, hodnoty pH a průtoku

Po celou dobu výzkumu měření koncentrace O₂ a stanovování hodnoty pH bylo prováděno přímo v reaktoru laboratorního modelu. Koncentrace rozpuštěného kyslíku byla sledována pomocí přenosného oxymetru WTW Oxi 340i s elektrodou Cellox 325. Elektroda oxymetru se ponořila do kapaliny (v ideálním případě bylo umístit elektrodu do poloviny celkové výše reaktoru) a po několika minutách bylo možné zaznamenat hodnoty z displeje oxymetru.

Hodnota pH byla zjišťována pomocí přenosného pH-metru WTW pH 340i s elektrodou WTW SenTix 21. Elektroda stanovující pH byla ponořena do reaktoru stejně jako elektroda oxymetru a po naměření hodnoty bylo možné údaj z přístroje zaznamenat.

Přesnost měření byla podle informací od výrobce v případě měření kyslíku $\pm 0,5$ % z naměřené koncentrace a pH $\pm 0,01$ pH.

Průtok byl měřen pomocí odměrného válce, který byl naplněn vstupním fugátem. Po dobu jedné hodiny tak model místo ze zásobníku s fugátem odebíral tekutinu z odměrného válce, ze kterého pak bylo možné vyčíst průtok fugátu (Horáková et al. 2003).

4.2.5 Stanovení CHSK dichromanem draselným

Hodnota CHSK byla měřena ve vstupu i výstupu v odstředěných i homogenizovaných vzorcích fugátu. Vzorky byly ředěny ve vhodném poměru demineralizovanou vodou. Stanovení probíhalo modifikovanou dichromovanou semimikrometodou spektrofotometricky na přístroji HACH DR/4000 ve skleněných fotometrických zkumavkách se závitem. Tato metoda určuje množství organických látek. Vychází z oxidace organických látek a je založena na využívání silného oxidačního činidla (dichroman draselný) a vysoké teploty.

V mineralizačním boxu HACH DRB 200 byly ve vzorku oxidovány organické látky dichromanem draselným při teplotě 150 °C po dobu dvou hodin v silně kyselém prostředí kyseliny sírové. Oxidace byla katalyzována Ag^+ ionty po přidání síranu stříbrného. Zároveň k zamaskování chloridů, které by byly oxidovány na Cl_2 a způsobovaly by tak pozitivní chybu, se do vzorku přidal síran rtuťnatý.

Dichroman draselný byl během reakce redukován na chromité ionty Cr^{3+} , které svojí koncentrací úměrně odpovídají obsahu organických látek ve vzorku a při vlnové délce 600 nm tak bylo možné stanovit výsledek. Závěrem bylo nezbytné od výsledku CHSK odečíst pozitivní chybu způsobenou oxidací dusitanů. Odečetla se koncentrace N-NO_2^- vynásobená poměrem jejich relativních atomových hmotností (1,1422) viz rovnice č. 8 (Horáková et al. 2003).

$$\text{CHSK}_{\text{SKUTEČNÁ}} = \text{CHSK}_{\text{NAMĚŘENÁ}} - (1,1422 * \text{N-NO}_2^-)$$

Rovnice č. 8

$\text{CHSK}_{\text{SKUTEČNÁ}}$ = reálná hodnota CHSK po přepočtu [mg/l]

$\text{CHSK}_{\text{NAMĚŘENÁ}}$ = hodnota CHSK naměřena ve spektrofotometru [mg/l]

N-NO_2^- = koncentrace dusitanového dusíku [mg/l]

4.2.6 Stanovení veškerých, nerozpuštěných a rozpuštěných látek, stanovení ztrát žiháním

Vzorky fugátu pro stanovení VL, NL, RL, VL_{org.}, NL_{org.}, RL_{org.}, VL_{anorg.} a RL_{anorg.} byly odebírány ze vstupu, výstupu a z reaktoru modelu. Jednotlivé koncentrace se určovaly gravimetrickým uzančným skupinovým stanovením (Horáková et al. 2003).

Do označených hliníkových mističek, které se po vytvoření nejprve musely zvážít, bylo odpipetováno 10 ml z každého odstředěného vzorku a 10 ml z každého homogenizovaného vzorku. Následovalo odpaření vody z mističek ve vodní lázni na topné ploténce STUART CB 500. Poté byly vzorky umístěny do sušárny BMT Ecocell, kde po dobu 2 hodin při teplotě 105 °C byly sušeny do konstantní hmotnosti. Dalším krokem bylo pomocí laboratorních kleští přesunutí vzorků ze sušárny do exsikátoru, ve kterém se vyrovnaly teploty, a po vyjmutí bylo možné mističky zvážít. Dále byly vzorky umístěny na 1 hodinu do muflové pece, která byla vyhřáta na teplotu 550 °C. Po vyndání byly vzorky opět přesunuty do exsikátoru a po vyrovnání teplot mohly být hliníkové mističky znovu zváženy (Horáková et al. 2003).

4.3 Výpočty základních parametrů procesu

Výpočty základních technologických procesů, jako např. objemové zatížení reaktoru, hydraulická doba zdržení, účinnost odstranění znečišťujících látek atd., byly provedeny na základě níže popsaných rovnic uvedených dle Chudoba et al. (1991). Výpočty koncentrací volné kyseliny dusité (FNA) a volného amoniaku (FA) proběhly na základě rovnic uvedených v Corral et al. (2005). K jednotlivým výpočtům a vytvoření grafů byl použit software Microsoft Excel 2016.

Θ – Hydraulická doba zdržení [d]

Hydraulická doba zdržení určuje dobu, jak dlouho je fugát podrobován procesu nitrifikace v biologickém reaktoru. Je dána poměrem objemu nádrže k průtoku fugátu přitékajícího do reaktoru.

$$\Theta = \frac{V}{Q_1}$$

V = objem reaktoru [m³]

Q₁ = denní průtok fugátu [m³.d⁻¹]

B_v-N-amon – Objemové zatížení reaktoru amoniakálním dusíkem [kg.m⁻³.d⁻¹]

Objemové zatížení reaktoru slouží ke kvantifikaci hmotnostního množství amoniakálního dusíku přicházejícího do reaktoru za 1 den.

$$B_v - N-amon = \frac{Q_1 \times \rho_1}{V}$$

Q_1 = denní průtok fugátu [m³.d⁻¹]

ρ_1 = koncentrace N-amon ve vstupním fugátu [kg.m⁻³]

V = objem reaktoru [m³]

E_{CHSK} – Účinnost odstranění CHSK [%]

Účinnost odstranění CHSK porovnává hodnotu CHSK ve fugátu na vstupu do reaktoru a ve výstupu z reaktoru.

$$E_{CHSK} = \frac{\rho_1 - \rho_2}{\rho_1} \times 100$$

ρ_1 = hodnota CHSK ve vstupním fugátu [kg.m⁻³]

ρ_2 = hodnota CHSK ve výstupním fugátu [kg.m⁻³]

E_{ox} – Účinnost oxidace N-amon [%]

$$E_{ox} = 100 - \left(\frac{N-amon_{výstup}}{N-amon_{vstup}} \times 100 \right)$$

$N-amon_{výstup}$ = koncentrace N-amon na odtoku z reaktoru [mg.l⁻¹]

$N-amon_{vstup}$ = koncentrace N-amon na přítoku do reaktoru [mg.l⁻¹]

% N-NO₃⁻; % N-NO₂⁻ – Zastoupení dusičnanů a dusitanů v produktech nitrifikace [%]

$$\% N-NO_3^- = \frac{N-NO_3^-}{N-NO_3^- + N-NO_2^-} \times 100$$

$$\% N-NO_2^- = \frac{N-NO_2^-}{N-NO_2^- + N-NO_3^-} \times 100$$

$N-NO_3^-$ = koncentrace dusičnanového dusíku na odtoku z reaktoru [mg.l⁻¹]

$N-NO_2^-$ = koncentrace dusitanového dusíku na odtoku z reaktoru [mg.l⁻¹]

r_v -N-amon – Objemová rychlost odstraňování amoniakálního dusíku [kg.m⁻³.d⁻¹]

Objemová rychlost odstranění znečištění popisuje výkonnost čistícího zařízení.

$$r_v - N\text{-amon} = \frac{Q_1 \times (\rho_1 - \rho_2)}{V}$$

ρ_1 = koncentrace N-amon ve vstupním fugátu [kg.m⁻³]

ρ_2 = koncentrace N-amon ve výstupním fugátu [kg.m⁻³]

Q_1 = denní průtok fugátu [m³.d⁻¹]

V = objem reaktoru [m³]

FA – Koncentrace volného amoniaku [mg.l⁻¹]

$$FA = \frac{17}{14} \times \frac{N\text{-amon} \times 10^{pH}}{e\left(\frac{6344}{(273 + t)}\right) + 10^{pH}}$$

N-amon = koncentrace N-amon na odtoku z reaktoru [mg.l⁻¹]

t = teplota [°C]

FNA – Koncentrace volné kyseliny dusité [mg.l⁻¹]

$$FNA = \frac{46}{14} \times \frac{N\text{-NO}_2^-}{e\left(\frac{-2300}{(273 + t)}\right) \times 10^{pH}}$$

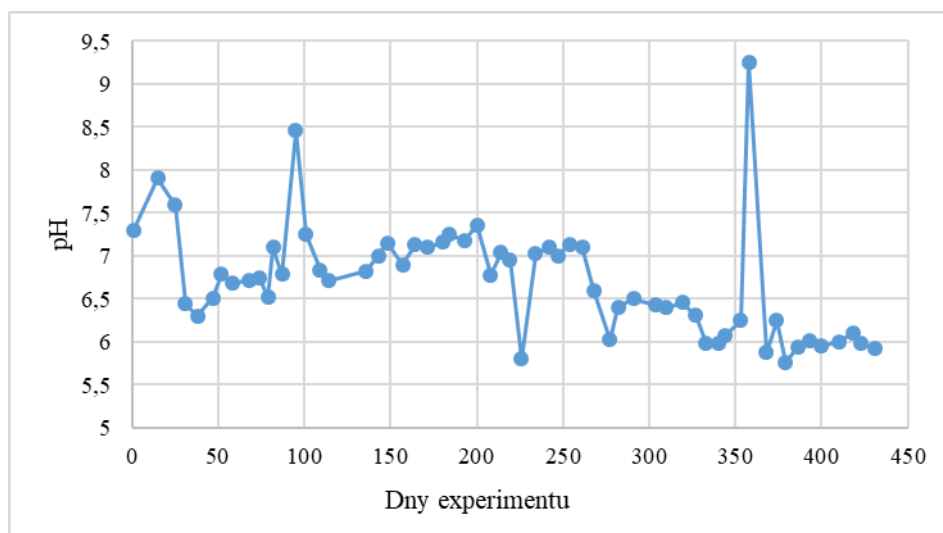
t = teplota [°C]

N-NO₂⁻ = koncentrace dusitanového dusíku na odtoku z reaktoru [mg.l⁻¹]

5 Výsledky

5.1 Hodnota pH

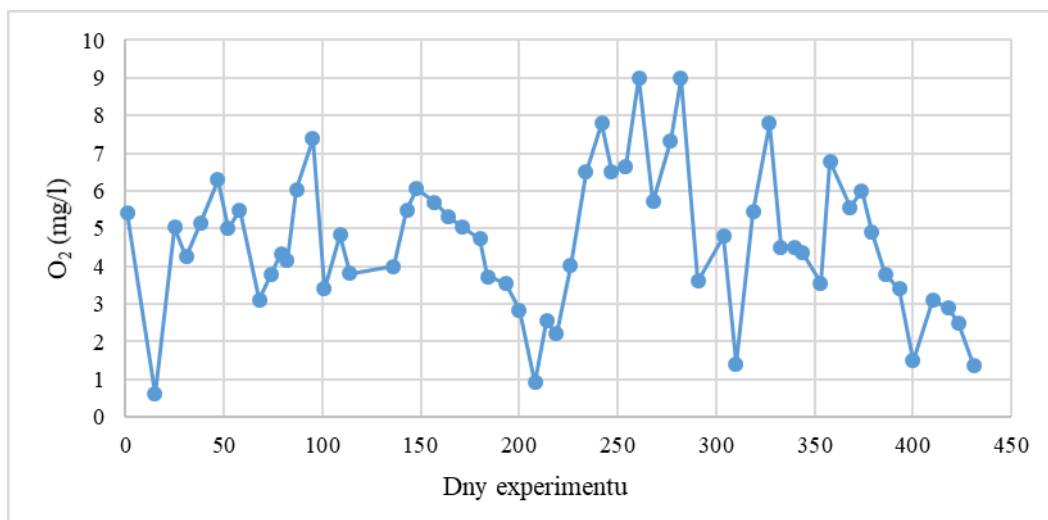
Od začátku laboratorního experimentu do 25. dne se hodnota pH pohybovala v rozmezí 7,2 - 8. Následoval výrazný pokles. Od 31. do 261. dne pokusu byly zaznamenány hodnoty pH v rozmezí 6,3 - 7,3 s výjimkou 95. dne, kdy pH zřetelně vzrostlo na hodnotu 8,5 a s výjimkou 226. dne, kdy pH naopak kleslo na hodnotu 5,8. Od 268. do 353. dne byla hodnota pH bez větších výkyvů, průměr v tomto období byl $6,3 \pm 0,2$. Nejvyšší hodnota pH 9,3 byla zaznamenána 358. den. Od 368. dne do ukončení pokusu hodnota pH nijak výrazně nekolísala a její průměr činil $5,9 \pm 0,12$. Průměrná hodnota pH za celou dobu trvání pokusu byla $6,71 \pm 0,64$. Vývoj hodnot pH je znázorněn v grafu č. 1.



Graf č. 1 – Vývoj pH v reaktoru

5.2 Koncentrace O₂

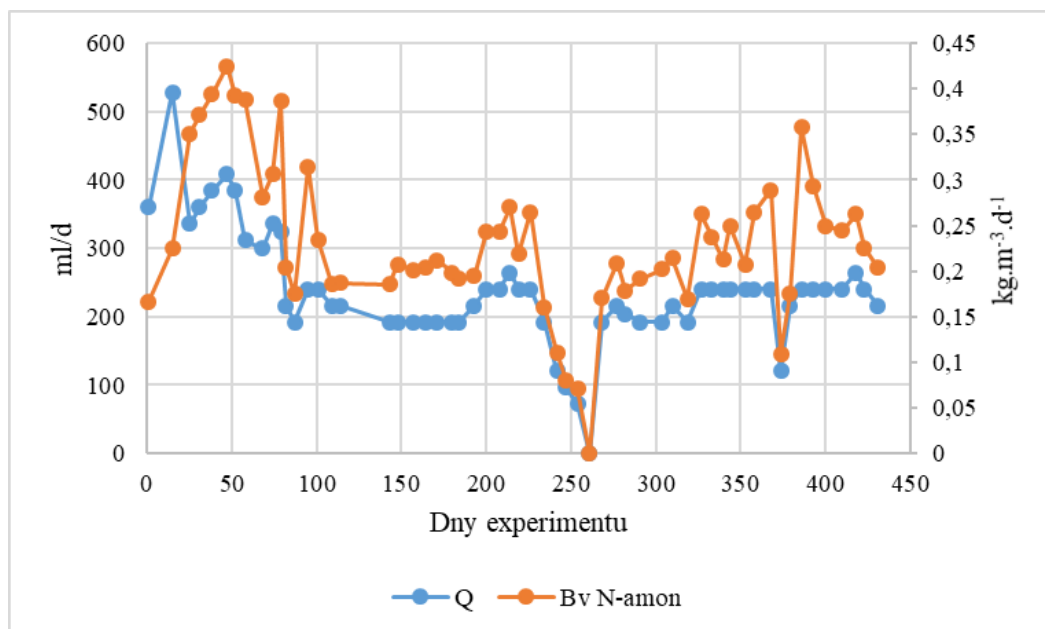
Naměřené hodnoty koncentrace O₂ byly v celém pokusu dosti variabilní, viz graf č. 2. Nejnižší koncentrace 0,61 mg/l byla naměřena 15. den experimentu, nejvyšší koncentrace 9,01 mg/l byla naměřena 261. den. Průměrná koncentrace rozpuštěného kyslíku během pokusu byla $4,65 \pm 1,84$ mg/l.



Graf č. 2 – Vývoj koncentrace rozpuštěného kyslíku v reaktoru

5.3 Průtok, objemové zatížení dusíkem, hydraulická doba zdržení

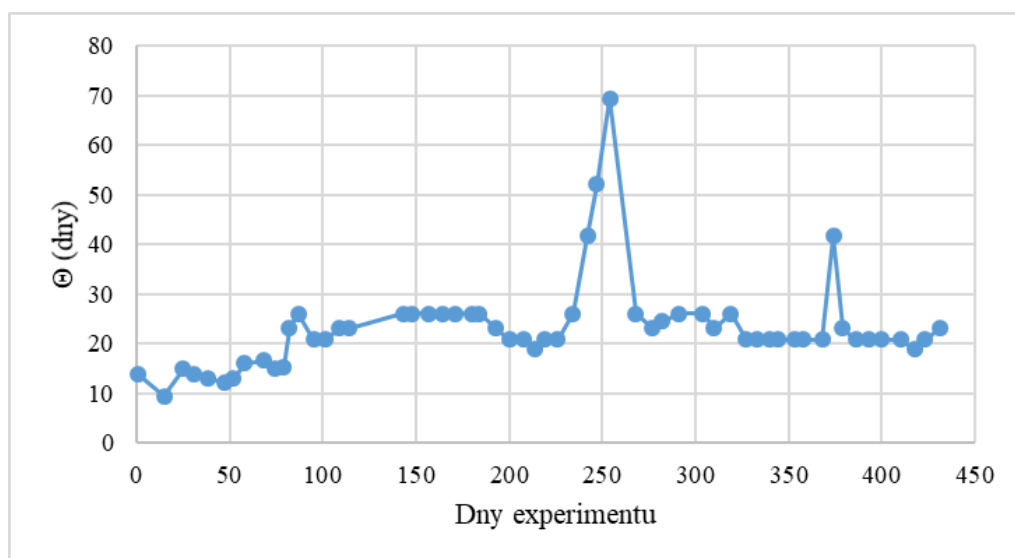
Během pokusu byl průtok fugátu do reaktoru udržován mezi 0 - 528 ml/d, kdy průměr činil 236 ± 82 ml/d. Nulový průtok byl naměřen 261. den. Nejvyšší hodnota průtoku byla naměřena 528 ml/d v 15. dnu experimentu. Z grafu č. 3 je patrný výkyv průtoku v období 234. až 268. dne. Ve zmíněném období se průtok postupně snižoval, až klesl 261. den na 0 ml/d. Nastalo tak krátkodobé přerušení dávkování fugátu do reaktoru.



Graf č. 3 – Vývoj průtoku a objemového zatížení N-amon

Objemové zatížení amoniakálním dusíkem činilo v průměru $0,23 \pm 0,08 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. Minimální hodnota $0,07 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ byla naměřena 254. den experimentu. Maximum bylo naměřeno 47. den, a to $0,42 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. Nulová hodnota byla naměřena 261. den, kdy byl přerušen průtok fugátu.

V průběhu pokusu byla hydraulická doba zdržení v průměru 23 ± 9 dnů. Největší nárůst hydraulické doby zdržení na 70 dnů nastal 254. den, kdy došlo ke snížení průtoku na pouhých 72 ml/den. Vývoj hodnot hydraulické doby zdržení je znázorněn v grafu č. 4.



Graf č. 4 – Vývoj hydraulické doby zdržení

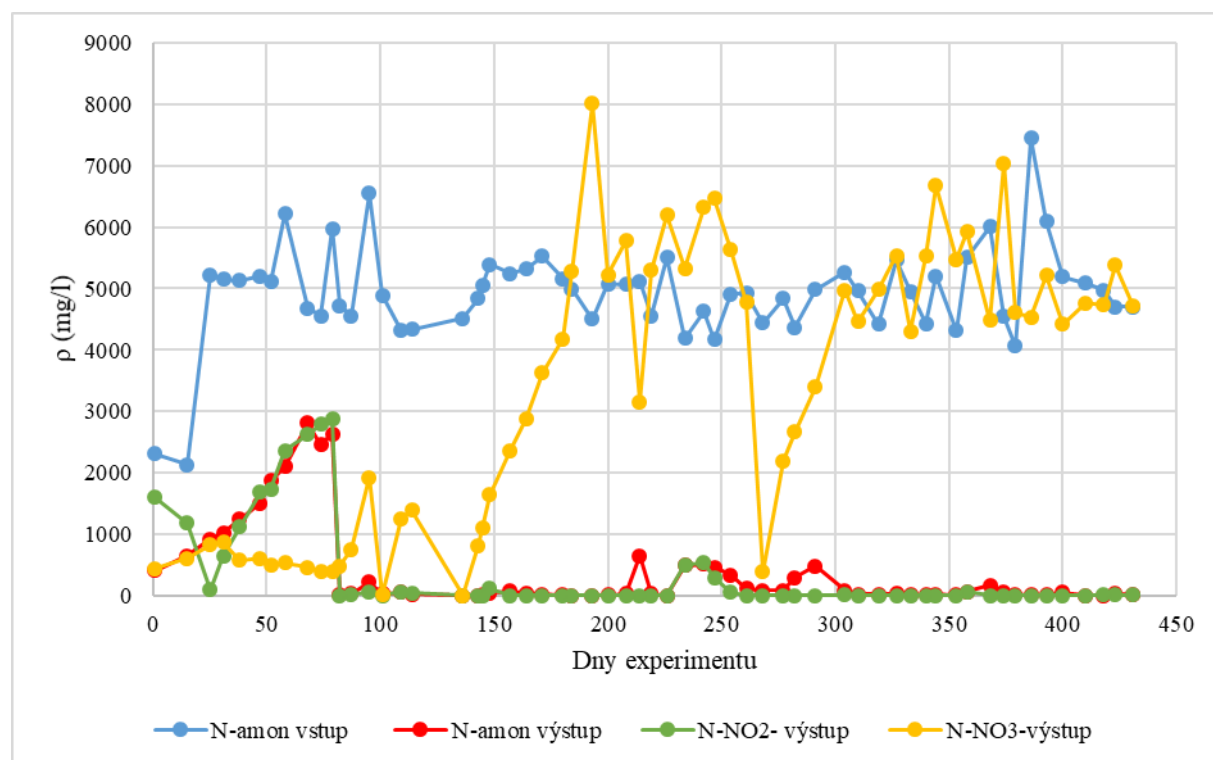
5.4 Koncentrace sloučenin dusíku

Ve vstupní a výstupní vodě byla měřena koncentrace N-amon. Vstupní koncentrace v průměru činila $4930 \pm 780 \text{ mg/l}$. Nejvíce N-amon bylo naměřeno 386. den, konkrétně 7450 mg/l. Nejnižší hodnota byla naměřena 15. den, a to 2130 mg/l. Výstupní koncentrace na počátku pokusu činila 410 mg/l. Následoval nárůst do 68. dne, kdy koncentrace vystoupala až na 2820 mg/l. Poté se koncentrace začala snižovat a od 87. dne do konce pokusu se držela v rozmezí 0,770 - 647 mg/l. Průměrná výstupní koncentrace N-amon činila $380 \pm 690 \text{ mg/l}$. Koncentrace na počátku pokusu do 68. dne byly abnormálně vyšší, než po celý zbytek experimentu. Z tohoto důvodu směrodatná odchylka převyšuje svojí hodnotou celkový průměr.

Koncentrace N-NO_2^- byla měřena na odtoku. Na počátku pokusu byla koncentrace naměřena 1600 mg/l. Poté hodnota 25. den klesla až na 25 mg/l. Následoval nárůst koncentrace,

který se zastavil 79. dne na hodnotě 2870 mg/l. Od 87. dne experimentu do jeho ukončení se pak koncentrace pohybovala v rozmezí 0,22 - 533 mg/l. Za celé období pokusu byla průměrná koncentrace dusitanů 343 ± 750 mg/l. Vyšší hodnota směrodatné odchylky je důsledkem několikanásobného nárůstu koncentrace mezi 25. a 79. dnem, kdy i koncentrace N-NO_2^- dosáhla 79. den svého maxima 2870 mg/l.

Koncentrace N-NO_3^- byla měřena na výstupu a její celkový průměr byl 3375 ± 2260 mg/l. Největší nárůst koncentrace dusičnanů byl zaznamenán od 143. dne, kdy koncentrace z 813 mg/l postupně rostla do 193. dne na 8009 mg/l, což byla i maximální naměřená koncentrace. K dramatickému snížení koncentrace došlo 268. den, kdy naměřeno bylo jen 390 mg/l, poté se ale koncentrace opět postupně navyšovala. Všechny koncentrace sloučenin dusíku uvedené v této podkapitole jsou zobrazeny v grafu č. 5.

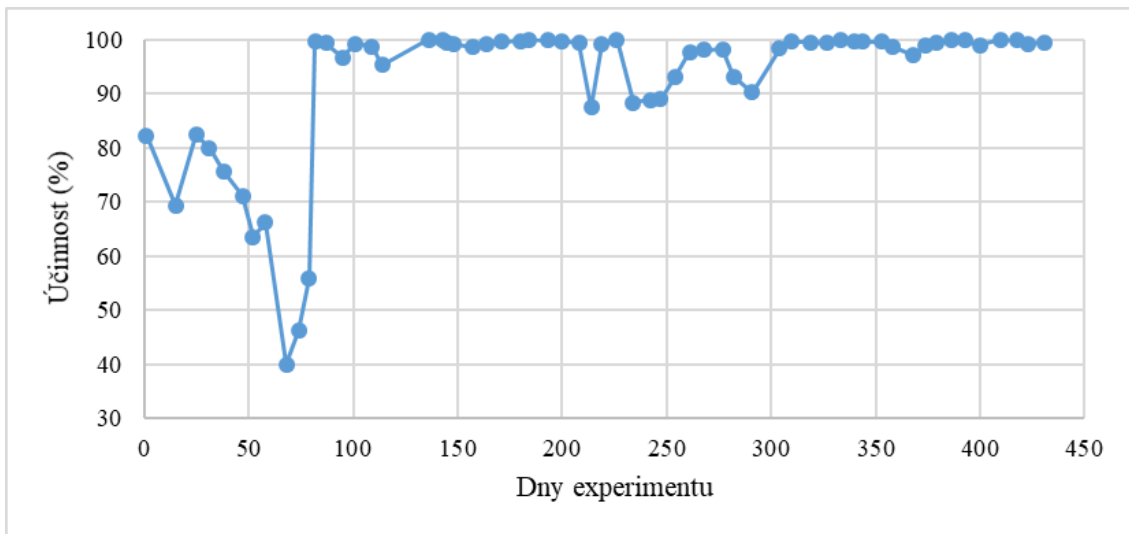


Graf č. 5 – Vývoj koncentrace N-amon, N-NO_2^- , N-NO_3^-

5.5 Účinnost oxidace N-amon

Účinnost oxidace N-amon (graf č. 6) od začátku pokusu do 79. dne nevykazovala vysoké hodnoty. V tomto období byla naměřena i nejnižší účinnost, a to 40 % šedesátý osmý den. Od 87. dne byl zaznamenán nárůst a do konce experimentu účinnost neklesla pod 87 %. V tomto období byla účinnost vyšší než 98 % procent naměřena 38krát. Průměr pak byl mezi 87. dnem

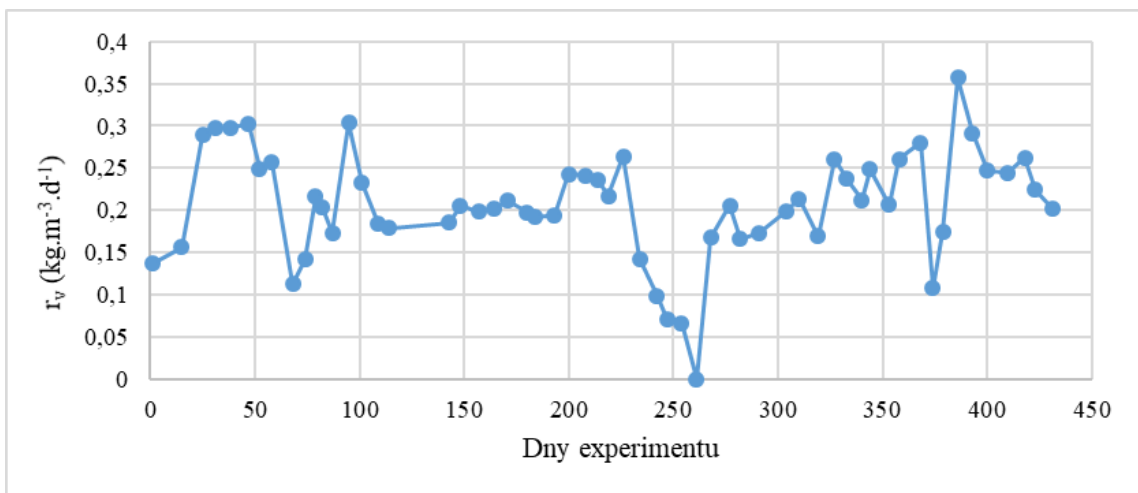
a ukončením pokusu $97,7 \pm 3,5 \%$. Za celou dobu trvání experimentu se pak průměrná účinnost oxidace N-amon pohybovala na $92 \pm 14 \%$.



Graf č. 6 – Účinnost oxidace N-amon

5.6 Objemová rychlost odstranění N-amon

Objemová rychlost odstranění N-amon (graf č. 7) byla v průměru naměřena $0,20 \pm 0,06 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$. Nejvyšší hodnota byla zaznamenána 386. den $0,35 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$, nejnižší $0,06 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ 254. den. Nulová hodnota byla naměřena 261. den kvůli přerušení dávkování fugátu do reaktoru.

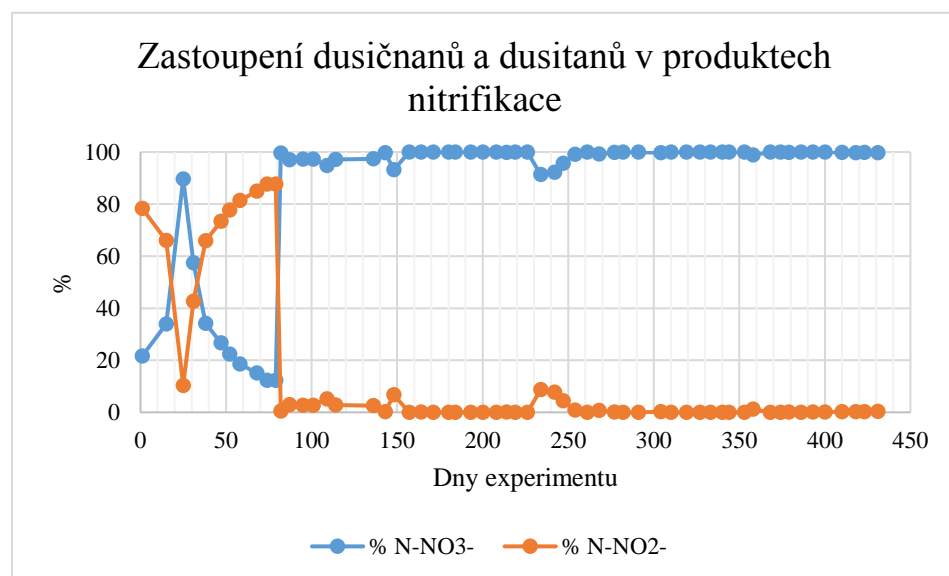


Graf č. 7 – Objemová rychlost odstranění N-amon

5.7 Procentuální zastoupení N-NO_3^- a N-NO_2^- mezi produkty nitrifikace

Graf č. 8 znázorňuje procentuální zastoupení N-NO_3^- a N-NO_2^- mezi oxidovanými produkty nitrifikace. Zastoupení N-NO_3^- od zahájení experimentu do 25. dne postupně vzrostlo z 21 % na 89 %, následoval ale výrazný pokles, který se zastavil 79. den na 12 %. Poté podíl N-NO_3^- skokově narostl na 97 % a od 87. dne neklesl pod 91 %. Celkový průměr zastoupení dusičnanového dusíku byl $86,5 \pm 28,0$ %.

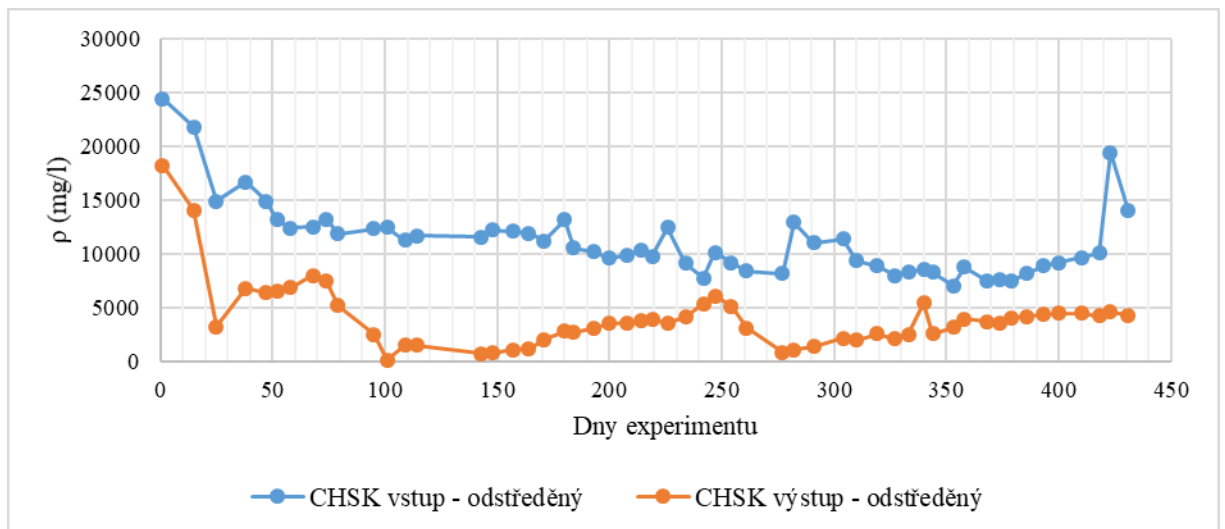
Na počátku pokusu byl podíl dusitanů 78 %, který postupně klesl 25. den na 10 %. Do 79. dne pak zastoupení rostlo až na 87 %. Od 87. dne byla zaznamenána výrazná změna, v rámci které podíl N-NO_2^- až do konce pokusu nepřesáhl 9 %. Celkový průměr procentuálního zastoupení N-NO_2^- byl $13,5 \pm 28,0$ %.



Graf č. 8 – Procentuální zastoupení N-NO_3^- a N-NO_2^-

5.8 CHSK

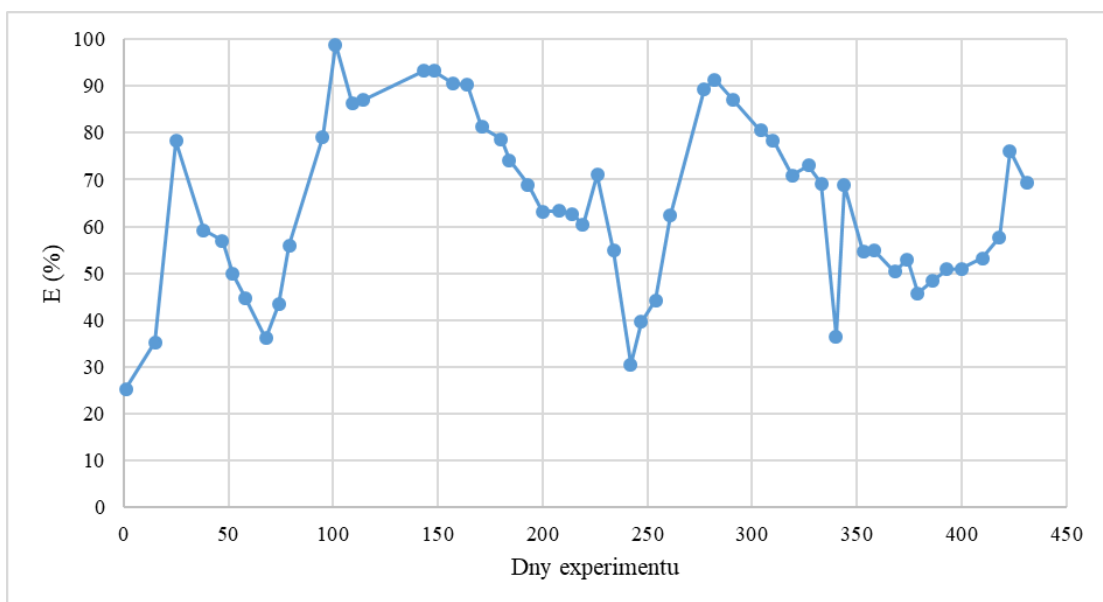
V odstředěném vzorku byly během doby experimentu hodnoty CHSK v přítokové vodě od 7080 do 24 430 mg/l, průměr činil $11\,190 \pm 3350$ mg/l. Na odtoku byly hodnoty naměřeny v rozmezí 101 - 18 240 mg/l, průměr činil 4150 ± 3080 mg/l. Koncentrace jsou zobrazeny v grafu č. 9.



Graf č. 9 – Koncentrace CHSK na vstupu a výstupu odstředěného vzorku

5.9 Účinnost odstranění CHSK

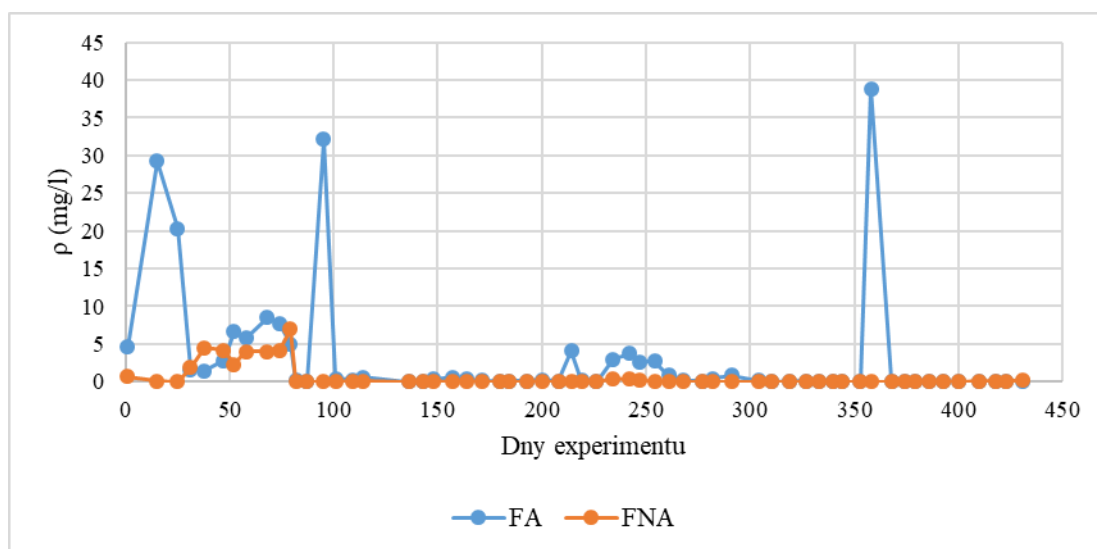
Graf č. 10 zobrazuje účinnost odstranění CHSK v odstředěném vzorku. V průběhu experimentu účinnost kolísala. Zjištěné hodnoty se pohybovaly mezi 25 - 99 %, v průměru byla účinnost 65 ± 18 %.



Graf č. 10 – Účinnost odstranění CHSK v odstředěném vzorku

5.10 FA, FNA

Na níže uvedeném grafu č. 11 jsou zobrazeny koncentrace FA a FNA. Průměrná koncentrace FA činila $3,17 \pm 8,00$ mg/l. Po dobu trvání experimentu byly zaznamenány 3 velké nárůsty koncentrace, 15., 95. a 358. den, kdy ve zmíněném posledním dnu byla i koncentrace nejvyšší, 39 mg/l. Z důvodu těchto tří výkyvů tak směrodatná odchylka svojí hodnotou převyšuje průměrnou koncentraci FA. Koncentrace FNA v průměru dosahovala $0,58 \pm 1,40$ mg/l. Nárůst oproti průměru byl zaznamenán mezi 31. až 79. dnem, který i zapříčinil větší hodnotu směrodatné odchylky. Na konci tohoto období byla naměřena nejvyšší koncentrace 6,9 mg/l. Poté koncentrace klesla a do konce pokusu nevystoupala nad 0,4 mg/l.



Graf č. 11 – Koncentrace FA, FNA

6 Diskuze

6.1 Vliv hodnoty pH na průběh oxidace N-amon

Průměrná hodnota pH během celého experimentu byla $6,71 \pm 0,64$ a dle Ruiz et al. (2003) tak byla hodnota pH pro nitrifikační proces vyhovující. Zmínění autoři uvádějí, že hodnota pH pro klasickou nitrifikaci s N-NO_3^- , jakožto dominantním konečným produktem, se pohybuje v rozmezí 6,50 - 8,95. Konkrétnější rozpětí pro průběh celkové nitrifikace než Ruiz et al. (2003) uvádí Chudoba et al. (1991). Tito autoři uvádějí pro nitrifikační bakterie (AOB) optimum 7,9 - 8,2, nitratační bakterie (NOB) mají růstové optimum 7,2 - 7,6. Tvrzení Chudoba et al. (1991) a Ruiz et al. (2003) vyvrací Gerardi (2002), který naopak uvádí, že pokud pH dlouhodobě neodpovídá optimu a výrazně ale nekolísá, nitrifikační organismy jsou schopny adaptace na nižší pH, než je jejich optimum. Gerardiho (2002) tvrzení o přizpůsobivosti nitrifikačních organismů vůči pH lze díky tomuto experimentu potvrdit tím, že od 368. dne do ukončení experimentu byla průměrná hodnota pH ve sledovaném laboratorním modelu $5,9 \pm 0,12$. Přesto, že uvedená hodnota by již měla být pro AOB i NOB inhibiční (Chudoba et al. 1991; Ruiz et al. 2003), účinnost oxidace N-amon v tomto období dosahovala průměrně $99,2 \pm 0,8$ %.

Dle získaných výsledků z experimentu v rámci této práce lze konstatovat, že naměřené hodnoty pH 5,80 - 9,26 nitrifikaci neinhibovaly. To potvrzuje i fakt, že účinnost oxidace N-amon při nejnižší naměřené hodnotě pH 5,80 byla 99,9 % a při nejvyšší hodnotě pH 9,26 byla účinnost naměřena 98,7 %. Za celou dobu experimentu pak byla průměrná účinnost oxidace N-amon $92,1 \pm 13,7$ %. Výrazné snížení průměru zapříčinila nízká účinnost oxidace N-amon mezi 31. a 79. dnem, kdy účinnost v tomto období byla v průměru jen $62,2 \pm 13,1$ %. V tomto období však byla průměrná hodnota pH $6,52 \pm 0,16$, která se příliš nelišila od hodnot naměřených během celé doby experimentu. Negativní vliv na nitrifikační bakterie se tudíž z hlediska pH zde nepředpokládá. Další krátkodobé období snížení účinnosti oxidace N-amon, kdy účinnost byla ve třech po sobě jdoucích měřeních zjištěna v průměru $88,6 \pm 0,2$ %, nastalo mezi 234. až 247. dnem. Mezi těmito dny byla průměrná hodnota pH $7,04 \pm 0,04$. Dle Ruiz et al. (2003) byly hodnoty pH pro nitrifikační bakterie vyhovující, nižší účinnost oxidace N-amon tudíž hodnoty pH pravděpodobně nezapříčinily.

Kontrolou a úpravou hodnot pH dávkováním roztoku NaOH v průběhu experimentu se potvrdily výsledky Jeníček et al. (2004), Švehla et al. (2016b) a Švehla et al. (2017), ve kterých

byl uveden pozitivní vliv regulace pH při procesu nitrifikace. Švehla et al. (2017) uvádí, že bez regulace pH bylo dosaženo účinnosti jen mezi 46 a 61 %. Při regulaci pH během nitrifikace fugátu uvedení autoři dosáhli účinnosti oxidace N-amon i vyšší než 99 %. K podobnému výsledku při regulaci pH bylo dosaženo i v tomto experimentu. Z naměřených výsledků je dále možné vyvodit závěr, že nitrifikaci lze provozovat v agresivním prostředí fugátu i při nižším pH, než doporučuje odborná literatura (Chudoba et al. 1991; Ruiz et al. 2003; Pitter 2015). V rámci této práce se prokázalo, že nitrifikační bakterie jsou schopny adaptace při dlouhodobém působení nižšího pH. Laboratorní pokus celkem trval 431 dnů. Od 87. dne do ukončení experimentu byla průměrná účinnost oxidace N-amon 98 ± 3 %. Průměrná hodnota pH za toto období byla $6,6 \pm 0,6$. Od 368. dne do ukončení experimentu byla průměrná účinnost oxidace N-amon ještě vyšší, a to $99,2 \pm 0,8$ %, přičemž průměrná hodnota pH činila jen $5,90 \pm 0,12$. Tímto výsledkem je možné vyvrátit tvrzení Chudoba et al. (1991), Ruiz et al. (2003) a Pitter (2015), kteří uvádějí, že při hodnotě $\text{pH} \leq 6,5$ nitrifikační proces nemůže probíhat. Zjištěný závěr je v souladu s Gerardi (2002), který uvádí možnou přizpůsobivost nitrifikačních bakterií vůči podmínkám prostředí, jež pro ně nejsou optimální za předpokladu, že budou dlouhodobě neměnné.

6.1.1 Vliv pH nitrifikovaného fugátu na možnosti jeho využití a dalšího zpracování

Pokud je účinnost nitrifikace omezena a ve fugátu i přes nitrifikační proces zůstává významnější množství N-amon, může docházet k těkání NH_3 do ovzduší, a tudíž ztratě dusíkaté živiny. Švehla et al. (2017) uvádí, že pokles hodnoty pH v rámci nitrifikace je výhodný z hlediska fixace dusíku ve fugátu a prevence jeho úniku do ovzduší. To je velmi přínosné při skladování fugátu a při přímé aplikaci fugátu jako hnojiva. Pokud se N-amon i přes nitrifikaci ve fugátu vykytuje, oproti zásaditému fugátu bez nitrifikace je v nitrifikovaném fugátu těkání NH_3 díky přirozenému poklesu pH v důsledku nitrifikace omezeno na minimum. Během tohoto laboratorního experimentu se postupně pH snižovalo (viz graf č. 1), aby se těkání NH_3 zamezilo. Pokles hodnoty pH je výhodný i pro možnost dalšího zpracování nitrifikovaného fugátu, a to konkrétně tepelným zahuštěním (Míchal et al. 2017), které je blíže popsáno v kapitole 3.7.7. Autoři Míchal et al. (2017) uvádějí, že hodnota pH před tepelným zahuštěním fugátu se má pohybovat v mírně kyselé oblasti ($\leq 6,5$). Během tohoto laboratorního experimentu bylo od 171. dne do ukončení experimentu dosaženo průměrné hodnoty pH $6,5 \pm 0,6$, čímž pH uvedenou hodnotu ($\leq 6,5$) splňovalo. Hodnota pH před tepelným zahuštěním nitrifikovaného fugátu však nebyla splněna dle autorů Li et al. (2016), kteří uvádějí jako

vhodnou hodnotu pH 5 - 6. Ještě nižší interval doporučují Chiumenti et al. (2013), kteří pro maximální zafixování živin uvádějí hodnotu pH 3,5 - 5,0. Pokud je ve fugátu i přes proběhlou nitrifikaci hodnota pH vyšší, je možné ji však snížit například pomocí dávkování minerálních kyselin (Botheju et al. 2010).

6.2 Koncentrace O₂

Během laboratorního pokusu bylo prostředí reaktoru uměle provzdušňováno a koncentrace O₂ se pohybovala v rozmezí 0,61 - 9,01 mg/l. Pro zdárný průběh procesu nitrifikace Chudoba et al. (1991) a Gerardi (2002) uvádějí jako optimální koncentraci O₂ převyšující 2 mg/l. Během pokusu realizovaného v rámci této diplomové práce byl pokles koncentrace pod 2 mg/l naměřen pouze pětkrát.

Nejnižší koncentrace nastala na počátku experimentu, kdy 15. den byla zaznamenána hodnota 0,61 mg/l. Příčinou rapidního poklesu koncentrace O₂ byl extrémní nárůst průtoku na 528 ml/d, což byla i nejvyšší hodnota průtoku během pokusu a bakterie na to reagovaly vyšší spotřebou kyslíku. Autoři Ruiz et al. (2003) a Guisasola et al. (2005) uvádějí inhibiční koncentraci O₂ pro NOB 0,7 mg/l. Jejich tvrzení lze podpořit výsledkem z tohoto experimentu, kdy při podobné koncentraci rozpuštěného kyslíku (0,61 mg/l) došlo k výrazné inhibici NOB. Procentuální zastoupení N-NO₃⁻ mezi oxidovanými formami dusíku při koncentraci kyslíku 0,61 mg/l činilo jen 34 %, zastoupení N-NO₂⁻ činilo 66 %. Na nižší podíl N-NO₃⁻ vůči N-NO₂⁻ však měla vliv nejen koncentrace O₂, významně se podílela i vysoká koncentrace FA, která je podrobně rozebrána v kapitole 6.3. Druhá nejnižší koncentrace kyslíku 0,92 mg/l byla naměřena 208. den experimentu. Nižší koncentrace O₂ byla opět důsledkem větší spotřeby kyslíku bakteriemi v souvislosti se zvýšením průtoku z hodnoty 192 ml/d na 240 ml/d. V tomto případě však NOB bakterie inhibovány nebyly, naopak při koncentraci kyslíku 0,92 mg/l procentuální zastoupení N-NO₃⁻ mezi oxidovanými formami dusíku činilo téměř 100 %. Tímto výsledkem je možné vyvrátit tvrzení Aslan et al. (2009), kteří tvrdí, že inhibice NOB nastává při koncentraci 1,1 mg/l. Zde je ale nutné zmínit, že vždy záleží na konkrétních podmínkách v reaktoru. Kromě dostupnosti kyslíku může být proces silně ovlivněn například objemovým zatížením N-amon, hodnotou pH, teplotou a atd. Koncentrace O₂ je tak pouze jedním z mnoha faktorů, které nitrifikační bakterie ovlivňují. Pod optimální 2 mg/l (Chudoba et al.

1991; Gerardi 2002) koncentrace O_2 dále klesla 310. den na 1,40 mg/l, 400. den na 1,49 mg/l a 431. den na 1,38 mg/l. V těchto dnech procentuální zastoupení $N-NO_3^-$ v produktech nitrifikace bylo vždy přes 99 %. Toto zjištění podporuje tvrzení Bae et al. (2002) a Ciudad et al. (2005), že úplná nitrifikace může proběhnout i při koncentraci rozpuštěného kyslíku 1,0 - 1,5 mg/l.

Nejvyšší koncentrace 9,01 mg/l byla zaznamenána 261. den, kdy dávkování fugátu bylo úplně zastaveno a bakteriím chyběl substrát, při jehož přeměně by kyslík spotřebovávaly.

Průměrná koncentrace O_2 činila $4,65 \pm 1,84$ mg/l. Z tohoto důvodu a na základě poznatků výše uvedených se nepředpokládá, že by koncentrace rozpuštěného kyslíku měla v podmínkách popsaného experimentu inhibiční vliv na průběh nitrifikace.

6.3 Vliv FA a FNA

Od počátku experimentu do 25. dne se hodnota pH pohybovala mezi 7,3 a 7,9. To mělo za následek nárůst koncentrace FA na 4,60 - 29,26 mg/l, potlačení aktivity NOB a zvýšenou kumulaci dusitanů na úkor dusičnanů. Zátěžové období pro nitrifikační bakterie pak nastalo mezi 31. a 79. dnem experimentu, kdy se hodnota pH snížila a pohybovala se v rozmezí 6,3 - 6,8. Nižší hodnota pH při zvýšené koncentraci $N-NO_2^-$ 646 - 2870 mg/l měla vliv na nárůst koncentrace FNA. Z původní koncentrace 0,01 mg/l, která byla naměřena 25. den experimentu, se koncentrace FNA 79. den navýšila až na 6,92 mg/l. Dle autorů Anthonisen et al. (1976) a Zhang et al. (2010) byly zjištěné koncentrace FNA inhibiční jak pro NOB, tak i pro AOB. V tom samém období, tudíž mezi 31. a 79. dnem, byl také zaznamenán nárůst koncentrace FA (z 1,42 mg/l na 8,47 mg/l), který dle Anthonisen et al. (1976) byl pro NOB rovněž inhibiční. Z naměřené koncentrace $N-NO_2^-$ v odtoku z reaktoru bylo zjištěno, že z původní hodnoty 96 mg/l, která byla naměřena 25. den, vzrostla mezi 31. a 79. dnem koncentrace $N-NO_2^-$ až na 2870 mg/l. AOB bakterie tudíž zvýšenou koncentrací FNA negativně zasaženy nebyly a je možné vyvrátit tvrzení Zhang et al. (2010), ve kterém autoři uvádí, že při koncentraci FNA 0,42 - 1,72 mg/l se aktivita AOB sníží o 50 %. V tomto laboratorním experimentu se naopak AOB bakterie vyznačovaly vysokou aktivitou. U NOB bakterií mezi 31. a 79. dnem experimentu nebyla zaznamenána úplná inhibice, koncentrace $N-NO_3^-$ už ale měla tendenci se snižovat. Negativní vliv FA a FNA se na NOB projevil poklesem aktivity bakterií, konkrétně

procentuální zastoupení N-NO_3^- v produktech nitrifikace bylo mezi 31. a 79. dnem v průměru $25 \pm 14 \%$, průměrné zastoupení N-NO_2^- činilo tedy $75 \pm 14 \%$. Z těchto zjištěných výsledků plyne, že působením vyšších koncentrací FA a FNA NOB bakterie snížily svoji aktivitu. Úplně však svoji činnost nezastavily, což je v souladu s tvrzením Švehla et al. (2010) o možné adaptaci NOB bakterií při dlouhodobém působení stejného prostředí.

Obrat nastal 82. den, kdy FA o naměřené koncentraci 0,11 mg/l i FNA o koncentraci 0,001 mg/l klesly pod inhibiční hodnoty obou skupin nitrifikačních organismů (Anthonisen et al. 1976; Zhang et al. 2010). Ty následně začaly produkovat dusičnany jako dominantní produkt nitrifikace, přičemž procentuální zastoupení N-NO_3^- v produktech nitrifikace od 82. dne do ukončení pokusu činilo v průměru $98,9 \pm 2 \%$.

Od 82. dne do konce experimentu byly vyšší hodnoty koncentrace FA naměřeny 95. den 32,16 mg/l; 214. den 4,05 mg/l; 234. - 254. den 2,64 - 3,73 mg/l; 358. den 38,88 mg/l. Ve všech zmíněných dnech nitratační bakterie nárůstem koncentrace FA nebyly zasaženy a stále vytvářely dusičnany jako výsledný produkt nitrifikace. V oxidovaných produktech nitrifikace bylo procentuální zastoupení N-NO_2^- 95. den 2,7 %; 214. den 0,1 %; 234. - 254. den 0,8 - 8,7 % a 358. den 1,2 %. Účinnost oxidace N-amon byla 95. den 96,60 %; 214. den 87,35 %; 234. - 254. den 88,31 - 88,95 %; 358. den 98,74 %. Nárůst hodnoty FNA od 82. dne do ukončení experimentu nebyl zaznamenán a průměrná koncentrace činila 0,04 mg/l. Z těchto výsledků vyplývá, že nitrifikační bakterie jsou schopny se na nárůst koncentrace FA adaptovat, jak ve své studii tvrdí Villaverde et al. (2000) a Ruiz et al. (2003).

6.4 Možné využití výsledků v praxi

Výsledky získané během laboratorního experimentu potvrdily předpoklad o možnosti realizace a dlouhodobého udržení nitrifikačního procesu ve fugátu, ve kterém se regulovalo pH a který na vstupu disponoval vysokými koncentracemi N-amon v průměru 4930 ± 780 mg/l. Laboratorní pokus prokázal, že i v extrémním, agresivním prostředí fugátu lze provozovat úplnou nitrifikaci, ve které jsou výsledným produktem dusičnany. K tomuto závěru došli ve své práci i Švehla et al. (2017), kteří úspěšně realizovali v prostředí fugátu nitrifikaci za účelem tvorby N-NO_3^- . Dusičnany jako konečný produkt nitrifikace ve fugátu také úspěšně získali Botheju et al. (2010). Dusičnanový dusík oproti amoniakálnímu dusíku nemá tendenci tékat do ovzduší. V případě nižší účinnosti nitrifikace v nitrifikovaném fugátu zůstává jisté množství

N-amon. Přirozeným poklesem pH při nitrifikaci je však těkání NH_3 omezeno a ztráta dusíkaté živiny je tak minimální. Nitrifikovaný fugát je tak možné aplikovat přímo na půdu jako hnojivo a z hlediska zachování živin a z hlediska environmentálního se jeví jako vhodnější variantou než fugát, u kterého nitrifikace neproběhla a u kterého tak amoniak do ovzduší uniká. Úpravu fugátu nitrifikačním procesem je možné využít i jako předstupeň pro další zpracování fugátu s cílem co nejefektivněji využít živiny, které fugát obsahuje. Pokud jsou finálním produktem nitrifikace dusičnany, je možné jako o dalším stupni zpracování uvažovat o tepelném zahuštění nitrifikovaného fugátu. Díky snížení hodnoty pH ve fugátu při nitrifikaci se minimalizují ztráty dusíku únikem do ovzduší, a následně tepelným zahuštěním se živiny obsažené v nitrifikovaném fugátu zkoncentrují (Míchal et al. 2017).

Laboratorní experiment ukázal, že nitrifikační proces a aktivitu nitrifikačních bakterií, zvláště pak NOB, ovlivňovaly zejména nedisociované formy dusíku FA a FNA. Toxický vliv FA a FNA může výrazně působit na konečné zastoupení oxidovaných forem dusíku v nitrifikovaném fugátu, a proto je důležité sledovat a regulovat hodnotu pH v reaktoru. Korigování hodnoty pH ovlivňuje nejen aktuální koncentrace FA a FNA, v tomto laboratorní experimentu byla regulace pH pozitivně zhodnocena i z hlediska účinnosti převedení N-amon na oxidované formy dusíku. Na aktivitu NOB ale nemají vliv jen FA a FNA, chod systému je podroben mnoha dalším jevům jako např. koncentrace rozpuštěného kyslíku či objemové zatížení a je zde zajisté prostor pro další výzkum.

7 Závěr

- Laboratorní experiment v biologickém reaktoru potvrdil tezi, že je možné ve fugátu dlouhodobě provozovat nitrifikační proces při regulaci a postupném snižování hodnoty pH tak, aby konečným produktem nitrifikace byly dusičnany.
- Průměrná účinnost převedení N-amon na oxidované formy byla $92 \pm 14 \%$ a také na ni měla podstatný pozitivní vliv regulace hodnoty pH.
- Vyšší koncentrace FA a FNA ovlivnily během laboratorního pokusu zastoupení N-NO_2^- a N-NO_3^- mezi oxidovanými produkty nitrifikace.
- Nitrifikovaný fugát je možné aplikovat přímo na půdu jako hnojivo a z hlediska zachování živin se jeví jako vhodnější volba než fugát bez nitrifikace. Při nitrifikaci fugátu je díky poklesu pH těkání NH_3 omezeno na minimum a dusičnanový dusík je snadno přijatelnou živinou pro rostliny.
- Výsledky laboratorního experimentu naznačují, že nitrifikaci fugátu je možné využít jako předstupeň úpravy pro další zpracování za účelem zefektivnění využití živin, které fugát obsahuje. Perspektivním řešením zpracování nitrifikovaného fugátu by mohlo být tepelné zahuštění, které se pro navazující výzkum jeví jako vhodnou metodou.

8 Literatura

Abeling, U., Seyfried, C. F. 1992. Anaerobic-aerobic treatment of high-strength ammonium wastewater-nitrogen removal via nitrite: Water science and technology. 26 (5 - 6). p. 1007 - 1015.

Al Seadi, T., Drogg, B., Fuchs, W., Rutz, D., Janssen, R. 2013. Biogas digestate quality and utilization. In: The biogas handbook: Science, Production and Applications. Cambridge: Woodhead Publishing Limited. Chapter 12. Biogas digestate quality and utilization. p. 267 - 301.

Andert, D., Sladký, V., Abrham, Z. 2006. Energetické využití pevné biomasy. Praha: Výzkumný ústav zemědělské techniky. 59 s. ISBN 80-86884-19-8.

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

Aslan, S., Miller, L., Dahab, M. 2009. Ammonium oxidation via nitrite accumulation under limited oxygen concentration in sequencing batch reactors. Bioresource Technology. 100 (2). p. 659 - 664.

Bae, W., Baek, S., Chung, J., Lee, Y. 2002. Optimal operational factors for nitrite accumulation in batch reactors. Biodegradation. 12 (5). p. 359 - 366.

Bagchi, S., Biswas, R., Nandy, T. 2010. Start-up and stabilization of an Anammox process from a non-acclimatized sludge in CSTR. Journal of Industrial Microbiology. 37 (9). p. 943 - 952.

Benda, V. 2012. Obnovitelné zdroje energie. Praha: Profi Press. 208 s. ISBN 978-80-86726-48-9.

Botheju, D., Svalheim, O., Bakke, R. 2010. Digestate nitrification for nutrient recovery. The Open Waste Management Journal. 3. p. 1 - 12.

Brandejsová, E., Příbyla, Z. 2009. Bioplynové stanice - zásady zřizování a provozu plynového hospodářství. Praha: GAS. 118 s. ISBN 978-80-7328-192-2.

Ciudad, G., Rubilar, O., Muñoz, P., Ruiz, G., Chamy, R., Vergara, C., Jeison, D. 2005. Partial nitrification of high ammonia concentration wastewater as a part of a shortcut biological nitrogen removal process. *Process Biochemistry*. 40 (5). p. 1715 - 1719.

Corral, M. A., González, F. L. V., Campos, J. L., Méndez, R. E. 2005. Partial nitrification in a SHARON reactor in the presence of salts and organic carbon compounds. *Process Biochemistry*. 40 (9). p. 3109 - 3118.

Ditl, P., Nápravník, J., Šulc, R. 2017. Chemical pre-treatment of fugate from biogas stations. *Biomass and Bioenergy*. 96. p. 180-182.

Deublein, D., Steinhauser, A. 2008. *Biogas from Waste and Renewable Resources: An Introduction*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. p. 443. ISBN: 9783527621705.

Dohányos, M., Zábranská, J., Jeníček, P., Fialka, P., Kajan, M. 1998. *Anaerobní čistírenské technologie*. Brno: NOEL 2000. 343 s. ISBN 80-86020-19-3.

Dostál, J., Richter, R. 2008. Porovnání kvality kejdy s digestátem z bioplynových stanic a jejich využití ke hnojení zemědělských plodin. In: *Kukuřice v praxi 2008 : sborník z odborného semináře*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita s. 35 - 46. ISBN: 978-80-7375-135-7.

Došek, M., Holba, M., Černý, M. 2015. Technologie vs. fermentační zbytek. *Waste Forum* [online]. [cit. 2019-10-24]. ISSN 1804-0195. Dostupné z: <http://www.odpadoveforum.cz/TVIP2015/prispevky/033.pdf>

Drosg, B., Fuchs, W., Al Seadi, T., Madsen, M., Linke, B. 2015. *Nutrient Recovery by Biogas Digestate Processing*. Dublin: IEA Bioenergy. p. 5-11. ISBN 978-1-910154-16-8

Dubský, M., Kaplan, L. 2012. Substráty a zeminy s komposty a separovaným digestátem. *Zahradnicví*. 8. s. 62-65. ISSN: 1213-7596.

Duffková, R., Mühlbachová, G. 2016. Metodický postup pro efektivní užití digestátu ze zemědělských bioplynových stanic. Praha: Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy. 84 s. ISBN: 978-80-87361-62-7.

Evans, E. A., Evans, K. M., Ulrich, A., Ellsworth, S. 2011. Anaerobic Processes. Water Environment Research. Vol. 83 (10). p. 1285 - 1332.

Fuchs, W., Drog, B. 2011. Assessment of the state of the art of technologies for the treatment of effluents from anaerobic digesters. In: Proceedings of the International Symposium on Anaerobic Digestion of Solid Waste and Energy Crops, Vienna. Austria.

Gerardi, M. H. 2002. Wastewater Microbiology: Nitrification and Denitrification in the Activated Sludge Process. New York: John Wiley and Sons Limited. p. 193. ISBN: 0471065080.

Guisasola, A., Jubany, I., Baeza, J. A., Carrera, J., Lafuente, J. 2005. Respirometric estimation of the oxygen affinity constants for biological ammonium and nitrite oxidation. Journal of Chemical Technology & Biotechnology. 80 (4). p. 388 - 396.

Guštin, S., Marinšek-Logar, R. 2011. Effect of pH, temperature and air flow rate on the continuous ammonia stripping of the anaerobic digestion effluent. Process Safety and Environmental Protection. 89. p. 61–66.

Hao, X., Heijnen, J. J., Van Loosdrecht, M. C. M. 2002. Model-based evaluation of temperature and inflow variations on a partial nitrification–ANAMMOX biofilm process. Water Research. 36 (19). p. 4839 - 4849.

Havličková, K. 2008. Rostlinná biomasa jako zdroj energie. Průhonice: Výzkumný ústav Silva Taroucy pro krajinu a okrasné zahradnictví s Novou tiskárnou Pelhřimov. 83 s. ISBN 978-80-85116-65-6.

Hlavatá, M. 2004. Odpadové hospodářství. Ostrava: VŠB - Technická Univerzita. 174 s. ISBN: 80-248-0737-8.

Hlušek, J. 2004. Statková hnojiva. <https://www.mendelu.cz>

Horáková, M., Janda, V., Koller, J., Kollerová, L., Palatý, J., Koubíková, J., Pokorná, D., Ptáková, H., Schejbal, P., Smrčková, Š., Strnadová, N., Sýkora, V. 2003. Analytika vody. Vyd. 2., opr. a rozš. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. 335 s. ISBN 80-7080-520-X.

Chen, Y., Petkau, D. S., Zhang, Q. 2001. Evaluation of different techniques for liquid manure application on grassland. *Applied Engineering in Agriculture*. 17 (4). p. 489 - 496.

Chiumenti, R., Chiumenti, A., Da Borso, F. 2010. Digestate treatment by means of a full scale membrane system: an innovative method for managing surplus nitrogen and for valorising farm effluents. *Conference Ramiran*. Italy. ISBN: 978-972-8669-47-8.

Chiumenti, A., Da Borso, F., Chiumenti, R., Teri, F., Segantin, P. 2013. Treatment of digestate from a co-digestion biogas plant by means of vacuum evaporation: Tests for process optimization and environmental sustainability. *Waste Management*. 33 (6). p. 1339 - 1344.

Chudoba, J., Dohányos, M., Wanner, J. 1991. Biologické čištění odpadních vod. Praha: Nakladatelství technické literatury. 465 s. ISBN: 80-03-00611-2.

Jeníček, P., Švehla, P., Zábranská, J., Dohányos, M. 2004. Factors affecting nitrogen removal by nitrification/denitrification. *Water Science and Technology*. 49 (5-6). p. 73 - 79.

Kára, J. 2007. Výroba a využití bioplynu v zemědělství. Praha: VÚZT. 120 s. ISBN 978-80-86884-28-8.

Kim, D. J., Lee, D. I., Keller, J. 2006. Effect of temperature and free ammonia on nitrification and nitrite accumulation in landfill leachate and analysis of its nitrifying bacterial community by FISH. *Bioresource Technology*. 97 (3). p. 459 - 468.

Kouba, V., Bartáček, J. 2019. Úsporné odstraňování dusíku procesem anammox z kalových a splaškových odpadních vod. *Entecho* [online]. 2019, 2/1, s. 1-5 [cit. 2019-10-23]. ISSN 2571-1040. Dostupné z: <https://www.entecho.cz/cs-cz/db/10-3260-entecho-2019-04.001/usporne-odstranovani-dusiku-procesem-anammox-z-kalovych-a-splaskovych-odpadnich-vod>

Kolář, L., Kužel, S., Peterka, J., Štindl, P., Plát, V. 2008. Agrochemical value of organic matter of fermenter wastes in biogas production. *Plant Soil Environ*. 54 (8). p. 321 - 328.

Kasal, P., Svobodová, A., Vacek, J., Čížek, M., Novosád, J. 2016. Užití digestátu zemědělských bioplynových stanic ke hnojení brambor: certifikovaná metodika. Havlíčkův Brod: Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod. 23 s. ISBN 978-80-86940-67-0.

Lee, Ch., Kim, J., Hwang, K., O'Flaherty, V., Hwang, S. 2009. Quantitative analysis of methanogenic community dynamics in three anaerobic batch digesters treating different wastewaters. *Water Research*. 43 (1). p. 157 - 165.

Levine, R. B., Costanza-Robinson, M. S., Spatafora, G. A. 2011. *Neochloris oleoabundans* grown on anaerobically digested dairy manure for concomitant nutrient removal and biodiesel feedstock production. *Biomass and Bioenergy*. 35 (1). p. 40 - 49.

Li, X., Guo, J. B., Dong, R. J., Ahring, B. K., Zhang, W. Q. 2016. Properties of plant nutrient: Comparison of two nutrient recovery techniques using liquid fraction of digestate from anaerobic digester treating pig manure. *The Science of the total environment*. 544. p. 774 - 781.

Liedl, B. E., Bombardiere, J., Chaffield, J. M. 2006. Fertilizer potential of liquid and solid effluent from thermophilic anaerobic digestion of poultry waste. *Water Science & Technology*. 53. (8). p. 69 - 79.

Lindkvist, E., Karlsson, M. 2018. Biogas production plants; existing classifications and proposed categories. *Journal of Cleaner Production*. 174. p. 1588 - 1597.

Lukehurst, C. T., Frost, P., Al Seadi, T. 2010. Utilisation of digestate from biogas plants as biofertiliser [online]. IEA Bioenergy. [cit. 2019-10-10]. Dostupné z: <http://www.centri-force.co.uk/wp-content/uploads/2014/07/Utilisation-of-Digestate-as-Biofertiliser-V2.0.pdf>

Marada, P., Večeřová, V., Kamarád, L., Dundálková, P., Mareček, J. 2008. Příručka pro nakládání s digestátem a fugátem Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně.

Meixner, K., Fuchs, W., Valkova, T., Svardal, K., Loderer, C., Neureiter, M., Bochmann, G., Drog, B. 2015. Effect of precipitating agents on centrifugation and ultrafiltration performance of thin stillage digestate. *Separation and Purification Technology*. 145. p. 154 - 160.

Ministerstvo zemědělství České republiky 2014. Vyhláška č. 131/2014 Sb., kterou se mění vyhláška Ministerstva zemědělství č. 474/2000 Sb., o stanovení požadavků na hnojiva, ve znění pozdějších předpisů, a vyhláška č. 377/2013 Sb., o skladování a způsobu používání hnojiv [cit.

27. 02. 2020]. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy/mze/chronologicky-prehled/Legislativa-MZe_puvodni-zneni_vyhlaska-2014-131-novela-474-2000.html.

Míchal, P., Švehla, P., Páček, L., Tlustoš, P. 2017. Zpracování kapalně frakce fermentačního zbytku biologickou nitrifikací a tepelným zahuštěním. Waste Forum. s. 299 - 309 . ISSN: 1804-0195.

Míchal, P., Švehla, P., Cárces, L. M. V., Tlustoš, P. 2018. Dvoustupňová úprava fugátu jako cesta k produkci procesní vody = Two stage treatment of the liquid fraction of digestate enabling the production of proces water. Vodní Hospodářství. 68 (4). s. 2 - 4. ISSN: 1211-0760.

Møller, H. B., Lund, I., Sommer, S. G. 2000. Solid-liquid separation of livestock slurry: efficiency and cost. Bioresource Technology. 74 (3). p. 223 - 229.

Mulder, A., Van de Graaf, A. A., Robertson, L. A., Kuenen, J. G. 1995. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. FEMS Microbiology Ecology. 16 (3). p. 177 - 183.

Murtinger, K., Beranovský, J. 2008. Energie z biomasy. 2., aktualiz. vyd. Brno: ERA. 92 s. ISBN 978-80-7366-115-1.

Nedělník, J., Mrůzek, M., Dítl, P., Šulc, P., Nápravník, J., Vyškovský, K., Vičíková, M., Kubáňková, M. 2016. Nová technologie a zařízení na chemickou úpravu kapalně frakce digestátu a rozšíření jeho využití: uplatněná certifikovaná metodika. Troubsko: Zemědělský výzkum. 39 s. ISBN 978-80-88000-12-9.

Pančíková, J. 2019. Je digestát organické hnojivo – ano, nebo ne? Úroda [online]. 2019 cit. [2019-10-16]. Dostupné z: <https://www.uroda.cz/je-digestat-organicke-hnojivo-ano-nebo-ne/>

Peng, Y., Zhu, G. 2006. Biological nitrogen removal with nitrification and denitrification via nitrite pathway. Applied Microbiology and Biotechnology. 73. p. 15 - 26.

Petříková, V., Weger, J. 2015. Pěstování rostlin pro energetické a technické využití: biomasa, bioplyn, krmiva. Praha: Profi Press. 147 s. ISBN 978-80-86726-69-4.

Pitter, P. 2015. Hydrochemie. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. 792 s. ISBN 978-80-7080-928-0.

Prajapati, S. K., Kumar, P., Malik, A., Vijay, V. K. 2014. Bioconversion of algae to methane and subsequent utilization of digestate for algae cultivation: A closed loop bioenergy generation process. *Bioresource Technology*. 158. p. 174 - 180.

Quaschnig, V. 2008. Erneuerbare Energien und Klimaschutz. München: Hanser Fachbuchverlag. ISBN 9783446414440.

Renard, J. J., Calidonna, S., Henley, M. V. 2004. Fate of ammonia in the atmosphere - a review for applicability to hazardous releases. *Journal of Hazardous Materials*. 108 (1-2). p. 29 - 60.

Ricklefs, R. E., Miller, G. L. 2000. Ecology. New York: W. H. Freeman. 822 p. ISBN: 978-0716728290.

Romero-Güiza, M. S., Mata-Alvarez, J., Chimenos Rivera, J. M., Garcia, S. A. 2016. Nutrient recovery technologies for anaerobic digestion systems: An overview. *Revista ION*. 29 (1). p. 7 - 26.

Ruiz, G., Jeison, D., Chamy, R. 2003. Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration. *Water Research*. 37 (6). p. 1371 - 1377.

Schievano, A., Adani, F., Tambone, F., Imporzano, G. D., Scaglia, B., Genevini, P. L. 2009. What Is the Digestate? In: *Anaerobic digestion: opportunities for agriculture and environment*. ARAL. Milano. p. 7 - 18. ISBN: 9788890374609.

Schulz, H., Eder, B. 2004. Bioplyn v praxi: teorie – projektování – stavba zařízení – příklady. Ostrava: HEL. 167 s. ISBN 80-86167-21-6.

Straka, F., Dohányos, M., Zábranská, J., Jeníček, P., Dědek, J., Malíjevský, A., Novák, J., Oldřich, J., Kunčarová, M. 2006. Bioplyn: [příručka pro výuku, projekci a provoz bioplynových systémů]. Praha: GAS. 706 s. ISBN: 80-7238-090-6.

Szücks, B., Simon, M., Füleky, G. 2006. Anaerobic pre-treatment effects on the aerobic Degradability of waste water sludge. European Compost Network ECN e.V., Orbit 2006. 13 - 15. Part 2. p. 425 - 434.

Škorvan, O. 2012. Suchou, nebo mokrou fermentaci?. Odpady [online]. [cit. 2019-11-02]. Dostupné z <https://www.odpady-online.cz/suchou-nebo-mokrou-fermentaci/> >.

Švec, J., Kára, J., Váňa, J., Pastorek, J., Machálek, E. 2010. Využití obnovitelných zdrojů energie v zemědělství zemědělské bioplynové stanice. Chrudim: Vodní zdroje Ekomonitor. 77 s. ISBN 978-80-86832-49-4.

Švehla, P., Jeníček, P., Habart, J., Hanč, A., Černý, J. 2007. Využití akumulace dusitanů při biologickém čištění odpadních vod. Chemické Listy. 101 (10). s. 776 - 781. ISSN: 0009-2770.

Švehla, P., Jeníček, P., Habart, J., Hanč, A., Balík, J. 2010. Testování vlivu vybraných faktorů na průběh nitrifikace kalové vody. Chemické listy. 104 (5). s. 343 - 348. ISSN: 0009-2770.

Švehla, P., Pacek, L., Radechovská, H., Radechovský, J. 2016a. Sekundární vliv limitace kyslíku na zastoupení produktů nitrifikace při čištění odpadních vod. Chemické listy. 110 (2). s. 144 - 148. ISSN: 0009-2770.

Švehla, P., Radechovská, H., Míchal, P., Pacek, L., Tlustoš, P. 2016b. Řízení procesu nitrifikace kapalné frakce fermentačního zbytku s ohledem na další postup zpracování tohoto materiálu. Bratislava: Kaly a odpady 2016 17.3.2016. s. 95 - 102. ISBN: 978-80-970896-9-6.

Švehla, P., Radechovská, H., Pacek, L., Míchal, P., Hanč, A., Tlustoš, P. 2017. Nitrification in a completely stirred tank reactor treating the liquid phase of digestate: The way towards rational use of nitrogen. Waste Management. 64 (1). p. 96 - 106.

Tampio, E., Marttinen, S., Rintala, J. 2016. Liquid fertilizer products from anaerobic digestion of food waste: mass, nutrient and energy balance of four digestate liquid treatment systems. Journal of Cleaner Production. 125. p. 22 - 32.

Vadivelu, V. M., Keller, J., Yuan, Z., 2006. Effect of free ammonia and free nitrous acid concentration on the anabolic and catabolic processes of an enriched *Nitrosomonas* culture. Biotechnol Bioeng. 95 (5). p. 830 - 839.

Van Dongen, U. G. J. M., Jetten, M. S., van Loosdrecht, M. C. M. 2001. The SHARON®-Anammox® process for treatment of ammonium rich wastewater. *Water Science and Technology*. 44 (1). p. 153 - 160.

Villaverde, S., Fdz-Polanco, F., Garcia, P. A. 2000. Nitrifying biofilm acclimation to free ammonia in submerged biofilters. Start-up influence. *Water Research*. 34 (2). p. 602 - 610.

Vítěz, T., Geršl, M., Mareček, J., Kudělka, J., Krčálová, E. 2013. Mineralogicko-chemická charakteristika fermentačních zbytků při výrobě bioplynu a možnosti jejich využití pro zlepšení vlastnosti půd. Brno: Mendelova univerzita v Brně. 47 s.

Wang, J., Yang, H., Wang, F. 2014. Mixotrophic cultivation of microalgae for biodiesel production: status and prospects. *Applied biochemistry and biotechnology*. 172 (7). p. 3307 - 3329.

Weiland, P. 2010. Biogas production: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 85. p. 849 - 860.

Xia, A., Murphy, J. D. 2016. Microalgal Cultivation In Treating Liquid Digestate From Biogas Systems. *Trends in biotechnology*. 34 (4). p. 264 - 275.

Xu, J., Vujic, T., Deshusses, M. A. 2014. Nitrification of anaerobic digester effluent for nitrogen management at swine farms. *Chemosphere*. 117. p. 708 - 714.

Zhang, L., Yang, J., Furukawa, K., 2010. Stable and high-rate nitrogen removal from reject water by partial nitrification and subsequent anammox. *Journal of bioscience and bioengineering*. 110 (4). p. 441 - 448.

