

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Nitrifikace amonného dusíku obsaženého v kapalně fázi
digestátu jako předstupeň biologického odstraňování
sulfanu z bioplynu**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Pavel Růžička

Vedoucí práce: Ing. Pavel Švehla, PhD.

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Nitrifikace amonného dusíku obsaženého v kapalně fázi digestátu jako předstupeň biologického odstraňování sulfanu z bioplynu" jsem vypracoval 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 autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval panu Ing. Pavlu Švehlovi, PhD. za jeho vstřícnost, pečlivý a odborný dohled během vytváření této práce.

Nitrifikace amonného dusíku obsaženého v kapalně fázi digestátu jako předstupeň biologického odstraňování sulfanu z bioplynu

Souhrn

Jedním z výstupů z bioplynové stanice je odpad po fermentaci zvaný digestát, dalším poté sirovodík, který je znečišťující složkou při fermentaci vznikajícího bioplynu, jehož další použití je přítomností sirovodíku ztíženo. Snaha o zefektivnění procesů a využití všech výstupů vedla k úvahám o možnosti zpracování kapalně fáze digestátu takovým způsobem, aby mohla sloužit jako zdroj oxidovaných forem dusíku využitelných jako akceptor elektronů pro biologické odstraňování sulfanu z bioplynu. Jako podklad byl vybrán proces autotrofní nitrifikace pro zpracování digestátu a proces autotrofní denitrifikace pro odstranění sirovodíku z bioplynu. Sulfan je možné vyprat z bioplynu do alkalického roztoku a takto vzniklé sulfidy odstranit biologickou cestou, tedy právě autotrofní denitrifikací. K autotrofní denitrifikaci potřebujeme oxidované formy dusíku, které je možné získat přímo v objektu bioplynové stanice při čistění kapalně fáze digestátu nitrifikací. Tato práce se zabývá vlivem různých faktorů na účinnost a zastoupení produktů nitrifikace kapalně fáze digestátu.

Cílem této práce bylo prověřit fungování autotrofní nitrifikace v kontinuálním reaktoru plněném tekutou fází digestátu za různých reakčních podmínek. V rámci práce byly v laboratorních podmínkách optimalizovány podmínky pro nitrifikaci amoniakálního dusíku (N-amon) obsaženého v kapalně fázi digestátu za účelem následné aplikace dusičnanového, resp. dusitanového dusíku jako akceptoru elektronů pro odstraňování sulfidické síry obsažené původně v bioplynu.

Bylo zjištěno, že i v tekuté fázi digestátu s extrémními vstupními hodnotami N-amon přes 1 g/l může probíhat uspokojivě nitritace. Zároveň byl potvrzen inhibiční vliv FNA a NO_2^- na průběh nitratice, který se projevil po zvýšení objemového zatížení B_V na hodnotu $0,3 \text{ kg.m}^{-3}.\text{den}^{-1}$ a s ním spojeným poklesem pH. Inhibiční vliv koncentrace FNA na průběh nitritace nebyl potvrzen.

Klíčová slova: dusík, síra, nitrifikace, autotrofní denitrifikace, bioplynové stanice, kapalně fáze digestátu

Nitrification of Ammonia Contained in Liquid Phase of Digestate as the First Stage of Biological Hydrogen Sulphide Removal from Biogas

Summary

One of the biogas plant's outputs is a fermentation waste called digestate. One of the other outputs is hydrogen sulphide, which negatively influences the quality of biogas produced during fermentation, and the further use of which is made more difficult by the presence of hydrogen sulphide. Efforts to make fermentation processes more effective and to use all outputs led to considerations about the digestate liquid phase to be treated in such a way as to make the liquid phase a donor of oxidized forms of nitrogen. These forms could then become electron acceptors for biological removal of hydrogen sulphide from biogas. Autotrophic nitrification was chosen for treatment of digestate and autotrophic denitrification was chosen for removal of hydrogen sulphide from biogas. Hydrogen sulphide can be removed from biogas by dissolving it in an alkaline solution. The resulting sulphides are subsequently removed by autotrophic denitrification. For autotrophic denitrification, oxidized forms of nitrogen are needed. These oxidized forms can be obtained in a biogas plant in the process of digestate liquid phase nitrification. This thesis deals with the impact of different factors on nitrification effectiveness and the content of nitrification's outputs.

The aim of the thesis is to verify the functioning of autotrophic nitrification in a continuous reactor filled with liquid phase of digestate under different reaction conditions. For the purposes of the thesis, the conditions for nitrification of ammonia nitrogen contained in the liquid phase of digestate were optimized in a laboratory for further use of nitrate and nitrite as electron acceptors for the removal of sulphidic sulphur contained in biogas.

It emerged that the nitrification process can be carried out effectively even in the digestate liquid phase with ammonia nitrogen input values above 1 g/l. At the same time the inhibitory effect of FNA and NO₂⁻ on the nitrification process has been confirmed. This effect appeared after increasing the nitrogen loading rate to 0.3 kg.m⁻³.day⁻¹ and the associated pH decrease. Inhibitory effect of FNA on nitrification has not been confirmed.

Keywords: nitrogen, sulphur, nitrification, autotrophic denitrification, biogas plants, liquid phase of digestate

Obsah

1	Úvod.....	- 1 -
2	Vědecká hypotéza a cíle práce.....	- 2 -
3	Přehled literatury.....	- 3 -
3.1	Bioplyn.....	- 3 -
3.1.1	Bioplynové stanice.....	- 6 -
3.1.2	Biochemické principy tvorby bioplynu	- 7 -
3.1.3	Čištění bioplynu.....	- 9 -
3.1.4	Odstraňování H ₂ S	- 9 -
3.1.4.1	Chemické.....	- 10 -
3.1.4.2	Fyzikální.....	- 10 -
3.1.4.3	Biologické.....	- 11 -
3.1.5	Digestát	- 12 -
3.1.5.1	Chemické složení digestátu	- 12 -
3.1.5.2	Využití a úprava digestátu	- 13 -
3.2	Odstraňování N-amon z odpadních vod s důrazem na nitrifikaci.....	- 15 -
3.2.1	Nitrifikace amonného dusíku.....	- 15 -
3.2.1.1	Nitritace	- 16 -
3.2.1.2	Nitratace	- 16 -
3.2.1.3	Přehled nitrifikačních bakterií	- 16 -
3.2.1.4	Nové biologické postupy v odstraňování N-amon	- 17 -
3.2.1.5	Vliv inhibičních faktorů na průběh nitrifikace	- 19 -
3.2.2	Specifika nitrifikace odpadních vod s vysokým obsahem N-amon.....	- 20 -
3.2.3	Denitrifikace	- 22 -
3.2.3.1	Autotrofní denitrifikace se sírou jako donorem elektronů	- 23 -
4	Materiál a metody	- 26 -
4.1	Zdroj kapalné fáze digestátu	- 26 -
4.2	Popis laboratorního modelu	- 27 -
4.3	Analytické metody	- 29 -
4.3.1	Stanovení N-amon	- 30 -
4.3.2	Stanovení N-NO ₂ ⁻	- 30 -
4.3.3	Stanovení N-NO ₃ ⁻	- 30 -
4.3.4	Stanovení CHSK.....	- 31 -
4.3.5	Výpočet FA, FNA	- 31 -
4.3.6	Výpočet objemového zatížení.....	- 32 -
4.3.7	Výpočet účinnosti odstraňování N-amon	- 32 -
5	Výsledky	- 33 -

5.1	První etapa.....	- 34 -
5.1.1	Objemové zatížení	- 34 -
5.1.2	Formy N v odtoku.....	- 34 -
5.1.3	Koncentrace FA a FNA.....	- 35 -
5.1.4	Hodnota pH a koncentrace O ₂	- 37 -
5.1.5	Rychlost a účinnost odstraňování N-amon	- 38 -
5.1.6	Hodnota CHSK a rychlost odstranění CHSK.....	- 38 -
5.1.7	Koncentrace N-amon	- 39 -
5.2	Druhá etapa	- 40 -
5.2.1	Objemové zatížení	- 40 -
5.2.2	Formy N v odtoku.....	- 40 -
5.2.3	Koncentrace FA a FNA.....	- 41 -
5.2.4	Hodnota pH a koncentrace O ₂	- 43 -
5.2.5	Rychlost a účinnost odstraňování N-amon	- 43 -
5.2.6	Hodnota CHSK a rychlost odstranění CHSK.....	- 44 -
5.2.7	Koncentrace N-amon	- 45 -
6	Diskuze	- 47 -
6.1	Zpracování.....	- 47 -
6.2	Faktory ovlivňující zastoupení produktů nitrifikace	- 47 -
6.3	Účinnost odstranění N-amon.....	- 50 -
6.4	Účinnost odstranění CHSK.....	- 50 -
6.5	Optimalizace vzhledem k následnému využití nitrifikované tekuté fáze digestátu pro autotrofní denitrifikaci se sírou.....	- 51 -
6.6	Návrhy na směrování dalšího výzkumu.....	- 52 -
7	Závěr	- 53 -
8	Seznam literatury	- 54 -

1 Úvod

Využívání přírodních zdrojů je v dnešní době podrobováno stále větším nárokům na maximální efektivitu. To se týká i využívání všech druhů odpadů z lidské činnosti, které se stávají předmětem zkoumání za účelem jejich dalšího využití, popř. recyklace. Uvádí se například, že recyklováním odpadu z domácností je možné nahradit 34 – 45 % průmyslově vyráběných hnojiv, které jsou dnes používány. Takováto úroveň recyklace bude v budoucnu nezbytná pro dosažení udržitelného vztahu mezi životním prostředím a stále se zvětšujícími lidskými zásahy do něj.

Dalším výrazným faktorem pro rozvoj využívání přírodních zdrojů je podpora obnovitelných zdrojů energie, která mimo jiné stimuluje i výzkum energetického využití přírodních zdrojů i odpadů, což se týká i bioplynových stanic, které přeměňují organické látky na bioplyn následně spalovaný v kogeneračních jednotkách za vzniku elektrické energie a tepla. Bioplynové stanice mohou být zásobovány jak rostlinnými produkty pěstovanými speciálně pro tento účel, tak produkty ve své podstatě již odpadními, jako je např. kal z čistíren odpadních vod či živočišná kejda. Ani odpadní produkty z bioplynové stanice nejsou pro další využití nezajímavé. Pro svůj vysoký obsah dusíkatých látek jsou po předchozí úpravě nejčastěji využívány jako organické hnojivo.

Další snahou o zvýšení efektivity bioplynového hospodářství je využití kombinace různých produktů z jednoho procesu, tj. z procesu výroby bioplynu. Takto je možné využít vzájemnou reakci bioplynu obsahujícího redukovanou síru (sulfan H_2S či sulfid) a odpadu z bioplynové stanice (digestát) prošlého nitrifikací, který obsahuje oxidovaný dusík (ve formě dusičnanů či dusitanů), jejímž výsledkem je oxidace síry a redukce dusíkatých látek z digestátu prošlého nitrifikací na plynný dusík.

Tato práce je o sledování a hodnocení průběhu nitrifikace tekuté fáze digestátu za účelem ověření jejího možného využití pro čištění bioplynu od sulfanu pomocí reakce zmíněné v předchozím odstavci.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Základní hypotézou práce je předpoklad, že bude možné vyvinout technicky a ekonomicky přijatelné varianty biologického odsiřování bioplynu založené na biochemické reakci mezi oxidovanými formami dusíku a sulfidickou sírou.

Cílem práce je posoudit možnost využití amonného dusíku obsaženého v kapalně fázi digestátu k biologickému odsiřování bioplynu produkovaného v objektech bioplynových stanic. V rámci práce budou v laboratorních podmínkách optimalizovány podmínky pro nitrifikaci N-amon obsaženého v kapalně fázi digestátu za účelem následné aplikace dusičnanového, resp. dusitanového dusíku jako donoru elektronů pro odstraňování sulfidické síry obsažené původně v bioplynu.

3 Přehled literatury

Jako teoretický úvod k experimentu a jeho výsledkům, uvedeným v praktické části této práce, budou nejdříve popsány technologie a procesy, které s experimentem souvisí. Setkávají se zde totiž technologicky i chemicky odlišné procesy, a sice anaerobní procesy v bioplynových stanicích, procesy odstraňování N-amon při čištění odpadních vod a nakonec autotrofní denitrifikace se sírou jako donorem elektronů, které je zde použito pro čištění bioplynu. Tyto technologie a procesy budou v následujícím textu blíže představeny.

3.1 Bioplyn

Bioplyn je významnou energetickou surovinou zejména pro vysoký obsah methanu. Synonymem pro bioplyn je též název kalový plyn, což je bioplyn vznikající z kalu z čistíren odpadních vod, či skládkový plyn, což je bioplyn vznikající na skládkách. Jak uvádí Chudoba et al. (1991), obsahuje bioplyn z dobře pracujících reaktorů 65 až 75 % CH₄ a 25 – 35 % CO₂. Složení a poměr jednotlivých látek v bioplynu (Tab. 1), stejně jako specifická produkce a výhřevnost, záleží na složení vstupních surovin (Tab. 2).

Tab. 1 Složení a poměr jednotlivých látek v bioplynu (Petersson, 2013)

Látka	Jednotka	Skládkový plyn	Plyn z anaerobního reaktoru
Methan	Mol-%	30 - 60	50 - 80
CO ₂	Mol-%	15 - 40	15 - 50
Dusík	Mol-%	0 - 50	0 - 5
Kyslík	Mol-%	0 - 10	0 - 1
Sulfan	mg/m ³	0 - 1000	100 - 10000
Amoniak	mg/ m ³	0 - 5	0 - 100
Celkový chlor	mg/ m ³	0 - 800	0 - 100
Celkový fluor	mg/ m ³	0 - 800	0 - 100
Siloxany	mg/ m ³	0 - 50	

Tab. 2 Specifická produkce bioplynu (Chudoba et al., 1991)

Látka	Specifická produkce		
	bioplynu (m ³ plynu/kg rozložené látky)	Obsah CH ₄ v plynu (%)	Výhřevnost (MJ/m ³)
Tuky	1,125 – 1,515	62 - 77	23,45
Uhlovodíky	0,79 – 0,875	50	17,76
Bílkoviny	0,58 – 0,75	71 - 84	24,87
Čistírenský kal	0,8 – 1,3	65 - 75	23,00
Prasečí exkrementy	1,07<	64 - 70	22,00
Odpadní vody z výroby pektinu	0,56<	50	17,00
Odpadní vody z výroby droždí	0,5 – 0,7	66 - 71	22,00

Jak vyplývá z Tab. 2, surovinou s největší specifickou produkcí bioplynu jsou tuky, které mají jak vysokou produkci bioplynu na 1 kg rozložené látky, tak vysoký poměr metanu ve vzniklém bioplynu i vysokou výhřevnost. Nízké hodnoty oproti tomu vykazují uhlovodíky či odpadní vody z výroby pektinu. U bílkovin je třeba podotknout, že suroviny s větším množstvím bílkovin, a tedy i vyšším obsahem N-amon, mohou inhibovat aktivitu mikroorganismů v reaktoru a snižovat produkci bioplynu (Chudoba et al., 1991). Produkce bioplynu však závisí nejen na vstupních surovinách, ale také na konkrétních podmínkách daného reaktoru (např. doba zdržení, teplota). Z toho důvodu je rozptyl hodnot u jednotlivých surovin značný. Produkci bioplynu ovlivňuje též množství sušiny v surovině. Čím větší množství sušiny, tím větší produkce bioplynu, protože je to právě organická sušina, která je mikroorganismy zpracovávána a přeměňována na bioplyn.

Mezi produkty methanogeneze, mimo zmíněný metan a oxid uhličitý, patří též sulfan. Je produkován anaerobními bakteriemi se schopností redukovat síru (fungující v této reakci jako konečný akceptor elektronů) na sulfan. Bakterie v průběhu redukce síry získávají

potřebnou energii a vzniklý sulfan vylučují jako nepotřebný odpad. Z fylogenetického hlediska se jedná o 60 rodů obsahujících na 220 druhů (Petersson, 2013). V bioplynu se sice nacházejí i další formy síry (např. methylmerkaptan, ethylmerkaptan, sirouhlík), ale pouze v minoritních koncentracích, a proto můžeme problém síry zúžit pouze na sulfan (Straka et Ciahotný, 2010). Jak uvádí Murphy a Thamsiriroj (2013), obsah sulfanu v bioplynu je obvykle vyšší při použití živočišného substrátu než rostlinného, a to z důvodu vyššího obsahu bílkovin v živočišných substrátech. Bílkoviny se skládají ze základních stavebních kamenů aminokyselin, z nichž některé obsahují síru (např. methionin či cystein) a ta se při anaerobním rozkladu může uvolňovat do vznikajícího bioplynu. Vedle bílkovin může být vstupním zdrojem síry i anorganický síran, neboť ve složitých a samovolně se vyvíjejících společenstvech bakterií se vyskytují i sulfátredukující druhy. V prostředí anaerobní digesce jsou sírany využívány sulfátredukujícími bakteriemi jako elektronové akceptory v tzv. disimilačních redukcích síranů. Sulfátreduktanty jsou ale též schopny nahradit svou potřebu síranů i jinými anorganickými, síru obsahujícími anionty, např. siřičitanem anebo thiosíranem (Straka et Ciahotný, 2010). Některé druhy sulfátreduktantů jsou schopny aktivity i v nepřítomnosti síranů, pak ale vystupují v syntrofické symbióze s hydrogenotrofními methanogeny a pracují v tomto uskupení jako vodík produkující autogeny. Mezi sulfátreduktanty a methanogeny existuje jak soutěž o substrát, tak i kooperace. Methanogeny mohou využívat kyselinu octovou, kterou produkují neúplně rozkládající suflátreduktanty. Je to však kooperace daná pouze okamžitou výhodností. Sulfátreduktanty jsou schopny i potlačovat nárůsty methanogenních kultur, pokud mají samy dostatek sulfátů a pokud hovoří energetický výtěžek reakcí ve prospěch jejich metabolismu (Straka et Ciahotný, 2010; Petersson, 2013). Obsah sulfanu v bioplynu z různých substrátů uvádí tabulka (Tab. 3).

Tab. 3 Obsah sulfanu v bioplynu z různých substrátů (Straka et Ciahotný, 2010)

Druh substrátu	Obsah sulfanu v bioplynu [mg/m ³]
Dřevní biomasa, papír, celulóza, rostlinný odpad	< 100
Kaly z čištění městských splaškových vod	300 - 1500
Živočišné odpady (skot)	500 - 800
Živočišné odpady (drůbež, vepři)	4000 - 6000
Potravinářské odpady s vysokým obsahem proteinů	

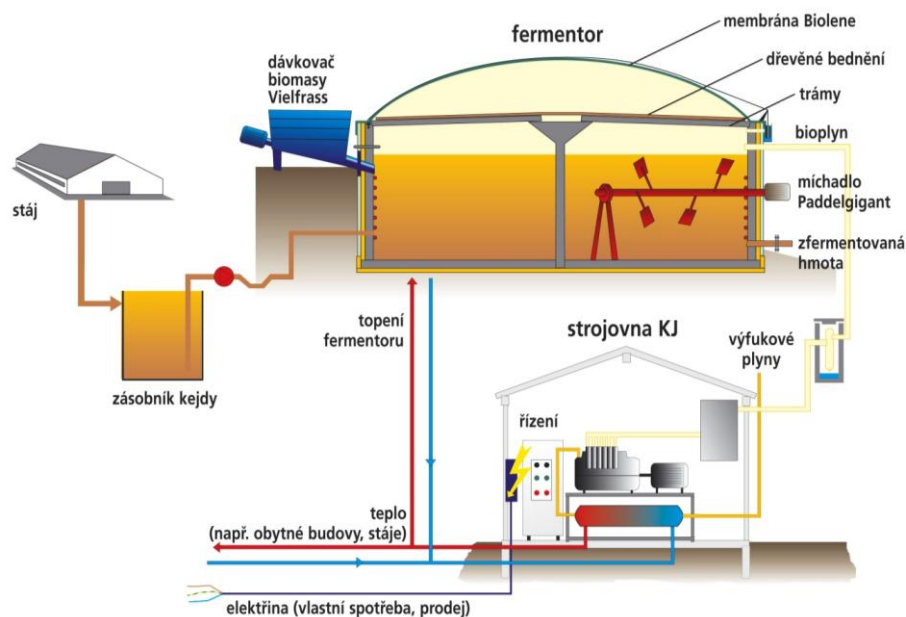
Mezi další příměsi bioplynu patří voda, či přesněji vodní pára, jejíž obsah závisí mimo jiné na teplotě a tlaku v reaktoru. Voda se spolu se sulfátreduktanty podílí na technologicky problematické korozi kovů. Kovové materiály se ve vodě polarizují ztrátou pozitivně nabitých kovových iontů (anodická reakce). Zbylé elektrony v kovu redukují vodík z vody na atomární vodík (katodická reakce). Atomární nebo molekulární vodík zůstávají na povrchu, kde se ustavuje dynamická rovnováha. Sulfátreduktanty trvale odstraňují vodík z povrchu kovu, oxidují ho se sírany jako elektronovým akceptorem (katodická depolarizace) a vzniklé sulfidy reagují s uvolněnými Fe^{2+} ionty. Další typ koroze spojené se suflátreduktanty se vyskytuje v prostředí, kde se střídají aerobní a anaerobní podmínky. Produkované sulfidy se redukují na síru, polysulfidy nebo sírany, které jsou vysoce korozivní. Anaerobní koroze pokračuje na místě, kde začala, takže je spíše důlkového typu. Dále voda reaguje s CO_2 za vzniku H_2CO_3 a snižuje energetickou účinnost bioplynu při vysokém obsahu vlhkosti. Další příměsí bioplynu je amoniak vznikající během hydrolyzy materiálů obsahujících proteiny. Vysoká koncentrace amoniaku v reaktoru může způsobovat inhibici tvorby metanu a tedy snížení účinnosti celého zařízení (Straka et Ciahotný, 2010; Petersson, 2013).

3.1.1 Bioplynové stanice

Bioplynové stanice slouží k bakteriální degradaci biomasy za anaerobních podmínek za současného vzniku bioplynu. Biomasa (např. substrát pocházející z rostlinné či živočišné produkce, biologický odpad z domácností a lidských sídel obecně, průmyslové biologické odpady) je přeměňována na bioplyn, který může být dále přeměněn na elektrickou a tepelnou energii (Bachmann, 2013).

Základními technologickými prvky každé bioplynové stanice, bez ohledu na její velikost, jsou zásobník biomasy, homogenizační jímka (uskladnění a úprava vedoucí ke zvětšení specifického povrchu biomasy), reaktor (též uváděno jako fermentor), kde probíhá vlastní mikrobiální aktivita; možnosti konstrukce jsou široké a závisí mimo jiné na charakteristice substrátu, požadované teplotě směsi, případném riziku kontaminace či způsobu míchání), zásobník bioplynu (jehož velikost závisí na následném způsobu zpracování bioplynu), vlastní zařízení na transformaci bioplynu (kogenerační jednotky pro tvorbu elektrické a tepelné energie) a pomocná zařízení (zařízení na čištění bioplynu, potrubí, systém ventilů, pumpy) (Bachmann, 2013; Dohányos, 1998). Jedna z možných technických variant

bioplynové stanice je zobrazena na Obr. 1. Mimo samotný bioplyn vzniká vedlejší produkt zvaný digestát (Pedrazzi, 2015), o němž bude blíže pojednáno dále.

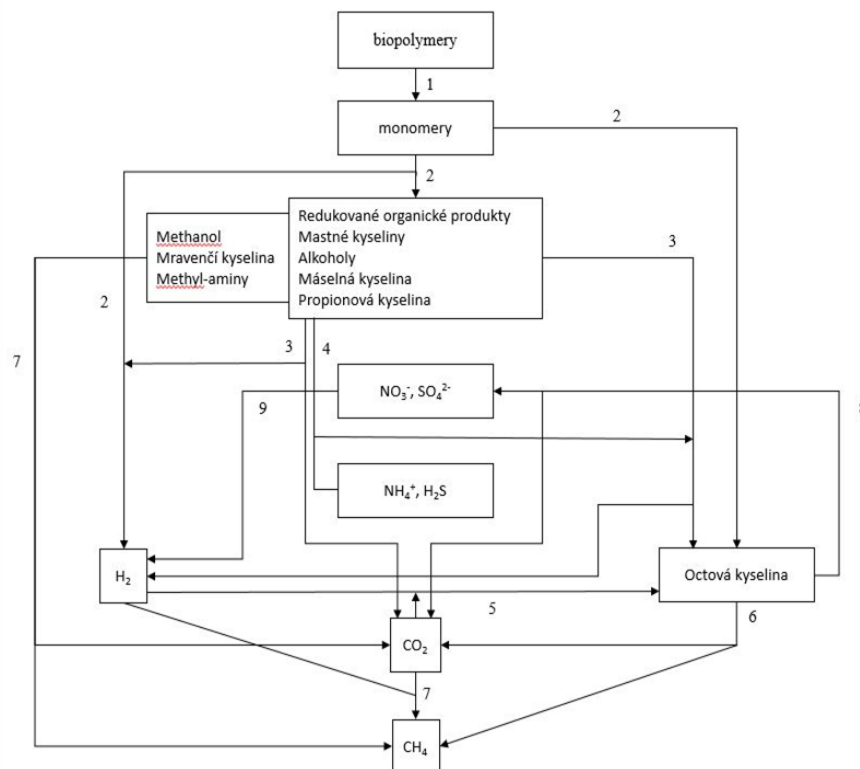


Obr. 1 Schéma bioplynové stanice (Agrikomp, 2015)

3.1.2 Biochemické principy tvorby bioplynu

Jedná se o komplexní mikrobiální proces, nazývaný též anaerobní fermentace, při kterém není přítomen ani rozpuštěný kyslík, ani dusičnany či dusitany. Konečným akceptorem elektronů je zde vlastní organická látka (část molekuly se oxiduje, část se redukuje). Anaerobní rozklad organických látek je několikastupňový proces na sebe navazujících biologických procesů, za účasti několika druhů anaerobních mikroorganismů. Přestože proces anaerobní fermentace postupuje přes několik stádií, probíhají tato ve většině technických zařízení simultánně. Při dosažení stadia tzv. stabilizované methanogeneze jde vlastně o dlouhodobě udržovanou rovnováhu mezi navazujícími procesy, hlavně pak mezi procesy acidogenními a methanogenními. Jednotlivé stupně jsou hydrolyza, acidogeneze, acetogeneze a methanogeneze, jejímiž hlavními konečnými produkty jsou methan a oxid uhličitý (Straka et Ciahotný, 2010; Dohányos, 2000). Procesu se účastní zejména bakterie a v případě methanogeneze archebakterie, ale mohou být zastoupeny i skupiny vyšších organismů jako prvoci nebo houby či kvasinky. Mikrobiální společenstvo obsahuje rozmanité rody obligátně i fakultativně anaerobních bakterií (Chudoba et Dohányos, 1991).

Prvé fáze rozkladu organické hmoty nejsou uskutečňovány vlastními methanogeny. Hydrolytické rozklady makromolekulárních látek především typu polysacharidů, lipidů a proteinů mohou probíhat jak v přítomnosti, tak i v nepřítomnosti vzduchu, činností fakultativních anaerobů a později i ryzích anaerobů v tak zvané kyselinové či kyselinotvorné (acidogenní) fázi. Primární štěpení polysacharidů, hydrolýza triglyceridů i hydrolýza a deaminace peptidů poskytují hlavně jednoduché cukry a alifatické karboxylové kyseliny. Jednoduché cukry, nižší alifatické kyseliny a alkoholy jsou pak společenstvy dalších acidogenních a tzv. syntrofních mikroorganismů dále zpracovávány na kyseliny s kratšími řetězci, alkoholy a plyny zastoupené hlavně oxidem uhličitým a vodíkem. Protože tato fáze, někdy též souhrnně nazývána jako „kyselá“, je uskutečňována mikrobiálními společenstvy, která již jsou schopna pracovat i ve zcela bezkyslíkatém prostředí, vytvářejí se v jejím průběhu podmínky pro současný rovnovážný rozvoj symbiotických methanogenů, přičemž i primární hydrolytické procesy se pak realizují v plně anaerobních podmínkách (Straka et Ciahotný, 2010). Vzájemná vazba procesů a produktů při tvorbě bioplynu je znázorněna na následujícím obrázku (Obr. 2).



Obr. 2 Vzájemná vazba procesů a produktů při tvorbě bioplynu (Chudoba et Dohányos, 1991)

- 1 – hydrolýza organických polymerů na jednotlivé monomery
- 2 – acidogeneze – přeměna organických monomerů na vodík, oxid uhličitý apod.
- 3 – acetogeneze – oxidace redukovaných organických produktů na vodík, oxid uhličitý a kyselinu octovou
- 4 – oxidace redukovaných organických produktů na oxid uhličitý a kyselinu octovou
- 5 – acetogenní respirace oxidu uhličitého a vodíku
- 6 – methanogeneze z kyseliny octové
- 7 – methanogeneze z jednoduhlíkatých substrátů, oxidu uhličitého a vodíku
- 8 – oxidace octové kyseliny na oxid uhličitý
- 9 – oxidace vodíku

3.1.3 Čištění bioplynu

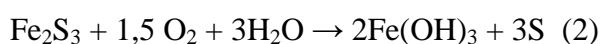
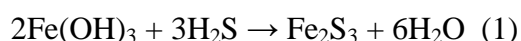
Čištění a úprava bioplynu není v mnoha případech považována za nutnou záležitost. Bylo by však nevhodné pominout veškeré procesy zlepšující kvalitu bioplynu, neboť často lze takto odstranit mnohé provozní problémy. Především je z bioplynu odstraňována nadměrná vlhkost, oxid uhličitý a sulfan (Straka et Ciahotný, 2010). Z pohledu této práce se dále budeme věnovat posledně zmiňovanému sulfanu. Přítomnost sulfanu při dalším zpracování bioplynu může vést ke korozi, jak již bylo popsáno výše.

3.1.4 Odstraňování H₂S

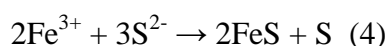
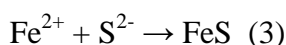
Jak uvádí Straka et Ciahotný (2010), bylo by pro odstraňování sulfanu z bioplynu možné použít i technologie používané v jiných průmyslových odvětvích (provozy tlakových plynáren, zpracování vysoce siřných rop), jako je například vypírka sulfanu hluboce zchlazeným methanolem, při kterém lze zároveň odstranit i CO₂. Tyto metody jsou však technologicky, a tedy i ekonomicky velmi nákladné a pro využití při čištění bioplynu nevhodné. Odsíření bioplynu může proběhnout buď v reaktoru, nebo mimo něj. Obecně lze technologie odstraňování sulfanu z bioplynu rozdělit na biologické, fyzikální a chemické (Petersson, 2013).

3.1.4.1 Chemické

Mimo reaktor je možné chemické metody uskutečnit s využitím klasického sorpčního postupu na tzv. plynárenské čistící hmotě, jejíž hlavní součástí je hydratovaný oxid železitý (rovnice 1). Sulfan je poté současně nebo následně při další oxidaci převáděn (regenerován) kyslíkem ze vzduchu na elementární síru (rovnice 2) (Straka et Ciahotný, 2010; Dohányos, 2000).

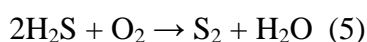


Další možností jsou odsiřovací procesy prováděné in-situ formou přidáním solí železa. Metoda využívá soli těžkých kovů, které v reakční směsi reagují se vznikajícím sulfanem za tvorby nerozpustných sulfidů (Straka et Ciahotný, 2010; Dohányos, 2000). Jako zdroje železa lze použít FeCl_2 , FeCl_3 nebo FeSO_4 . Vzniklý FeS opustí reaktor spolu s digestátem (rovnice 3, 4) (Petersson, 2013).



3.1.4.2 Fyzikální

V zařízeních produkujících bioplyn byly úspěšné aplikace potvrzeny fyzikálními metodami pro využití dalšího postupu – odsíření při adsorpci na aktivním uhlí. Pokud je sorbován i resorbován plyn bez přítomnosti kyslíku, je možno z uhlí odhánět nezreagovaný sulfan. V přítomnosti kyslíku však na aktivních površích zachycené sulfidy rychle podlehnou oxidaci na elementární síru v exotermní reakci (rovnice 5).



Takto nasycené uhlí je třeba buď regenerovat extrakčně anebo termicky za teplot

nejméně 450 – 500 °C. Při nižších teplotách je desorpce síry velmi zdlouhavá a neúplná. Tato desorpce však musí probíhat v inertním plynu, aby síra nebyla spalována na SO₂ (Straka et Ciahotný, 2010).

3.1.4.3 Biologické

Tato metoda je založena na biooxidačních a kontaktních reakcích přímo v reagující suspenzi anebo ve zvláštní kultuře bakterií, kde jsou rozpuštěné sulfidy biologicky oxidovány pomocí vnášeného kyslíku (množství přidávaného kyslíku je potřeba udržet do 7 % z celkového objemu vyrobeného bioplynu, aby se předešlo vzniku výbušné směsi methanu a kyslíku). Tento proces se též nazývá mikroaerofilní oxidace. (Straka et Ciahotný, 2010). Může probíhat, jak přímo v samotném reaktoru, tak za ním – nejčastěji s využitím biologických filtrů s kolonami obsahujícími kolonie příslušných bakterií (Petersson, 2013). Vedle přímého dmychání vzduchu do plynového prostoru reaktoru se aplikuje i dmychání vzduchu do prací kolony za reaktorem, kde cirkuluje roztok obsahující chemolitotrofní bakterie. V tomto roztoku se koncentruje elementární síra, koncentrované suspenze se odpouštějí do zbytkového digesčního substrátu.

Kyslík dodávaný v malých množstvích je velmi rychle spotřebováván, přičemž sulfidy jsou většinou oxidovány na elementární síru (sírné bakterie mohou oxidovat sulfid až na síran, ovšem v anaerobních podmínkách bývají vždy přítomny i protisměrně působící suflátoreduktanty, a tak v produktech této „parciální biooxidace“ obvykle převládá elementární síra). Biooxidace sulfanu resp. sulfidů probíhá v oxických mikronikách uvnitř anoxického prostředí. V anaerobních prostředích s přítomností kyslíku se aktivují chemolitotrofní bezbarvé bakterie rodů např. *Thiobacillus*, *Beggiatoa* nebo *Thiothrix*. V anoxických prostředích využívají denitrifikační chemolitotrofy přítomných dusičnanů k oxidaci sulfidu na síru (Straka et Ciahotný, 2010). O autotrofní denitrifikaci se sírou bude podrobněji pojednáno dále.

Jak uvádí Nishimura a Yoda (1997), při použití metody založené na vypírání sulfanu z bioplynu aktivační směsí¹ ve speciální zkrápěné koloně je možné dosáhnout snížení jeho

¹ Směs odpadní vody smíšená s recirkulovaným, aktivovaným kalem, která vzniká v rámci aktivačního procesu při čištění odpadní vody. Smíchání probíhá v aktivační nádrži, ze které směs pokračuje do nádrže dosazovací,

obsahu v bioplynu z původních 2000 ppm na 20 ppm. Aktivační směs z aktivace sorbuje většinu sulfanu z bioplynu (závisí na konstrukci kolony a koncentraci H_2S v bioplynu), zachycený H_2S je pak následně v aktivaci zoxidován na SO_4^{2-} .

3.1.5 Digestát

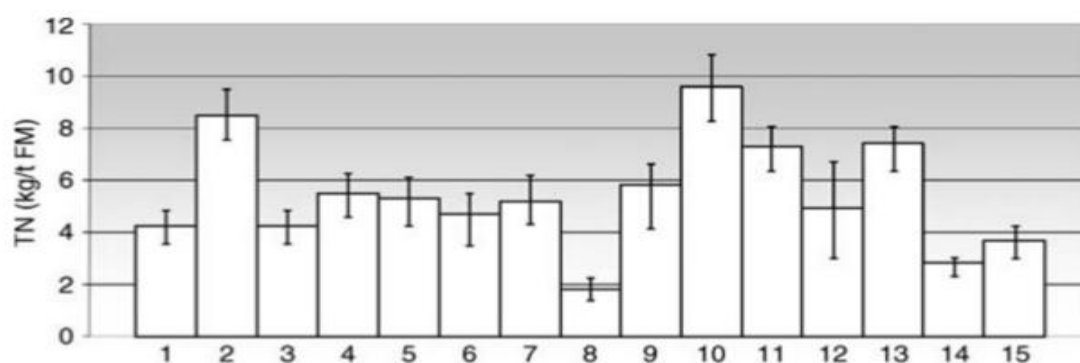
Vedlejší produkt anaerobní fermentace v bioplynových stanicích, který sestává z kapalně fáze a pevné fáze. Digestát můžeme dělit dle surovin, z jakých vzniká (ze statkových hnojiv a materiálů rostlinného charakteru, z odpadů, z produktů živočišného původu), dle obsahu sušiny a dle způsobu jeho využití. Digestát může být mimo jiné využit jako hnojivo v souladu s vyhláškou č. 474/2000 Sb., o stanovení požadavků na hnojiva. Musí však obsahovat minimálně 25% spalitelných látek, 0,6% dusíku v sušině a je omezeno dávkování na 30t/ha nejvýše jednou na tři roky. Využití neupraveného digestátu jako hnojiva je však v některých zemích zakázáno a mimo malé uzavřené systémy není ani ekonomicky výhodné (Botheju et al., 2010), jak bude uvedeno dále.

3.1.5.1 Chemické složení digestátu

Chemická charakteristika digestátu závisí, stejně jako složení bioplynu, na složení vstupního substrátu. Obecně lze ale říci, že zejména digestát pocházející z anaerobního zpracování hnoje obsahuje vysoké koncentrace organického i anorganického dusíku, jak ukazuje i Graf 1. Obsah dusíku v digestátu je ovlivněn zejména přítomností bílkovin v substrátu. Proto má vysoký obsah dusíku digestát pocházející ze surovin ze zpracování živočišného odpadu (jateční odpad, hnůj, prošlé potraviny,..), jak též ukazuje Graf 1.

Při vysokém obsahu N-amon v digestátu je výhodné jeho využití jakožto hnojiva, ovšem s potřebou jeho předúpravy, jak bude uvedeno dále. V oblastech s rozvinutou živočišnou výrobou se tak zpracování hnoje anaerobní fermentací stává dobrým řešením, které mimo snižování negativních dopadů na životní prostředí nabízí i benefity v podobě zvýšení kvality digestátu jakožto hnojiva, redukci zápachu, patogenních mikroorganismů a produkci obnovitelného zdroje energie – bioplynu (Rico et al., 2011).

Graf 1 Příklady celkové koncentrace dusíku (TN) v různých druzích surovin (v kg na tunu čerstvé hmoty) (Al Seadi et al., 2013)



Tab. 4 Legenda ke grafu 1

1	Kukuřičná siláž, travní siláž, slunečnice, jetel	2	Hnůj, kukuřičná siláž, zemědělské odpady
3	Kukuřičná siláž, travní siláž	4	Kukuřičná siláž, obilná siláž, zemědělské odpady
5	Energetické plodiny a hnůj	6	Energetické plodiny
7	Energetické plodiny	8	Biologický odpad, zbytky jídla
9	Biologický odpad, prošlé jídlo, krev	10	Hnůj, jateční odpad, biologický odpad, kukuřice
11	Prošlé jídlo, krev, biologický odpad	12	Biologický odpad
13	Jateční odpad	14	Pivovarské mláto
15	Lihovarnické výpalky		

3.1.5.2 Využití a úprava digestátu

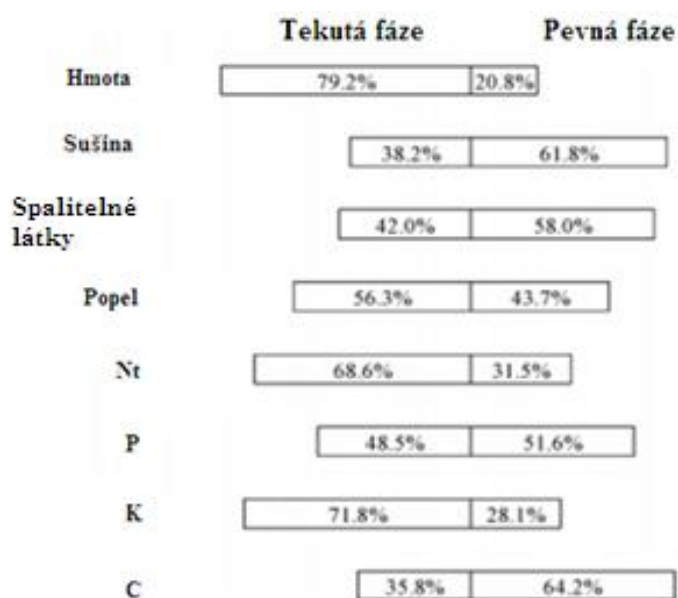
Pro další využití (např. jako hnojivo) je ve většině případů digestát dále upravován. Je samozřejmě možné jej použít i bez dalších úprav, ale náklady spojené s následným transportem, uskladněním a aplikací by byly příliš vysoké oproti jeho využitelnosti jakožto hnojiva. Zároveň při aplikaci neupraveného digestátu na pole může dojít ke ztrátě až 70 % dusíku ve formě těkavého NH_3 (Bauer et al., 2009), protože dusík vázaný ve formě NH_4^+ je nestabilní při vyšším pH typickém pro digestát. Neupravený digestát má hodnotu pH kolem 7,5 až 8,5 a při těchto hodnotách převládá neionizovaná a těkavá forma NH_3 (Botheju et al., 2010). Z tohoto důvodu se přistupuje k další úpravě digestátu.

Prvním krokem při úpravě digestátu je oddělení tekuté fáze. Toto oddělení se děje

v zařízení zvaném separátor. Jedním z možných technických řešení je separátor skládající se z kompenzačního zásobníku, do kterého je přiváděn digestát pomocí čerpadla. Na tomto zásobníku se nachází také odpadní potrubí a odvětrání. Ze zásobníku je digestát posouván dále k výstupu nejčastěji pomocí šnekového dopravníku, přičemž dochází k odtoku odseparované kapaliny přes síta. Tuhý materiál je tlačěn směrem k výstupu přes samočinnou membránu. Při stlačení materiálu a překonání odporu membrány je sušina vytlačena ven (Čerpadla míchadla).

Po tomto oddělení zůstává většina N-amon v tekuté fázi a naopak fosfor zůstává ve fázi pevné (Bauer et al., 2009; Al Seadi et al., 2013). Podrobné rozdělení složek obsažených v tekuté a pevné fázi digestátu po separaci se nachází v Grafu 2. Z důvodu vysoké ztráty N-amon tĕkáním (jak je uvedeno výše) se jako jedné z metod ke stabilizaci digestátu používá nitrifikace, která se stává alternativou k dosud využívaným tradičním metodám odstraňování N-amon, které přeměňují chemicky vázaný dusík na plynný dusík N₂. Nitrifikace oproti tomu sleduje novodobý trend v odstraňování odpadů, který podporuje co největší recyklaci a znovu využití živin z odpadů. (Botheju et al., 2010).

Graf 2 Rozdělení jednotlivých složek obsažených v tekuté a pevné fázi digestátu po separaci (Bauer et al., 2009)



3.2 Odstraňování N-amon z odpadních vod s důrazem na nitrifikaci

Tekutá fáze digestátu obsahující velké množství N-amon může být zpracovávána procesy vycházejícími z čištění odpadních vod. Mimo již zmiňovanou nitrifikaci, která bude blíže popsána níže je potřeba se alespoň rámcově seznámit i s dalšími metodami. N-amon se v odpadních vodách vyskytuje ve formě anorganické a organické. Anorganický dusík je zastoupen zejména jako redukovaný dusík amoniakální, a to ve formě disociované – iont NH_4^+ , a nedisociované – NH_3 . Oxidované formy dusíku (dusičnanový iont NO_3^- a dusitanový iont NO_2^-) se v neupravované splaškové odpadní vodě nevyskytují ve významných koncentracích. Dusík v organické formě se v odpadních vodách nachází většinou v redukovaném stavu N^{III} .

N-amon je možné odstraňovat buď fyzikálně či biologicky. Mezi známé způsoby fyzikálního odstraňování patří:

- zachycování na měničích iontů
- stripování vzduchem
- oddestilování z alkalického prostředí
- vysrážení ve formě fosforečnanu amonno-hořečnatého (Chudoba et Dohányos, 1991)

Mezi zatím nejpoužívanější biologické metody odstraňování N-amon z odpadních vod patří proces nitrifikace-denitrifikace, jehož průběh bude přiblížen dále.

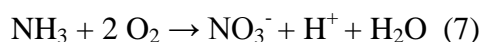
3.2.1 Nitrifikace amonného dusíku

Nitrifikace probíhá ve dvou stupních. V prvním (nitritace) se amoniakální dusík oxiduje na dusitany pomocí bakterií rodů např. *Nitrosomonas* či *Nitrosococcus*. Ve druhém (nitratice) jsou vzniklé dusitany oxidovány na dusičnany mikroorganismy *Nitrobacter* a *Nitrocystis* (Chudoba et Dohányos, 1991). V nitrifikačním systému mohou také různými cestami vznikat jako obligátní mezičlánky N_2O a NO , což jsou významné skleníkové plyny s negativním dopadem na životní prostředí (Kampschreur et al, 2008).

Souhrnná reakce nitrifikace může být zapsána tak, jako na následující reakci (6) (Tchobanoglous et al, 2003).

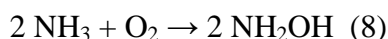


Jak uvádí Chudoba a Dohányos (1991), je možné sumární rovnici nitrifikace zapsat také takto (7):



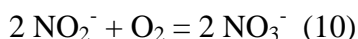
3.2.1.1 Nitritace

Během této první fáze nitrifikace je NH_3 za přítomnosti kyslíku oxidován na hydroxylamin (NH_2OH), nitroxyl (NOH) a dusitan (NO_2^-) amoniak oxidujícími bakteriemi (dále AOB – ammonia oxidizing bacteria) (Kim et Gadd, 2008; Rodriguez-Caballero et al., 2013). Proces nitritace probíhá v buňce v jejím periplasmatickém prostoru za účasti dvou hlavních enzymů: amoniak monooxygenázy (AMO), který katalyzuje reakci (rovnice 8) a hydroxylamin oxidoraduktázy (HAO), která katalyzuje reakci (rovnice 9).



3.2.1.2 Nitratice

Během procesu nitratice je NO_2^- oxidován na nitrát (NO_3^-) dusitan oxidujícími bakteriemi (dále NOB – nitrit oxidizing bacteria) (Rodriguez-Caballero et al., 2013). Tato reakce (10) je katalyzována enzymem nitrit oxidoreduktázou (NOR) (Kim et Gadd, 2008).



3.2.1.3 Přehled nitrifikačních bakterií

Jedná se o gramnegativní, obligátní chemolitoautotrofní bakterie (s výjimkou

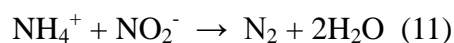
některých fakultativních – např. *Nitrobacter winogradskyi*), což znamená, že energii získávají oxidací chemických sloučenin a zdrojem uhlíku je pro ně oxid uhličitý. Celkem je známo 16 hlavních druhů AOB (Purkhold et al, 2000). Přehled některých zástupců bakterií účastnících se procesů nitrifkace a nitratace je zobrazen v Tab. 5.

Tab. 5 Přehled nitrifikačních bakterií (Kim et Gadd, 2008)

organismus	výskyt
Nitritační organismy ($\text{NH}_3 \rightarrow \text{NO}_2^-$)	
<i>Nitrosomonas europaea</i>	půda, čerstvá voda, mořská voda, odpadní voda
<i>Nitrospira (Nitrosovibrio) tenuis</i>	půda
<i>Nitrosococcus nitrosus</i>	půda
<i>Nitrosococcus oceanus</i>	mořská voda
<i>Nitrospira briensis</i>	půda
<i>Nitrosolobus multiformis</i>	půda
Nitratační organismy ($\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$)	
<i>Nitrococcus mobilis</i>	mořská voda
<i>Nitrobacter winogradskyi</i> (fakultativní chemolitotrof)	půda, čerstvá voda, mořská voda
<i>Nitrospina gracilis</i>	mořská voda
<i>Nitrospira marina</i>	mořská voda

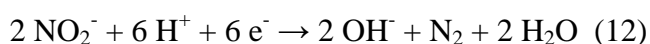
3.2.1.4 Nové biologické postupy v ostraňování N-amon

Mezi nově se prosazující biologické postupy poté patří např. proces Canon a Anammox (Ahn, 2006) nebo Sharon. (Van Hulle et al, 2007). V anaerobním procesu Anammox (ANaerobic AMMonium OXidation) jsou amonné ionty převáděny chemolitoautotrofními bakteriemi na dusík a vodu, jak blíže ukazuje reakce (11).

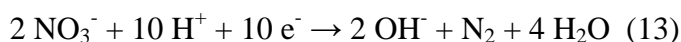


Akceptorem elektronů je v tomto případě dusitan. Prvním krokem ale musí být částečná nitrifikace (nitritace) amoniaku na dusitany. Anammox proces je realizován bakteriemi z kmene *Planctomyces* (celkem je známo 5 rodů anammox bakterií). Na rozdíl od běžného procesu nitrifikace a denitrifikace nevyžaduje tento proces zdroj organického uhlíku a má i nižší spotřebu energie (zejména na provzdušňování), produkci kalu a nižší emise CO₂. Při kombinaci s níže popsaným SHARON procesem je spotřeba kyslíku 25 % oproti klasickému odstraňování N-amon nitrifikací a denitrifikací, jak vyplývá ze stechiometrických rovnic (12) a (13). Elektrony (e⁻) v rovnicích reprezentují organické látky, které je jakožto oxidující se látky během procesu odevzdávají (Jetten et al, 2001; Švehla et al., 2007).

Denitritace



Denitrifikace



Název procesu SHARON je tvořen počátečními písmeny anglického názvu – Single reactor for High aktivity Ammonia Removal Over Nitrite. Probíhá při teplotě 30 až 35 °C, při které je růstová rychlost nitritačních bakterií vyšší než nitratačních – ty jsou ze systému vyplavovány. Amoniak je nitrifikací oxidován na dusitany a ty denitrifikací na plynný N₂ (Hellings et al, 1998).

CANON proces (zkratka vzniklá z anglického completely autotrophic nitrogen removal over nitrite) spočívá v kombinaci částečného vzniku dusitanů a Anammoxu. Jedná se o dvě reakce probíhající současně v jednorázovém a provzdušňovaném reaktoru. V tomto procesu spolupracují skupiny aerobních (podobné *Nitrosomonas*) a anaerobních (podobné *Planctomyces*) bakterií, kdy nitrifikanty oxidují N-amon na dusitany, spotřebovávají kyslík a vytváří tak anoxické podmínky pro Anammox (Ahn, 2006).

3.2.1.5 Vliv inhibičních faktorů na průběh nitrifikace

Rychlost nitrifikace je ovlivněna především těmito faktory: koncentrací rozpuštěného kyslíku, hodnotou pH a teplotou (Chudoba et Dohányos, 1991). Specifickými inhibičními faktory nitrifikace poté mohou být dusíkaté látky účastníci se nitrifikace, o nichž bude blíže pojednáno dále.

Vliv rozpuštěného kyslíku

Rozpuštěným kyslíkem se myslí kyslík volný či chemicky nevázaný. Nitrifikační bakterie jsou obligátně aerobní s výjimkami, které jsou fakultativně aerobní. Obligátní aerobové používají molekulární kyslík pro respiraci stejně jako fakultativní aerobové, kteří ho však mohou nahradit jinou molekulou, např. dusičnanovým či dusitanovým iontem, k respiraci anaerobní. Rozpuštěný kyslík je bakteriemi použit pro tři hlavní procesy – získání energie pro základní buněčné procesy (růst a reprodukci), pro endogenní respiraci a nitrifikaci. Koncentrace rozpuštěného kyslíku je jedním z nejdůležitějších požadavků ovlivňující bakterie či samotný průběh nitrifikace. Přitom optimální koncentrace rozpuštěného kyslíku pro nitrifikaci je relativně nízká - 2 až 3 mg/l. Při koncentraci rozpuštěného kyslíku pod 0,5 mg/l nitrifikace probíhá velmi málo nebo vůbec. Nízké koncentrace kyslíku při nitrifikaci mohou mít též za následek hromadění dusitanů v roztoku. Při zvyšování koncentrace až do 2,9 mg/l nastává maximální nitrifikace. Při vyšších koncentracích se poté čas nitrifikace prodlužuje (Gerardi, 2002; Chudoba et Dohányos, 1991).

Vliv pH

Městská odpadní voda stejně jako digestát obvykle v neutrální oblasti pH. V průběhu nitrifikace však dochází k poklesu pH. Úplná nitrifikace 5 mmol amoniaku (70mg N/l) vyprodukuje 10 mmol protonů, které by mohly snížit pH až na úroveň menší jak 2. Prakticky k tak výrazné změně v systémech nedochází, což je způsobeno neutralizační kapacitou čistých přírodních i povrchových vod, u kterých se hodnota pH pohybuje v rozmezí 4,5 – 9,5 a je dána obvykle uhlíčanovou rovnováhou. Není ale neobvyklé, že pH s hodnotami kolem 8 poklesne na úroveň pod 6. Optimální hodnoty pH pro dosažení maximální rychlosti nitrifikace se liší pro amoniak oxidující bakterie a dusitan oxidující bakterie. Jak uvádí Park et al. (2007), pro AOB leží optimum v rozsahu $8,2 \pm 0,3$ a $7,9 \pm 0,4$ pro NOB s tím, že posledně

zmíněné jsou citlivější ke změnám pH. Naproti tomu Van Hulle et al. (2007) uvádí jako optimální rozmezí, při kterém je aktivita biomasy největší, pH mezi 6,5 a 8.

Vliv teploty

Optimální teplotní rozmezí, které uvádí Van Hulle et al. (2007) pro maximální aktivitu biomasy je 35 – 45 °C. Jak uvádí Zhu et al. (2002), na biofiltru (fixed film biofilter) může rychlost růstu biomasy při změně teploty o 1 °C variovat od 1,1 % (při omezeném přístupu rozpuštěného kyslíku) po 4,3 % (při omezeném přístupu amonného dusíku). Pokud ovšem neuvažujeme spolupůsobení dalších faktorů (jako např. koncentraci rozpuštěného kyslíku), je možné vliv teploty na rychlost nitrifikace znázornit dle Tab. 6.

Tab. 6 Vliv teploty na rychlost nitrifikace (Gerardi, 2002)

Teplota	Vliv na nitrifikaci
> 45 °C	Nitrifikace ustává
28° - 32 °C	Optimální teplotní rozmezí
16 °C	Přibližně 50% rychlosti oproti té při teplotě 30°C
10 °C	20% rychlost oproti té při teplotě 30°C
Méně jak 5 °C	Nitrifikace ustává

Je potřeba zmínit, že výše uvedené údaje týkající se závislosti teploty a rychlosti nitrifikace (potažmo růstu nitrifikačních bakterií) jsou obecné, tedy týkající se nitrifikace jako celku. Při bližším rozlišení však vyvstávají rozdíly mezi jednotlivými fázemi nitrifikace. Teplota má totiž rozdílný efekt na AOB a na NOB. Pouze při teplotách nad 25 °C může rychlost oxidace amoniaku převyšovat rychlost oxidace dusitanu (Paredes, 2007).

3.2.2 Specifika nitrifikace odpadních vod s vysokým obsahem N-amon

Aktivitu nitrifikačních organismů ovlivňují nejenom výše uvedené faktory, ale i koncentrace sloučenin N-amon účastnících se samotného nitrifikačního procesu. Toto platí zejména u vod s vysokým obsahem N-amon. Mimo již zmiňovanou tekutou fázi digestátu se to týká také kalové vody z kalového hospodářství čistíren odpadních vod či skládkového

výluhu. Těmito sloučeninami jsou myšleny zejména jednotlivé disociační formy N-amon a N-NO_2^- . Poté se hovoří o tzv. substrátové či produktové inhibici činnosti nitrifikačních organismů. Uvádí se, že tuto inhibici způsobují zejména nedisociované formy N-amon a N-NO_2^- , tedy nedisociovaný NH_3 a kyselina dusitá HNO_2 . Některé studie naznačují i možnost inhibičního působení disociovaných iontů NO_2^- a NO_3^- na jednotlivé fáze nitrifikace, jak ukazuje Tab. 7. Citlivost jednotlivých nitrifikačních organismů vůči výše uvedeným dusíkatým sloučeninám je různá. Obecně platí, že AOB jsou podstatně rezistentnější než NOB. Proto může při nitrifikaci za určitých okolností docházet k hromadění produktů činnosti AOB, tedy dusitanů, jejichž zvýšená koncentrace může sekundárně vyřadit NOB z činnosti. Jak uvádí Radechovský et al. (2013), dusitanový dusík se při semikontinuálním průtoku čištěné vody ukázal jako stěžejní faktor dlouhodobě inhibující činnost nitratačních organismů při čištění odpadních vod obsahujících amoniakální dusík v koncentraci 150 až 600 mg.l^{-1} . Hromadění dusitanů při čištění odpadních vod je však, z důvodu jejich toxicity, nežádoucí. S výjimkou využití této selektivní inhibice v rámci nových biologických postupů odstraňování N-amon (procesy SHARON atd.), kdy je naopak inhibice NOB a produkce dusičnanů žádoucí (Buday et al., 1999; Radechovský et al., 2013).

Tab. 7 Formy $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$, $\text{NO}_2^-/\text{HNO}_2$ a $\text{NO}_3^-/\text{HNO}_3$ způsobující inhibici nitrifikace (Buday et al., 1999)

	Formy způsobující inhibici					
	NH_4^+	NH_3	NO_2^-	HNO_2	NO_3^-	HNO_3
Nitritace	Ne	ano	ne	ano	ne	ano
Nitratace	ne	ano	ano	ne	ano	ne

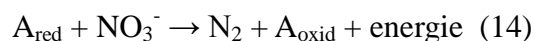
Dalším faktorem ovlivňujícím rovnováhu nitrifikace je pH, jehož hodnota ovlivňuje koncentraci NH_3 a NH_4^+ . Pokud vzroste pH, vzroste zároveň koncentrace NH_3 na úkor NH_4^+ , což následně způsobí inhibici obou fází nitrifikace. Jak uvádí Anthonisen et al. (1976), bylo prokázáno, že NH_3 má inhibiční účinek na nitrititaci při koncentraci 10 až 150 mg/l a na nitrataci při koncentraci 0,1 až 1 mg/l .

Při procesu nitritace dochází mimo jiné k produkci vodíkových iontů (reakce 10), což snižuje hodnotu pH. Dusitanové ionty existují v rovnováze s HNO_2 . Pokud poklesne pH, koncentrace HNO_2 vzroste a naopak, což vytváří pufrací systém. Mimoto se tyto procesy

podílí na snížení inhibičního vlivu NH₃. Se snížením pH dojde k upravení amonné rovnováhy a koncentrace NH₃ se sníží. Navíc dochází ke snížení celkové koncentrace N-amon, který je postupně oxidován na dusitan. Má se za to, že tyto procesy uvolňují inhibici *Nitrobacera* a umožňují tak dokončit i druhou fázi nitrifikace. Přesto existují situace, kdy jsou podmínky příhodné (tj. nízká koncentrace NH₃ a dostatečná aerace), ale přesto nedochází k oxidaci dusitanu na dusičnan. Předpokládá se, že za to může zvýšená koncentrace HNO₂ (a její inhibiční vliv na proces nitritace i nitratace) v reakci na pokles pH uvolněním vodíkových iontů při nitritaci (Anthonisen et al., 1976).

3.2.3 Denitrifikace

Denitrifikace znamená redukci dusičnanů a dusitanů na N₂ nebo N₂O. Mohou ji provádět četné organotrofní bakterie, jako např. rody *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Chromobacterium*, *Denitrobacillus*. Schematicky je možné ji zapsat, jak je uvedeno níže (14) (Chudoba et Dohányos, 1991). Jedná se o anoxický proces, při kterém jako konečný akceptor elektronů slouží dusitan a dusičnan. Donorem elektronů je organická látka, což je případ heterotrofní denitrifikace (Ciudad et al, 2005), nebo v případě autotrofní denitrifikace anorganické látky jako např. H₂, Fe²⁺, Mn²⁺, NH₄⁺ nebo redukované formy síry.



Při denitrifikaci využívá bakterie (v tomto případě jde o studii zaměřenou na *Pseudomonas stutzeri*) oxidované formy dusíku jako konečný akceptor elektronů pro buněčné bioenergetické pochody za anarobních, mikroaerofilních a výjimečně dokonce aerobních podmínek. Během procesu denitrifikace, který sestává ze čtyř po sobě následujících kroků, se zapojuje několik methaloproteinů, které katalyzují redukci dusičnanu na dusitan, oxid dusnatý (NO) a nakonec oxidu dusného (N₂O) na plyný dusík (N₂). Tyto methaloenzymy zahrnují nitrát reduktázu, dusitan reduktázu, NO reduktázu a N₂O reduktázu (Lalucat et al, 2006). NO je navíc silným ligandem pro ionty kovů, a tak inhibuje všechny enzymy v denitrifikačním dýchacím řetězci, jelikož všechny nesou ionty kovů v aktivním místě. Zejména citlivý na působení NO je poslední krok denitrifikace, tj. redukce N₂O na N₂ (Kučera et al, 1986).

V níže uvedené tabulce (Tab. 8) je schematicky znázorněna změna oxidačního čísla

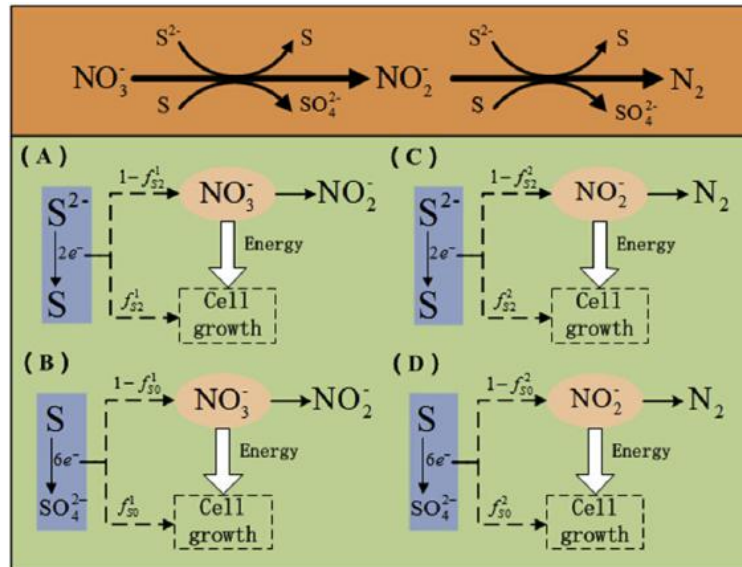
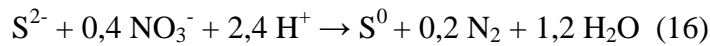
dusíku během celého procesu nitrifikace a denitrifikace.

Tab. 8 Změna oxidačního čísla dusíku při nitrifikaci a denitrifikaci (Chudoba et Dohányos, 1991)

Ox. číslo	Oxické podmínky	Anoxické podmínky
-3	NH_4^+	
-2	<i>Nitrosomonas</i>	
-1	NH_2OH	
0		N_2
+1	HNO	N_2O
+2		NO
+3		NO_2^-
+4	<i>Nitrobacter</i>	Fakultativní anaerobové
+5		NO_3^-

3.2.3.1 Autotrofní denitrifikace se sírou jako donorem elektronů

V rámci této práce je krokem navazujícím na nitrifikaci digestátu právě autotrofní denitrifikace se sírou, při které bude využit již nitrifikovaný substrát a v něm obsažené oxidované formy dusíku. Některé sloučeniny síry jako S^{2-} , S^0 , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$, SO_3^{2-} , zejména pak sulfan vznikající při tvorbě bioplynu, jsou škodlivé pro životní prostředí. Právě autotrofní bakterie ho ale dokážou využít při současné redukci dusičnanu (Fajardo et al., 2012). Právě bioplyn je bohatý na sulfan, který je potřeba odstranit, aby mohl být bioplyn dále využit. Sulfan je tedy v tomto případě použit jako donor elektronů v autotrofní post-denitrifikační úpravě (Kleerebezem et Mendez, 2002). Mezi zástupce těchto autotrofních bakterií patří např. rody *Thiobacillua denitrificans* a *Thimicrospira denitrificans*. Tyto sírné bakterie mohou oxidovat sulfid až na síran či síru, jak uvádí reakce (15) a (16). Ovšem v anaerobních podmínkách bývají vždy přítomny i protisměrně působící sulfátreduktanty (SRB), a tak v produktech této „parciální biooxidace“ obvykle převládá elementární síra (Straka et Ciahotný, 2010; Fajardo et al., 2012). Zjednodušené schéma celého procesu je zobrazeno obrázku (3), včetně meziprojektu NO_2^- .



Obr. 3 Zjednodušené schéma biochemického procesu autotrofní denitrifikace (Xu et al., 2006)

Stejně jako nitrifikace i denitrifikace podléhá vlivu inhibičních faktorů. Dvěma hlavními faktory jsou pH a teplota. Autotrofní denitrifikace může probíhat za různých teplot v závislosti na konkrétní denitrifikační bakterii. Optimální teplota je uváděna v rozmezí mezi 28 a 30 °C (Claus et Kutzner, 1985). Jiná práce (Oh et al., 2000) uvádí jako ideální teplotu 33 až 35 °C. Teplota mezi 40 – 50 °C je již považována za inhibiční (Koenig et Liu, 2004). Nezanedbatelný je i vliv pH. Jak uvádí Oh et al. (2000), autotrofní denitrifikace je inhibována při hodnotách pH nižších než 6 a vyšších než 9. Ke stejným závěrům dospěl i Fajardo et al. (2012). Optimální hodnota, při které by mohlo být dosaženo maximální účinnosti, byla navržena v rozmezí od pH 7,5 až 8 (Claus et Kutzner, 1985) dle Oh et al. (2000) poté 6,5 až 7,5.

Jako u nitrifikace, i zde se projevuje inhibiční vliv dusíkatých sloučenin. Jak uvádí Oh et al. (2000), inhibice denitrifikace se objevila, když koncentrace NO_3^- dosáhla kolem 660 mg/l. Inhibičním mechanismem byla v tomto případě substrátová inhibice z důvodu nadměrné koncentrace NO_3^- . Inhibičně působí od koncentrace 2000 mg/l i SO_4^{2-} . V případě dusitanů se inhibice objevila již při velmi nízkých koncentracích. Autotrofní denitrifikační bakterie jsou

tedy velmi citlivé k dusitanům, ale relativně tolerantní k dusičnanům, sulfátu a thiosulfátu. Dle Fajardo et al. (2013) se jako inhibiční faktor projevilo i sulfid při koncentracích $> 200 \text{ mg S}^{2-} \cdot \text{l}^{-1}$. Inhibice procesu o 50 % byla pozorována při koncentracích $\text{NO}_2^- > 48 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$.

4 Materiál a metody

4.1 Zdroj kapalné fáze digestátu

Digestát byl pořízen z bioplynové stanice Nový Dvůr v Kunovicích u Uherského Hradiště vedle areálu farmy ZEVOS a.s., která slouží pro chov prasat. Tato stanice zpracovává denně v průměru 110 m³ kejdy, 5 tun masokostní moučky, 5 tun travní hmoty (senáž, siláž). Celková sušina substrátu činila 11 – 12 %. Stanice se skládá z homogenizační (míchací jímky) o objemu 150 m³, dále reaktoru (fermentoru) o objemu 4000 m³, plynojemu o objemu 1000 m³, pasterizační vany určené k dezinfekci substrátu při 70 °C po dobu 1 hodiny a skladovací jímky o objemu 3000 m³ pro skladování digestátu, který se dále aplikuje na ornou půdu podle agrotechnických lhůt. Vzniklý bioplyn je spalován v kogeneračních jednotkách za vzniku elektrické energie a tepla, které je topnými rozvody rozváděno do areálu bioplynové stanice a zemědělského podniku.

V den začátku experimentu (9. 6. 2014) byla koncentrace N-amon v kapalné fázi digestátu 2,58 g/l. Průměrná hodnota po dobu konání experimentu (9. 6. 2014 až 16. 2. 2015) poté 2,61 ± 0,23 g/l. Počáteční hodnota pH byla 8,20 a průměrná 8,16 ± 0,89., jak ukazuje Tab. 9. hodnota CHSK odstředěného vzorku se pohybovala v průměru kolem 9,40 ± 1,19 g/l.

Tab. 9 Charakteristika použitého digestátu

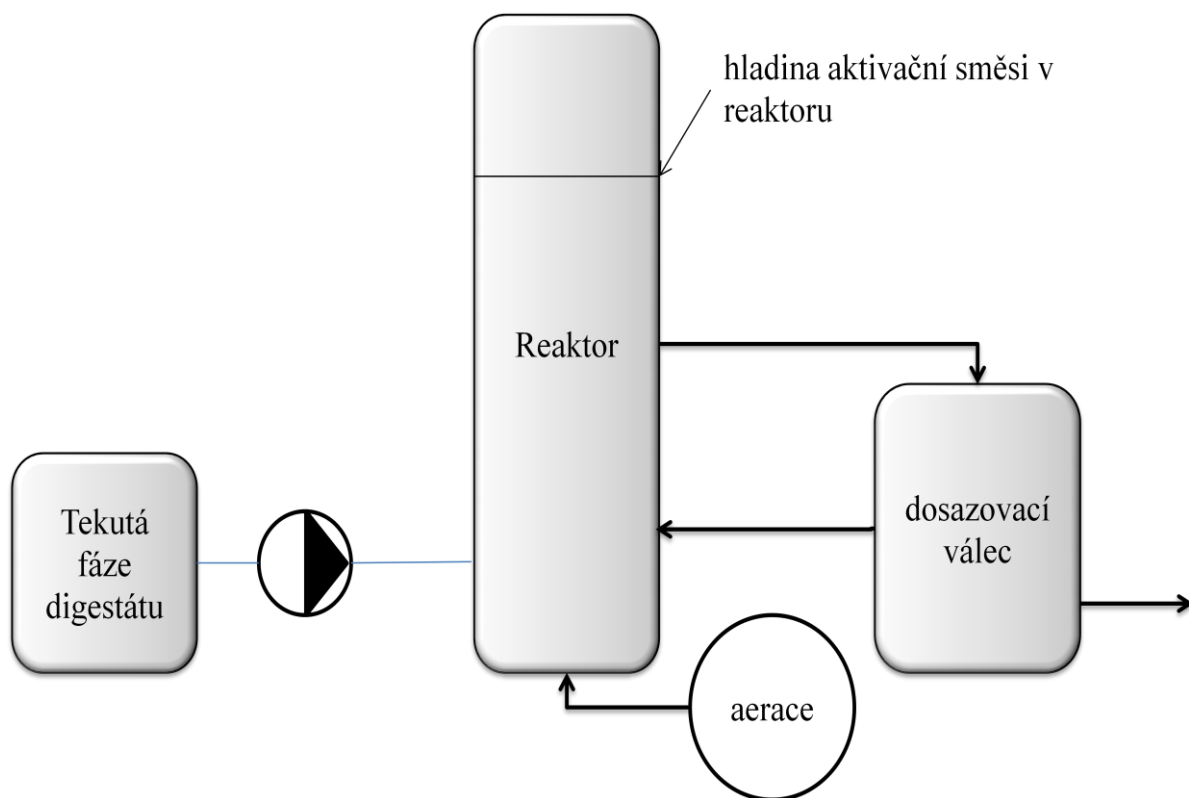
Měřená veličina	Jednotka	Průměrná hodnota
pH		8,16
N-amon	g/l	2,61
CHSK (odstředěný vzorek)	g/l	9,40
KNK 6,5 ²	mmol/l	56,30
P-celk	mg/l	251,00
N-celk	g/l	2,35
NL ³	mg/l	5,18

² Většina vod se vyznačuje určitou tlumivou neutralizační kapacitou (kyselinovou, zásadovou), takže při přidávání silné kyseliny, resp. louhu do vzorku vody se pH vzorku nemění přímo úměrně dávkou kyseliny, resp. louhu, ale v určitém rozmezí dokáže voda vázat vodíkové nebo hydroxidové ionty. Kyselinová neutralizační kapacita (KNK) při hodnotě pH 6,5 nás tedy informuje o schopnosti vody vázat vodíkové ionty.

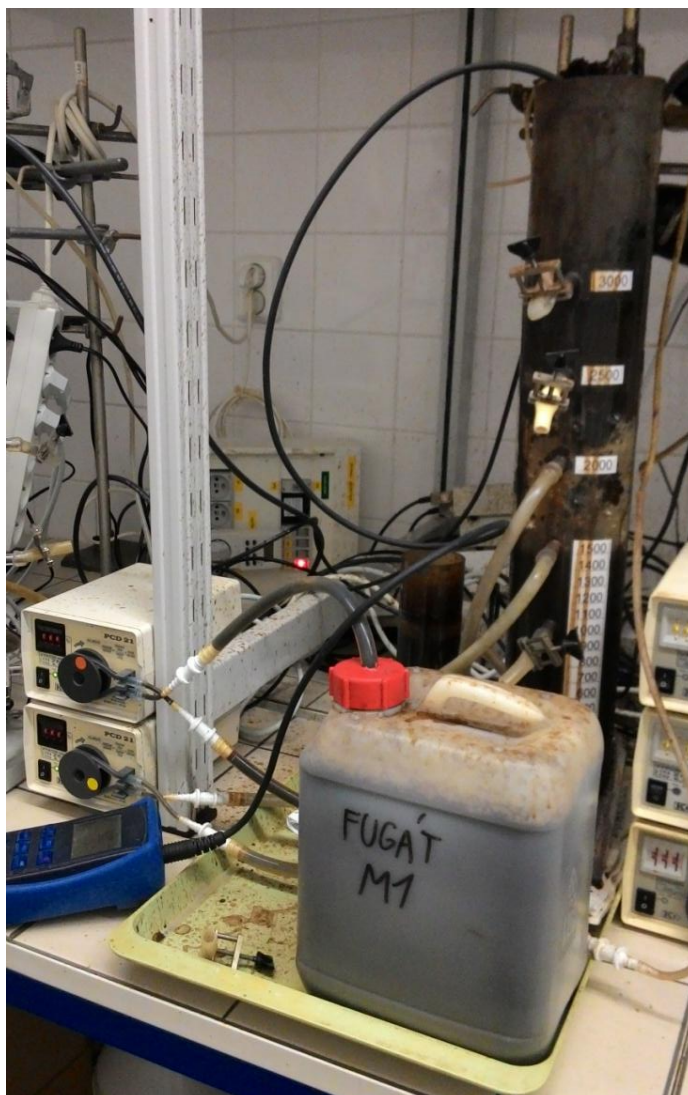
³ Nerozpuštěné látky, tj. ukazatel, jehož hodnota vypovídá, kolik nerozpuštěných organických látek je v odpadní vodě.

4.2 Popis laboratorního modelu

Reaktor (viz. Obr. 5 a Obr. 4) sestával z válce z plexiskla o objemu 1,5 l. Reaktor byl trvale provzdušňován s využitím akvaristických vzduchovacích motorků zajišťujících hrubobublinnou aeraci. Plnění reaktoru probíhalo kontinuálně, digestát byl čerpán z plastového kanystru peristaltickým čerpadlem PCD 21. Kapalná fáze digestátu z reaktoru přetékala přepadem do dosazovací nádrže, ve které byly odebírány vzorky pro stanovování výstupních hodnot. Jednalo se tedy o model CSTR (continuous flow stirred-tank reactor – aktivační systém s ideálním promícháváním), kde aerace sloužila zároveň k promíchávání obsahu reaktoru. Pokusy byly provedeny bez regulace pH v reaktoru.



Obr. 4 Schéma reaktoru



Obr. 5 Reaktor

Pro zpracování nitrifikace byl reaktor zaočkován vratným aktivovaným kalem, který pocházel z Ústřední čistírny odpadních vod Praha (ÚČOV Praha). Jedná se o mechanicko-chemicko-biologickou čistírnu s průměrným přítokem necelé 4 m³/s odpadní vody. Biologicky je odstraňováno uhlíkové znečištění a částečně nitrifikován amoniakální dusík. Fosfor je odstraňován sražením železitými solemi. Přebytečný kal je po zahuštění na odstředivkách smísen s primárním kalem a čerpán do dvoustupňových vyhnívacích nádrží, kde je udržována teplota 55 °C. Vyhnílý kal je pak odvodňován na odvodňovacích odstředivkách. Bioplyn vznikající při vyhnívání kalu je zde taktéž využíván k výrobě tepla a elektrické energie⁴.

⁴ Ústřední čistírna odpadních vod. Pražské vodovody a kanalizace

4.3 Analytické metody

V průběhu experimentu byly v pravidelných časových intervalech 3 až 7 dní vyhodnocovány následující veličiny pomocí uvedených měřících přístrojů, metod a výpočtů (Tab. 10), které budou blíže popsány dále. Veličiny byly měřeny jak na vstupu (kanystř s kapalnou fází digestátu), tak v reaktoru i na výstupu viz. Tab. 10. V reaktoru byla zároveň trvale umístěna sonda zaznamenávající teplotu, pH a koncentrace O₂. Získaná data byla zaznamenávána programem Magic XBC. Pro spektrofotometrická stanovení byl použit spektrofotometr HACH DR/4000. Vzorky byly připravovány v odstředěné formě (odstředění na odstředivce při 9000 ot/min). Všechna analytická stanovení proběhla dle Horákové (2003).

Tab. 10 Měřené veličiny a použité přístroje, metody a výpočty

Měřená veličina	Místo měření	Jednotka	Použitý přístroj / metoda
pH	Vstup, reaktor		WTW pH 340i
O ₂	reaktor	mg.l ⁻¹	WTW 0xi 340i
Teplota	reaktor	°C	WTW 0xi 340i
Průtok Q	Vstup	ml.den ⁻¹	Peristaltické čerpadlo PCD 21
N-amon	Vstup, výstup	g.l ⁻¹	Indofenolová metoda
N-NO ₂ ⁻	Výstup	mg.l ⁻¹	Metoda s využitím činidla tvořeného amidem kyseliny sulfanilové a NED-dihydrochloridem
N-NO ₃ ⁻	Výstup	mg.l ⁻¹	Metoda s 2,6-dimethylfenolem a kys.amidosírovou
CHSK	Vstup, výstup	g.l ⁻¹	Stanovení dichromanem draselným (CHSK _{Cr})
B _v ⁵	-	kg.m ⁻³ .den ⁻¹	Výpočet s využitím „Průtok Q“ a „N-amon“
Volný amoniak (FA)		mg.l ⁻¹	Výpočet viz níže
Volná kyselina dusitá (FNA)		mg.l ⁻¹	Výpočet viz níže

⁵ Objemové zatížení dusíkem

N-NO ₂ /(N-NO ₂ +N-NO ₃) ratio	%	Výpočet (Li et al., 2011)
Účinnost odstranění N-amon	%	Výpočet viz níže

4.3.1 Stanovení N-amon

Jak již bylo uvedeno, amoniakální dusík se vyskytuje v odpadních vodách jako disociovaný ion NH₄⁺ a nedisociovaný NH₃. Chemickými metodami ale nelze rozlišit jejich koncentraci, a proto se vždy stanovuje součet obou forem. V rámci tohoto pokusu byla použita indofenolová metoda, která je založena na reakci amoniaku, chlornanu a salicylanu v alkalickém prostředí. Výsledkem reakce je sloučenina indofenolového typu, která se v alkalickém prostředí disociuje na modré indofenolové barvivo, které je dále spektrofotometricky měřeno. Jako katalyzátor se používá nitroprusid sodný a přidává se též citronan sodný, který brání rušivému vlivu kationtů vápníku a hořčíku (Horáková, 2003).

4.3.2 Stanovení N-NO₂⁻

Při stanovení dusitanů se využívá schopnosti kyseliny dusité diazotovat⁶ aromatické látky. Vzniklé diazoniové soli reagují s jiným arylaminem za vzniku barviva, které je vhodné pro spektrofotometrické stanovení. V rámci pokusu byla použita metoda s NED-dihydrochloridem (N-(1-naftyl)-1,2-ethylendiamindihydrochlorid). K diazotaci byl použit amid kyseliny sulfanilové. Celá reakce probíhala v prostředí okyselením kyselinou fosforečnou a výsledný růžově zbarvený produkt byl spektrofotometricky měřen při vlnové délce 540nm (Horáková, 2003).

4.3.3 Stanovení N-NO₃⁻

V rámci tohoto pokusu byla použita ke stanovení dusičnanů spektrofotometrická metoda využívající schopnosti kyseliny dusičné nitrovat některé aromatické látky (v rámci

⁶ Diazotace je chemická reakce, při které na aromatické primární aminy působí směsí dusitanu a nadbytku anorganické kyseliny za vzniku diazoniové soli.

pokusu byl použit 2,6-dimethylfenol) za vzniku barevných nitroderivátů. V prostředí okyseleném kys. amidosírovou se kyselina dusičná uvolní z dusičnanů přítomných ve zkoumaném vzorku (Horáková, 2003).

4.3.4 Stanovení CHSK

CHSK neboli chemická spotřeba kyslíku je analytická metoda, kterou se stanovuje suma všech organických látek pomocí kyslíku spotřebovaného na jejich chemickou oxidaci (Chudoba et al., 1991). V rámci pokusu byla použita nejrozšířenější metoda stanovení CHSK dichromanem draselným (CHSK_{Cr}), která jako oxidační činidlo používá právě dichroman draselný. Oxidace probíhá v silně kyselém prostředí kyseliny sírové při dvouhodinovém varu. Oxidace je katalyzována stříbrnými ionty. Přidává se ještě síran rtuťnatý, který maskuje chloridy, které by se oxidovaly na Cl₂ a při stanovení CHSK_{Cr} by způsobovaly pozitivní chybu. Při reakci je dichroman draselný redukován za vzniku chromitého iontu, jehož koncentrace je úměrná obsahu organických látek ve vzorku vody a který se stanovuje spektrofotometricky. Při hodnocení CHSK v rámci tohoto experimentu muselo být počítáno ještě s další pozitivní chybou, protože při vysokých koncentracích dusitanů je jimi dichroman taktéž redukován⁷ (Horáková, 2003).

4.3.5 Výpočet FA, FNA

Koncentrace volného amoniaku (FA) a volné kyseliny dusité (FNA) byly vypočteny na základě rovnic (17, resp. 18) převzatých z literatury (Anthonisen et al., 1976).

$$C_{FA(mg\ l^{-1}NH_3)} = \frac{17}{14} \frac{C_{N-amon} \times 10^{pH}}{[\exp(6334/(273+^{\circ}C)) + 10^{pH}]} \quad (17)$$

$$C_{FNA(mg\ l^{-1}HNO_2)} = \frac{46}{14} \frac{C_{N-NO_2^-}}{[\exp(-2300/(273+^{\circ}C)) \times 10^{pH}]} \quad (18)$$

⁷ Dusitany se odečtou od celkové hodnoty CHSK ve výstupu. Hodnota CHSK ve výstupu se vynásobí koeficientem 1,1422 a výsledné číslo se odečte od naměřené koncentrace CHSK ve výstupu.

4.3.6 Výpočet objemového zatížení

Objemové zatížení dusíkem B_v [$\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$] bylo počítáno dle vzorce:

$$B_v = \frac{QS}{V}$$

Q ... koncentrace dusíku na přítoku do reaktoru ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)

S ... přítok ($\text{m}^3\cdot\text{d}^{-1}$)

V ... objem reaktoru (l)

4.3.7 Výpočet účinnosti odstraňování N-amon

Výpočet účinnosti odstraňování N-amon ($E_{N\text{-amon}}$) vycházel z výpočtu účinnosti aktivačního systému na ČOV, který je definován vztahem:

$$E_{N\text{-amon}} = \frac{C_1 - C_2}{C_1} \times 100$$

C_1 ... koncentrace N-amon na vstupu

C_2 ... koncentrace N-amon na výstupu

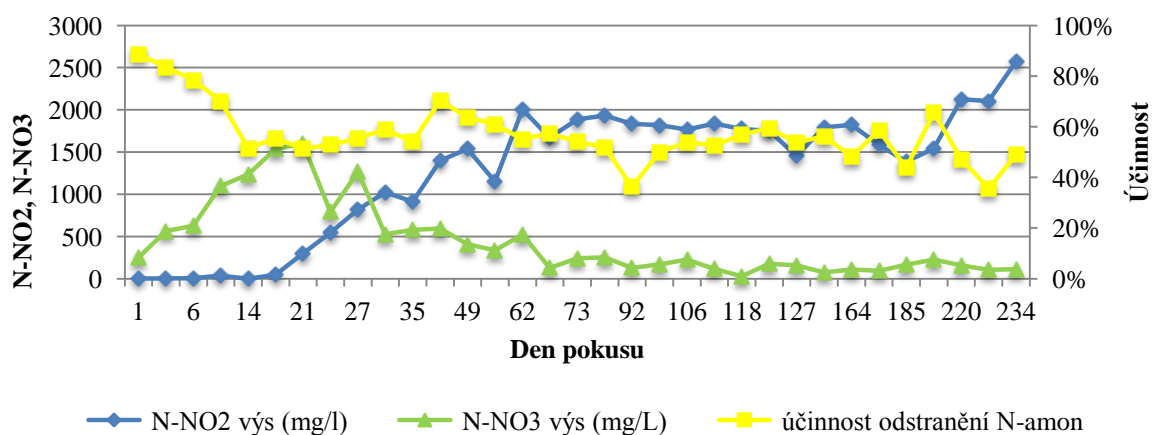
5 Výsledky

Experiment byl zahájen 9. 6. 2014 zaočkováním reaktoru vratným aktivovaným kalem. Celý reaktor byl nejdříve zcela naplněn inokulem a teprve poté bylo zahájeno dávkování kapalně fáze digestátu. Teplota v laboratoři se pohybovala mezi 21-25 °C. V rámci pokusu byla průměrná teplota v reaktoru $23 \pm 1,75$ °C. V průběhu experimentu bylo provedeno celkem 34 měření v časovém rozestupu 3 – 7 dní, pokud nepočítáme delší pauzu na přelomu roku 2014 a 2015. Experiment probíhal standardně s výjimkou:

- 127. dne experimentu, kdy došlo k ucpání přítoku a po jeho uvolnění k prudkému vzestupu pH
- 194. dne, kdy došlo k ucpání vstupu a poklesu hladiny v reaktoru na 1200 ml
- 220. dne, kdy došlo k prasknutí hadičky na výstupu z reaktoru a poklesu jeho hladiny na 500 ml

Účinnost převedení N-amon na oxidované formy byla limitována neutralizační kapacitou (resp. koncentračním poměrem $\text{HCO}_3^-/\text{N-amon}$) a dosahovala v průměru $56 \pm 11,42$ % (Graf 3). Jediným parametrem, který byl v rámci pokusu cíleně regulován, byl průtok a na něj navázané objemové zatížení B_v . Průměrná hodnota CHSK na výstupu z reaktoru byla $7,55 \pm 1,92$ g.l^{-1} . Na základě výsledků bude pro snazší popis průběhu experimentu rozdělen do dvou etap, jak bude blíže popsáno níže.

Graf 3 Účinnost odstranění N-amon, koncentrace N-NO_2^- , NO_3^-



5.1 První etapa

První etapa trvala celkem 62 dní a probíhal v ní proces přechodu od úplné nitrifikace k nitrifikaci na dusitaný (nitritaci). V průběhu první etapy bylo měněno objemové zatížení B_v a docházelo ke změnám koncentrací či hodnot i ostatních sledovaných parametrů (zejména NO_2 , NO_3 , FA, FNA, pH), jak bude podrobněji popsáno níže.

5.1.1 Objemové zatížení

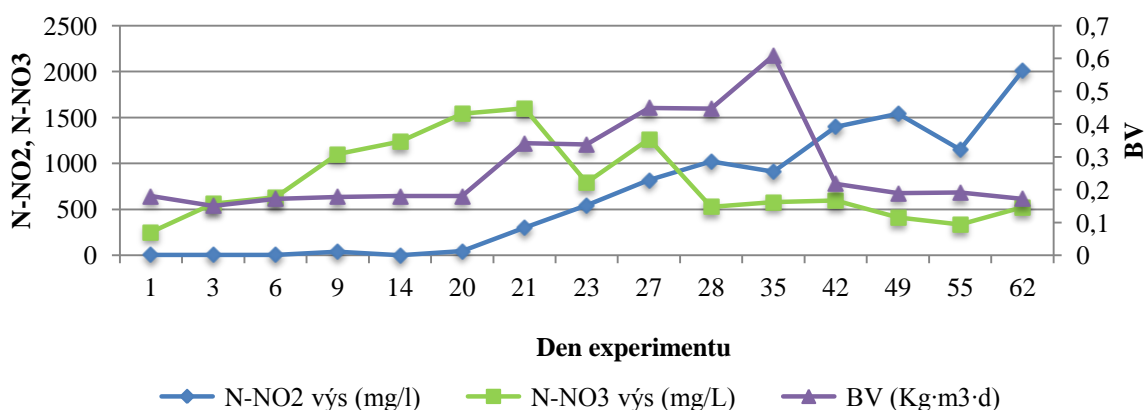
Objemové zatížení v prvních 20 dnech bylo na průměrné hodnotě $0,17 \pm 0,01 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ (Graf 4). 20. den experimentu bylo objemové zatížení zvýšeno z $0,18 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ na $0,34 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ a bylo dále zvyšováno až na hodnotu $0,61 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ dosaženou 35. dne experimentu, což byla maximální hodnota v této etapě experimentu. Od ní poté hodnota objemového zatížení klesala až na $0,17 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ (62. den experimentu).

5.1.2 Formy N v odtoku

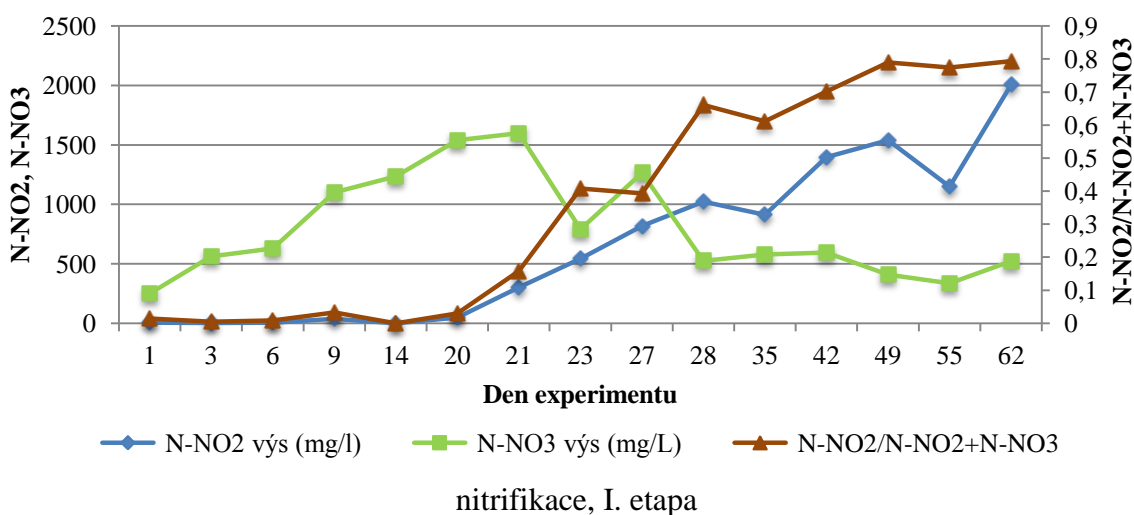
V prvních 20 dnech probíhala nitrifikace s konečným produktem N-NO_3^- (Graf 4). První den po zaočkování byla koncentrace N-NO_3^- 250 mg/l a narůstala rovnoměrně až na hodnoty kolem 1500 mg/l mezi 20. a 21. dnem. Koncentrace N-NO_2^- byla v prvních 20 dnech v průměru $15,96 \pm 20,48 \text{ mg/l}$. Téměř veškerý dusitanový dusík byl tedy přeměněn na dusičnany a nitrifikace probíhala kompletně.

Zároveň s růstem objemového zatížení 20. den začala růst i koncentrace N-NO_2^- až na maximální hodnotu v této etapě, což bylo 2006 mg/l (62. den experimentu). Kontinuální růst koncentrace N-NO_2^- neovlivnilo ani opětovné snížení objemového zatížení. Koncentrace N-NO_3^- klesala od 21. dne experimentu až na 523 mg/l v poslední den první etapy. Tento vztah mezi N-NO_2^- a N-NO_3^- vyjádřený jako poměr koncentrace dusitanového dusíku ke koncentraci celkového oxidovanému dusíku znázorňuje Graf 5.

Graf 4 Koncentrace N-NO_2^- , N-NO_3^- a hodnota B_V , I. etapa



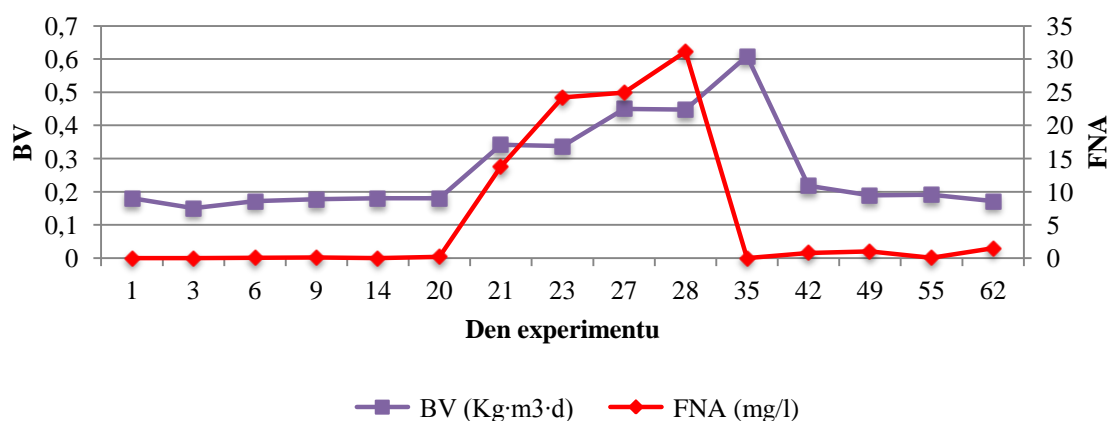
Graf 5 Koncentrace N-NO_2^- , N-NO_3^- , zastoupení N-NO_2^- mezi konečnými produkty nitrifikace, I. etapa



5.1.3 Koncentrace FA a FNA

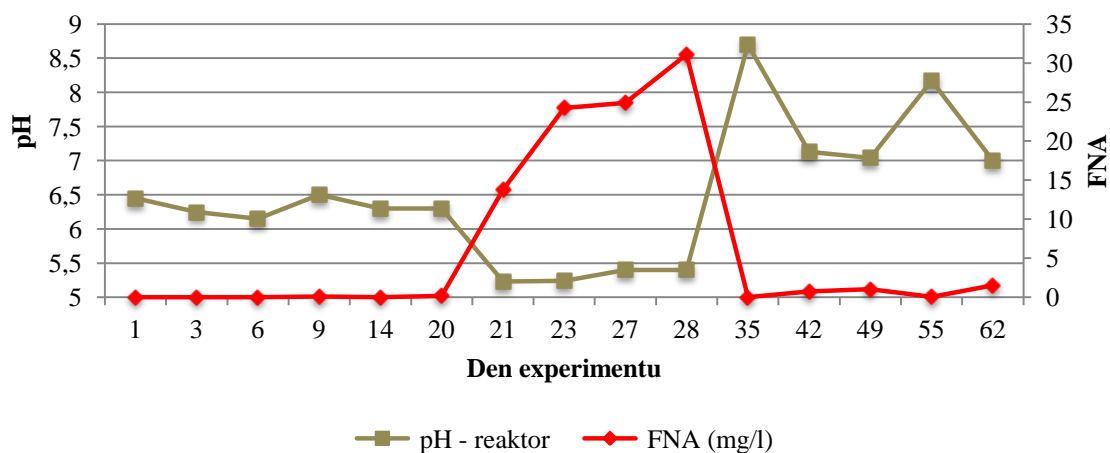
Současně se zvýšením objemového zatížení došlo k prudkému vzestupu FNA (Graf 6). Průměrná koncentrace FNA se před dvacátým dnem blížila nule ($0,05 \pm 0,07$ mg/l). V průběhu vzestupu ale koncentrace FNA dosáhla maximální koncentrace 31,09 mg/l (28. den experimentu). Poté došlo opět k poklesu a mezi 35. a 62. dnem byla průměrná koncentrace 0,66 mg/l.

Graf 6 Hodnota B_V a koncentrace FNA, I. etapa



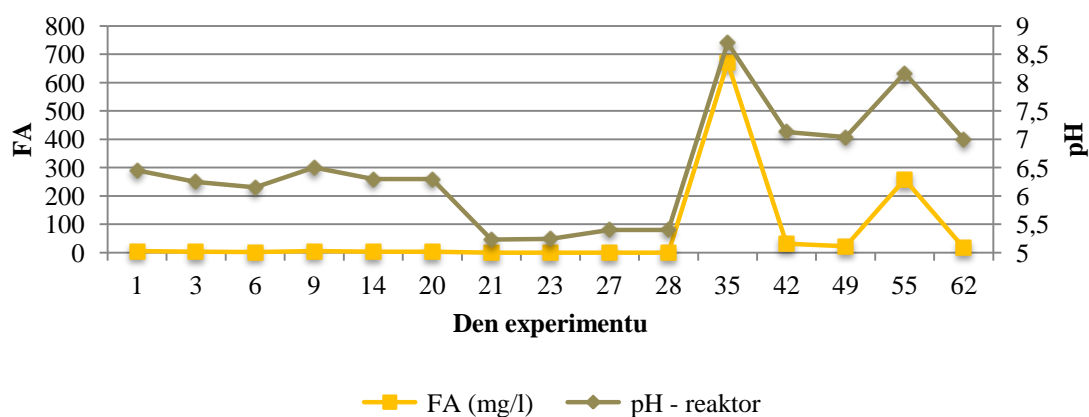
Jak ukazuje Graf 7, je patrné, že v souvislosti s poklesem pH narostla koncentrace FNA. 35. den pokusu s opětovným vzestupem pH došlo k poklesu koncentrace FNA na hodnotu 0,01 mg/l a do konce I. etapy koncentrace FNA nepřekročila 1,50 mg/l. Je zde tak potvrzena závislost koncentrace FNA na hodnotě pH, jak je popsáno v kapitole 4.3.5.

Graf 7 Koncentrace FNA a hodnota pH, I. etapa



Závislost mezi koncentrací FA a hodnotou pH (tak jak je popsáno v kapitole 4.3.5) ukazuje Graf 8. Koncentrace FA se v prvních 28. dnech experimentu pohybovala kolem 2,40 mg/l a 35. den vzrostla až na hodnotu 671 mg/l. Následoval pokles na 31,89 mg/l (42. den) a 22,55 mg/l (49. den) a opětovný vzestup na 259,12 mg/l. Poslední 62. den pokusu zakončila koncentrace FA na 17,29 mg/l.

Graf 8 Koncentrace FA a hodnota pH, I. etapa

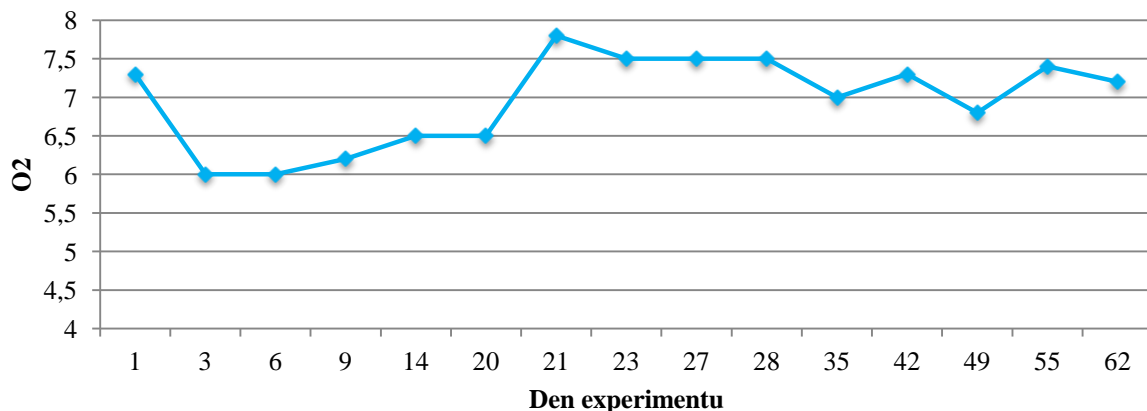


5.1.4 Hodnota pH a koncentrace O₂

Hodnota pH (Graf 8) se v průběhu prvních dvaceti dní pohybovala kolem hodnoty 6 (průměr $6,33 \pm 0,13$). 21. den následoval pokles na hodnotu 5,23. Na průměrné hodnotě $5,32 \pm 0,53$ setrvalo pH do 28. dne pokusu, po kterém následoval prudký vzestup na 8,70. Na tento prudký vzestup bylo zareagováno snížením B_V na $0,22 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$ (Graf 4). 42. den experimentu hodnota pH poklesla na 7,13 a v průměrné hodnotě $7,34 \pm 0,26$ setrvala až do konce I. etapy.

Koncentrace O₂ (Graf 9) v průběhu první etapy je možné považovat za konstantní. Průměrná hodnota byla $6,97 \pm 0,59$ (minimum 6,00 a maximum 7,80).

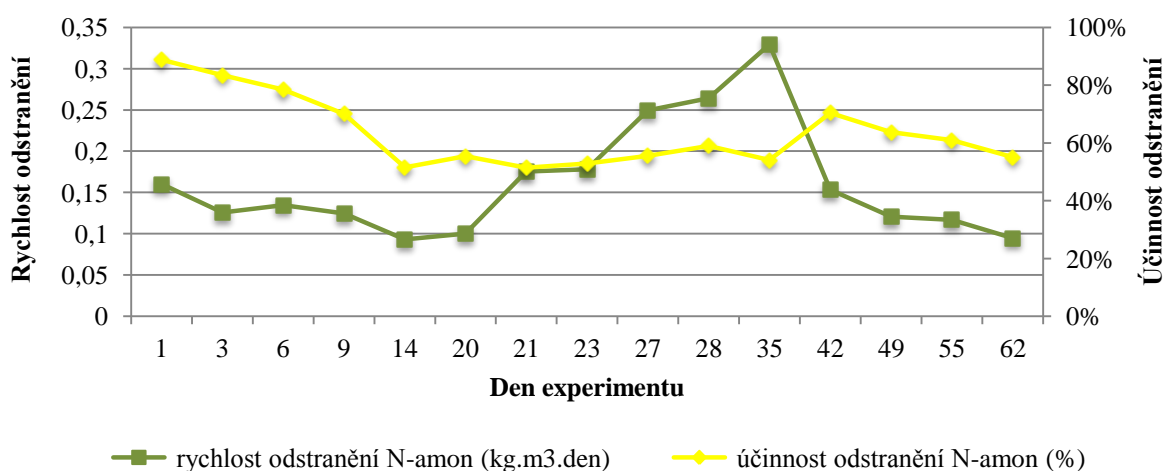
Graf 9 Koncentrace O₂, I. etapa



5.1.5 Rychlost a účinnost odstraňování N-amon

Hodnota rychlosti odstranění N-amon (Graf 10) byla 1. den experimentu $0,16 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$ a až do 23. dne setrvala na průměrné hodnotě $0,14 \pm 0,03 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$ (maximum $0,18 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$ a minimum $0,09 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$). 27. den experimentu došlo k nárůstu na $0,25 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$ a následně na $0,33 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$ 35. den experimentu. Od 42. dne opět hodnota poklesla na průměrnou hodnotu $0,12 \pm 0,02 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$.

Graf 10 Rychlost a účinnost odstranění N-amon, I. etapa

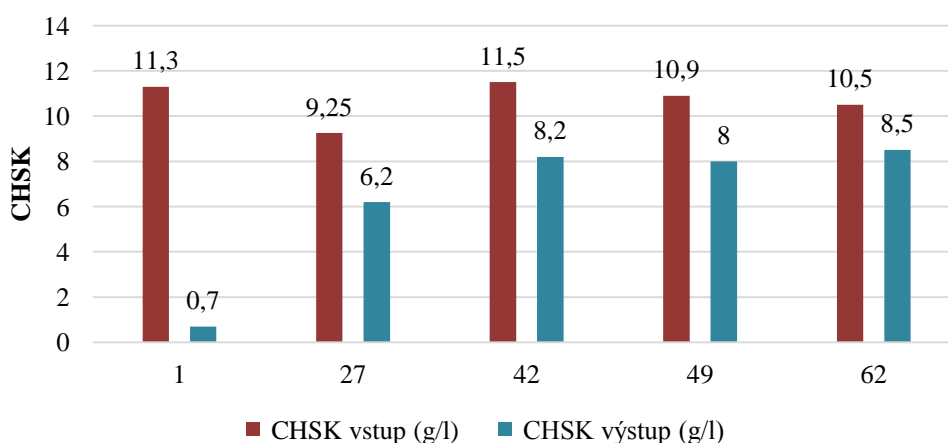


Účinnost odstranění N-amon (Graf 10) byla první den experimentu 88,76 % a poté rovnoměrně klesala na 70,08 % 9. den. Následoval skokový pokles na 51,55 %. Kolem této hodnoty se účinnost pohybovala až do 35. dne ($54,25 \pm 13,94 \%$). 42. den stoupla účinnost na 70,34 %, aby následně postupně klesala na 55,04 % na konci I. etapy.

5.1.6 Hodnota CHSK a rychlost odstranění CHSK

V rámci první etapy proběhlo 5 měření hodnoty CHSK (Graf 11). Koncentrace na vstupu se pohybovala kolem hodnoty $10,00 \pm 0,89 \text{ g/l}$ (maximum $11,50 \text{ g/l}$ a minimum $9,25 \text{ g/l}$). Hodnoty CHSK na výstupu z reaktoru byly zpočátku (1. den) velmi nízké ($0,70 \text{ g/l}$). Při měření 27. den experimentu byla hodnota již $6,20 \text{ g/l}$ a narůstala dále až na $8,50 \text{ g/l}$ v poslední den I. etapy. Průměrná hodnota účinnosti odstranění byla 27 %.

Graf 11 Hodnota CHSK, I. etapa

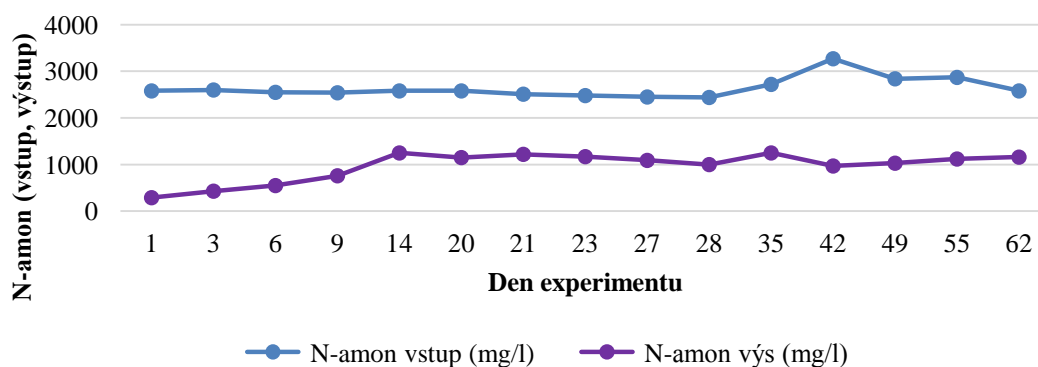


5.1.7 Koncentrace N-amon

Na počátku (1. den) I. etapy byla vstupní koncentrace N-amon 2580 mg/l (Graf 12) a až do 28. dne se pohybovala v průměru kolem hodnoty $2531 \pm 58,01$ mg/l. 35. den vzrostla na 2720 mg/l a v růstu pokračovala až na 3270 mg/l den 42. V následujících třech měřeních klesla zpět na 2580 mg/l den 62.

Výstupní koncentrace N-amon byla na počátku minimální (290 mg/l 1. den experimentu). Poté postupně stoupala až na 1250 mg/l 14. dne. Do 28. dne se poté s minimálními výkyvy pohybovala kolem průměrné hodnoty $1126 \pm 84,43$ mg/l. 35. den hodnota stoupla na 1250 mg/l. Po následném poklesu na 970 mg/l den 42. se koncentrace N-amon až do konce I. etapy pohybovala kolem průměrné hodnoty $1070 \pm 66,58$ mg/l.

Graf 12 Koncentrace N-amon, I. etapa



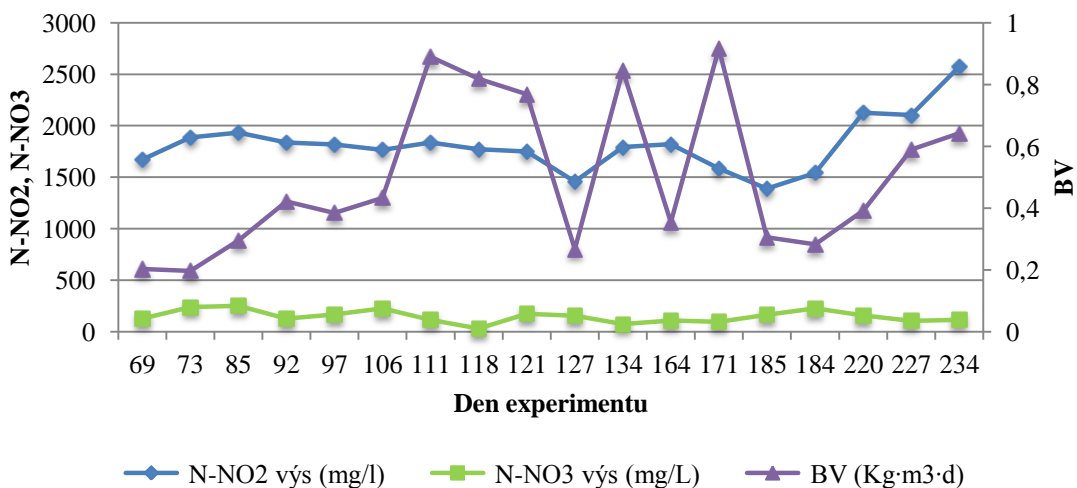
5.2 Druhá etapa

Druhá etapa trvala celkem 172 dní a probíhala v ní již převážně nitritace. Převažujícím konečným produktem byl N-NO_2^- , koncentrace N-NO_3^- byly oproti I. etapě minimální, jak bude podrobněji popsáno níže.

5.2.1 Objemové zatížení

Hodnota objemového zatížení na začátku II. etapy (63. den experimentu) byla $0,20 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$ (Graf 13). Následoval postupný vzestup na hodnoty kolem $0,43 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$ (106. den). 111. den experimentu hodnota B_V skokově stoupla na $0,89 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$. A kolem této hodnoty ($0,83 \pm 0,06 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$) setrvala až do 121. dne. Mezi 127. a 185. dnem B_V dvakrát skokově pokleslo (až na hodnoty $0,27 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$) a opět vystoupalo až k hodnotám $0,92 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$. Po posledním skokovém snížení na $0,28 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$ (184. den) začala hodnota B_V opět plynule stoupat až na konečných $0,64 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$ poslední den pokusu.

Graf 13 Koncentrace N-NO_2^- , N-NO_3^- a hodnota B_V , II. etapa



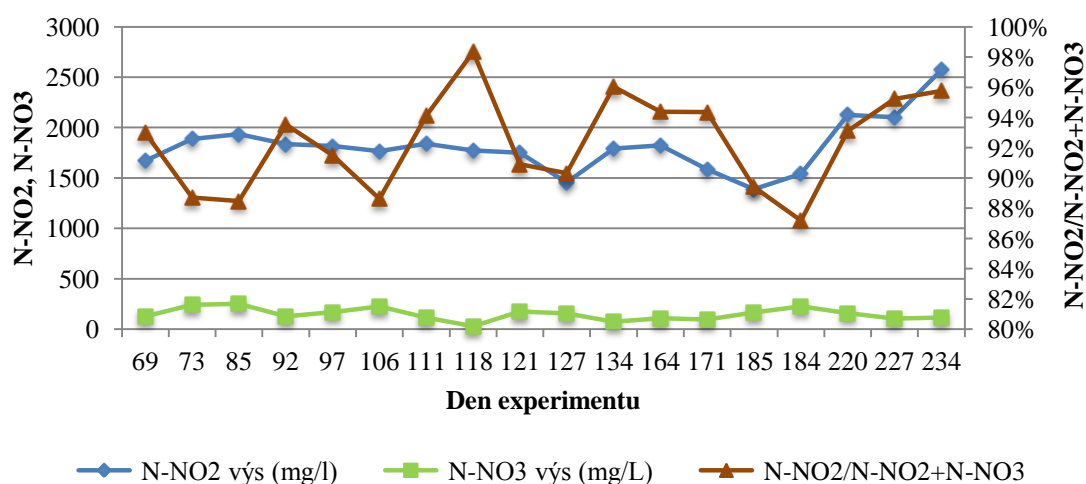
5.2.2 Formy N v odtoku

Koncentrace N-NO_2^- se mezi 63. a 234. Dnem pohybovala v rozmezí 1388 mg/l až 2574 mg/l s průměrnou hodnotou $1848 \pm 270,63 \text{ mg/l}$. Z počátku II. etapy (mezi 63. a 121. dnem) se koncentrace N-NO_2^- pohybovala kolem $1808,00 \pm 77,99 \text{ mg/l}$. 127. den následně poklesla

na 1456,00 mg/l s následným vzestupem až k 1822 mg/l (164. den). 185. den nastal opět pokles na hodnotu 1388,00 mg/l. Poté koncentrace N-NO_2^- plynule stoupla až na 2574,00 mg/l poslední den experimentu.

Koncentrace N-NO_3^- dosáhla maximálně 252,00 mg/l a její průměrná hodnota v průběhu II. etapy byla $150,00 \pm 60,42$ mg/l. Vztah mezi N-NO_2^- a N-NO_3^- vyjádřený jako poměr koncentrace dusitanového dusíku ke koncentraci celkového oxidovanému dusíku je vyjádřen v Grafu 14, kde je vidět, že minimální hodnota byla 87,19 % (184. den experimentu) a většina hodnot se pohybovala nad 90 %.

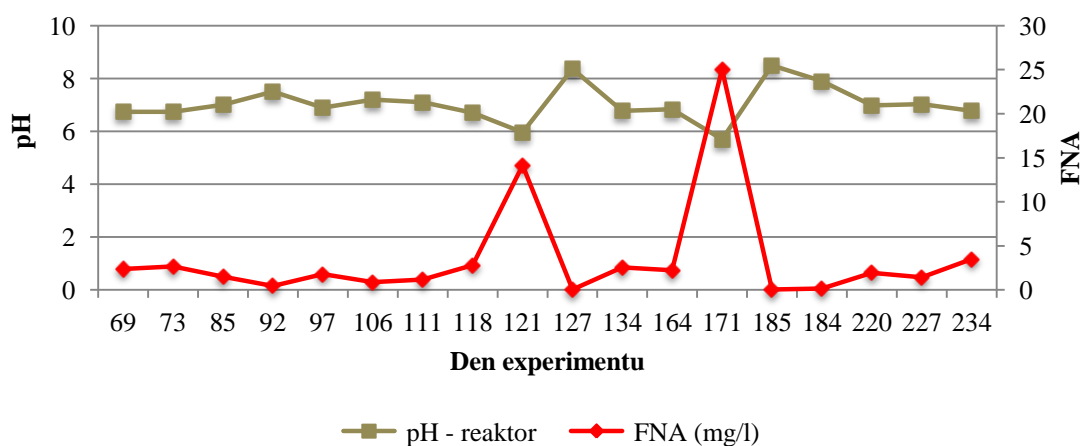
Graf 14 Koncentrace N-NO_2^- , N-NO_3^- , zastoupení N-NO_2^- mezi konečnými produkty nitrifikace, II. etapa



5.2.3 Koncentrace FA a FNA

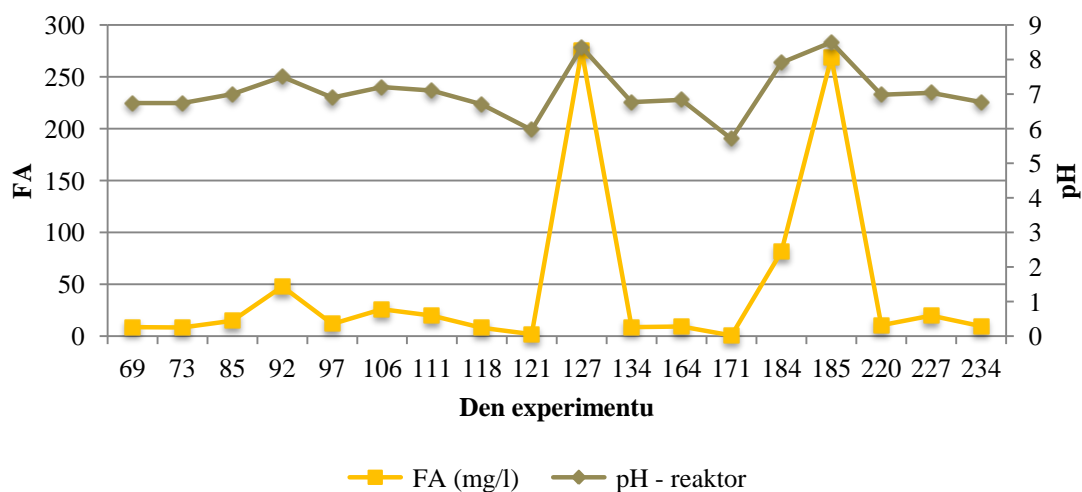
Maximální koncentrace FNA (Graf 15) dosahovala v průběhu II. etapy hodnot 25,06 mg/l (171. den) a minimální 0,04 mg/l (185. den). Jak ukazuje Graf 15, je patrné, že stejně jako v I. etapě koncentrace FNA narostla/poklesla v souvislosti s poklesem/vzestupem pH. Mezi 63. a 118. dnem byla průměrná hodnota koncentrace FNA $1,70 \pm 0,86$ mg/l. 121. den skokově stoupla na 14,14 mg/l a následně opět poklesla na hodnoty kolem 1,60 mg/l, které vydržely až do 171. dne, kdy opět koncentrace stoupla na 25,06 mg/l. Od 184. dne poté již koncentrace zůstávala na průměrné hodnotě 1,41 mg/l.

Graf 15 Koncentrace FNA a hodnota pH, II. etapa



Maximální koncentrace FA (Graf 16) v průběhu II. etapy činila 275 mg/l (127. den), minimální poté 0,670 mg/l (171. den). Od 63. do 85. dne se koncentrace FA pohybovala na průměrné hodnotě $10,6 \pm 3,58$ mg/l. 92. den koncentrace skokově vzrostla na 47,9 mg/l a následně postupně klesala až na hodnotu 1,76 mg/l (121. den). Následoval skokový vzestup až na 275 mg/l (127. den) a opět pokles na nízké koncentrace. 184. a 185. den koncentrace FA opět stoupla na 81,5 mg/l respektive na 269 mg/l. V průběhu posledních tří měření (220. až 234. den experimentu) byla průměrná hodnota koncentrace $13,3 \pm 5,54$ mg/l.

Graf 16 Koncentrace FA a hodnota pH, II. etapa

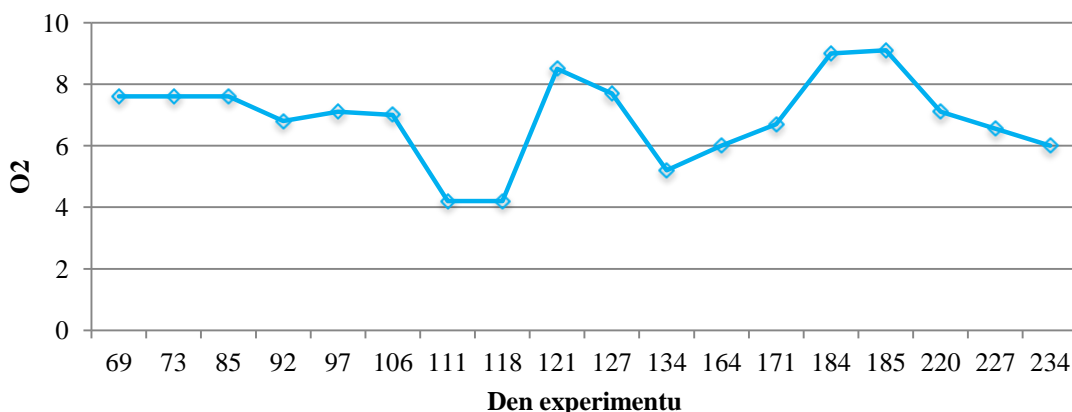


5.2.4 Hodnota pH a koncentrace O₂

Na počátku II. etapy se hodnota pH (Graf 15, Graf 16) pohybovala kolem hodnoty 7 (63. až 118. den). 121. den došlo k poklesu na hodnotu 5,96 a hned 127. den ke skokovému zvýšení na 8,36, které bylo způsobeno výše popsanou havárií. pH poté kleslo opět až na hodnotu 5,70 (171. den experimentu). Během následujících dvou měření (184. a 185. den) hodnota opět vzrostla na 7,90 respektive 8,50. V závěru II. etapy se hodnota pH vrátila opět k nižším hodnotám z počátku etapy ($6,93 \pm 0,14$).

Koncentrace O₂ (Graf 17) měla v prvních dnech II. etapy (69. až 106. den) průměrnou hodnotu $7,3 \pm 0,36$ mg/l. Po celou dobu II. etapy se koncentrace O₂ pohybovala v rozmezí mezi 4,2 a 9,1 mg/l.

Graf 17 Koncentrace O₂, II. etapa



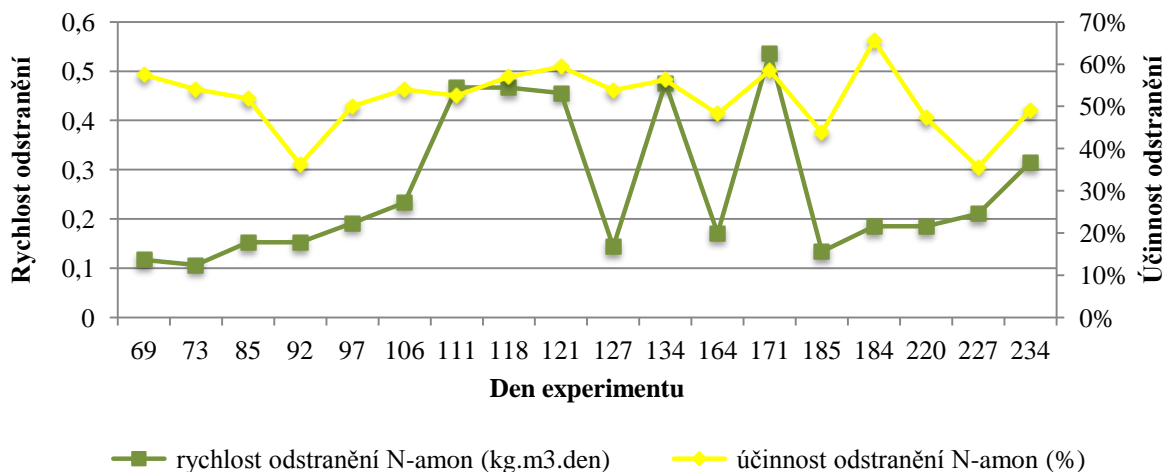
5.2.5 Rychlost a účinnost odstraňování N-amon

Hodnota rychlosti odstranění N-amon (Graf 18) byla 69. den experimentu $0,12 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$ a do 106. dne pozvolna rostla na $0,23 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$. 111. den experimentu došlo ke skokovému nárůstu na $0,47 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$, což byla hodnota vypočtená i pro 118 den. Následující měření 121. den ukázalo hodnotu pouze o setinu menší, tedy $0,46 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$. V následujících čtyřech měřeních došlo ke skokovým změnám rychlosti odstraněného N-amon. Nejdříve poklesla na $0,14 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$. Poté následoval vzestup na $0,48 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$. Stejný vzor se opakoval i poté, tentokrát s poklesem na $0,17 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$ a vzestupem na $0,54 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$. 184. den nastal opět pokles na $0,19 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$ a od té doby rychlost odstranění

rostla na konečných $0,31 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$ 234. den experimentu.

Účinnost odstranění N-amon (Graf 18) se pohybovala mezi 50 a 60 % s výjimkou šesti měření, při kterých účinnost poklesla až na 35,67 % (227. den) a jednoho měření, kdy byla naopak účinnost 65,55 % (184. den).

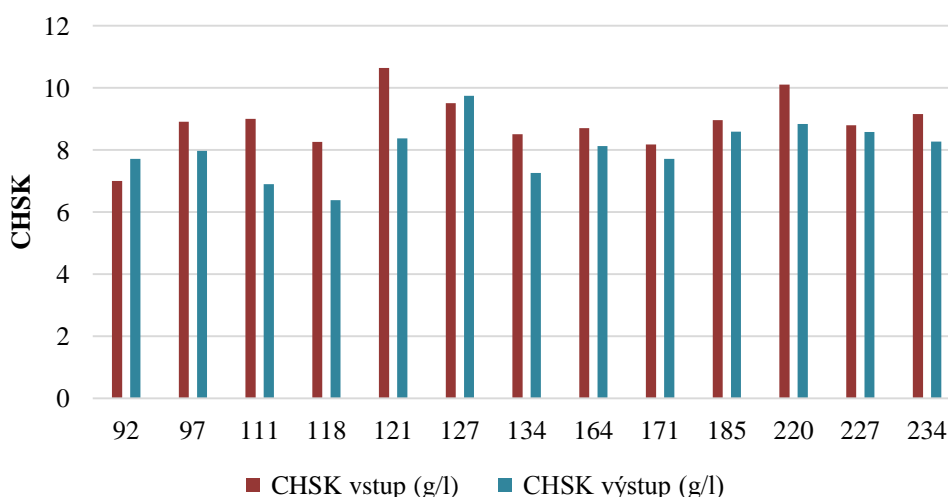
Graf 18 Rychlost a účinnost odstranění N-amon, II. etapa



5.2.6 Hodnota CHSK a rychlost odstranění CHSK

V rámci II. etapy proběhlo 13 měření hodnota CHSK (Graf 19). Koncentrace na vstupu se pohybovala kolem hodnoty 8 g/l (maximum 9,74 g/l 127. dne a minimum 6,38 g/l 118. dne). Hodnoty CHSK na výstupu z reaktoru v některých případech převyšovaly hodnoty CHSK na vstupu (ve dnech 92 a 127). Účinnost odstranění CHSK v II. etapě se pohybovala pouze kolem 10 %.

Graf 19 Hodnota CHSK, II. etapa

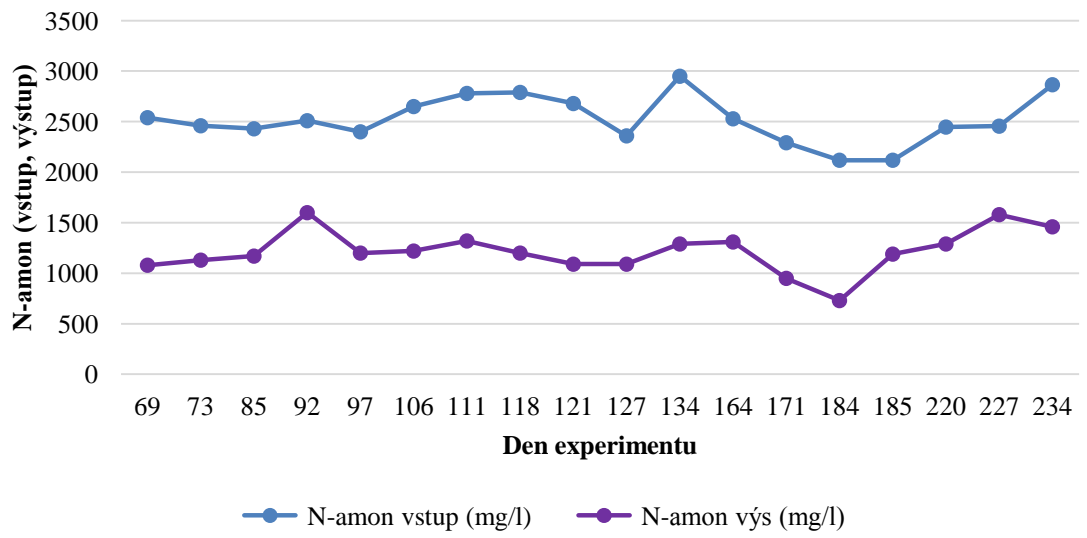


5.2.7 Koncentrace N-amon

Vstupní koncentrace N-amon se od 69. do 97. dne pohybovala kolem průměrné hodnoty 2468 ± 57 mg/l. Následovalo pozvolné zvýšení až na 2780 mg/l 111. den a opět pozvolný pokles na 2360 mg/l. Při následujícím měření (134. den) přišlo skokové zvýšení na 2950 mg/l. Jednalo se ale pouze o jednorázové zvýšení, po kterém koncentrace N-amon opět klesala na 2119 mg/l 185. den experimentu. Od této hodnoty poté koncentrace rostla na konečných 2866 mg/l 234. den etapy.

Výstupní koncentrace N-amon se v prvních dnech (69 – 85) II. etapy pohybovala kolem průměrné hodnoty 1126 ± 65 mg/l. Poté koncentrace skokově vzrostla na 1600 mg/l dne 92. Následně klesla zpět na 1200 mg/l (97. den) a až do 164. dne se pohybovala kolem průměrné hodnoty 1215 ± 90 mg/l. Následoval postupný pokles až na 730 mg/l 184. den. Od této chvíle koncentrace N-amon na výstupu rostla až na hodnotu 1460 mg/l 234. den experimentu. Koncentraci N-amon v II. etapě podrobněji znázorňuje následující Graf 20.

Graf 20 Koncentrace N-amon, II. etapa



6 Diskuze

V průběhu experimentu byla pozorována různá úroveň nitritace a nitratace. Přechodná či dlouhodobá akumulace dusitanů pozorovaná během experimentu svědčí o inhibici nitratace a pozorovaná nízká koncentrace dusitanů při vysoké koncentraci dusičnanů na začátku I. etapy naopak o vysoké aktivitě obou procesů. Cílem této diskuze je jednak objasnit závislost průběhu nitritace a nitratace zejména na koncentracích FNA a FA, jednak posoudit možnosti využití nitrifikované kapalně fáze digestátu pro odstraňování sulfanu z bioplynu.

6.1 Zapracování

Rychlé zapracování nitrifikace s dusičnany jako hlavním produktem v první fázi modelu bylo ovlivněno tím, že došlo nejdříve k naplnění celého reaktoru inokulem a teprve poté k dávkování kapalně fáze digestátu. Přítomnost faktorů inhibujících nitrataci byla v inokulu hluboko pod inhibičními limity (viz. kapitola 3.2.2). Koncentrace N-amon byla 12 mg/l a koncentrace NO_2^- a NO_3^- byla pod detekční mezí, což jsou dle Buday et al. (1999) či Anthonisen et al. (1976) podlimitní koncentrace. Hodnota pH inokula byla 7,26, což je dle Park et al. (2007) hodnota, při které by inhibice nitrifikace neměla probíhat. Ani dávkování kapalně fáze digestátu s vysokou koncentrací N-amon tak v prvních 20 dnech experimentu neovlivnilo průběh obou fází nitrifikace. Teprve zvýšení B_V a pokles pH 21. den pokusu vedlo k počátku inhibice NOB a vzrůstu koncentrace N- NO_2^- , jak bude popsáno dále.

Zajímavým zjištěním je, že mezi 1. a 20. dnem experimentu byla koncentrace FA mezi 3 až 5 mg/l, což převyšuje inhibiční koncentrace pro nitrataci (Anthonisen et al., 1976 uvádí, že FA má inhibiční vliv na nitrataci při koncentraci 0,1 až 1 mg/l, kdy již při koncentraci FA > 0,3 mg/l dochází k akumulaci dusitanů), přesto k inhibici nitratace nedocházelo. Předpokládáme tedy, že větší vliv na průběh nitratace měla koncentrace FNA než FA. Toto zjištění je ale v rozporu s některými dalšími pokusy. Např. Buday et al. (1999) uvádí, že FNA na nitrataci inhibiční vliv nemá.

6.2 Faktory ovlivňující zastoupení produktů nitrifikace

V průběhu první etapy spolu s inhibicí nitratace a nárůstem koncentrace N- NO_2^- rostl poměr dusitanového dusíku k celkovému zoxidovanému dusíku až k 80 % při maximálních

hodnotách B_V kolem $0,6 \text{ kg.m}^{-3}.\text{den}^{-1}$. Ve druhé etapě se poté průměrná hodnota tohoto poměru pohybovala kolem 92 %, což potvrzuje téměř úplnou inhibici nitratace. Při pokusu, který prováděl Yamamoto et al. (2006), bylo dosaženo inhibice nitratace při B_V $1,9 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ a poměr $\text{N-NO}_2^-/\text{N-NO}_2^- + \text{N-NO}_3^-$ byl vždy nad 95 %. Při tomto pokusu byl nitrifikován tekutý odpad z fermentace močůvky z prasečího velkochovu. pH zpracovávaného materiálu bylo 8,3, CHSK 8–17 g/l a N-amon 3–5 g/l. Jako reaktor byl použit „swim bed reactor“ o objemu 2,5 l s volně plujícím nosičem biomasy, který fungoval jako biofiltr, Li et al. (2011) při pokusu s částečnou nitrifikací v SBR reaktoru a vstupní koncentrací N-amon kolem 300 mg/l dosahoval poměru přes 90 %. V rámci tohoto pokusu byla použita synteticky připravovaná odpadní voda s pH mezi 7,1 a 7,4, CHSK 100-300 mg/l a N-amon 300 mg/l.

Dle výsledků prezentovaných v této diplomové práci předpokládáme, že průběh a případná inhibice nitritace a nitratace jsou ovlivněny zejména pH a koncentracemi FA a FNA (což jsou všechno hodnoty ovlivňované objemovým zatížením B_V a jejich vzájemnými interakcemi). Jak uvádí Anthonisen et al. (1976), při nitritaci dochází k produkci H^+ a tedy snížení pH, což se projevuje zejména u vod s nízkou neutralizační kapacitou a vysokou koncentrací N-amon. Když se sníží pH (a nedojde zároveň k poklesu koncentrace NO_2^-), koncentrace FNA vzroste. Při zvýšení B_V nad $0,3 \text{ kg.m}^{-3}.\text{den}^{-1}$ 20. den experimentu (což je dle Švehla et al. (2007) hraniční koncentrace vedoucí k inhibici nitratace) došlo v rozmezí mezi 20. a 28. dnem k nárůstu koncentrace NO_2^- a poklesu pH (pokles pH byl až kolem hodnoty 5). Jak uvádí Park et al. (2007), pro AOB leží optimum pH v rozsahu $8,2 \pm 0,3$ a $7,9 \pm 0,4$ pro NOB. Jak uvádí Fumasoli et al. (2015), inhibiční limit pH pro *Nitrosomonas europaea* je 5,4. Předpokládáme, že pokles pH měl tedy inhibiční efekt na nitrataci, což způsobilo hromadění dusitanů, které se již dále nepřeváděly na dusičnany. Otázkou je, proč nedošlo k inhibici NOB i AOB a hromadění N-amon, namísto hromadění N-NO_2^- , jak ukazují výsledky. Předpokládáme, že je to způsobeno vyšší citlivostí NOB na hodnotu pH, jak uvádí Park et al. (2007).

Výše zmíněné hodnoty pH ale nebyly jediným inhibičním faktorem. Zároveň s poklesem pH dochází k vzestupu koncentrace FNA, jejíž hodnoty značně překračovaly hodnoty uváděné jako limitní pro inhibici nitrifikace (dle Anthonisen et al., 1976 začíná inhibice již v rozmezí 0,22 až 2,8 mg/l). Vzestup koncentrace FNA zapříčinil inhibici zejména nitratace a tedy hromadění dusitanů. Přestože B_V zůstávalo až do 35. dne experimentu pod hodnotou $0,4 \text{ kg.m}^{-3}.\text{den}^{-1}$, začalo stoupat pH a zároveň kontinuálně růst koncentrace N-NO_2^- .

Přestože koncentrace FNA mnohonásobně převyšovala inhibiční limity pro nitritaci i nitrataci, došlo dle výsledků pouze k inhibici nitratace, zatímco nitritace nadále probíhala i při koncentraci FNA přes 20 mg/l. Růst koncentrace N-NO_2^- byl v rámci první etapy pokusu přerušen 36. den pokusu. Předpokládáme, že tato inhibice nitritace byla způsobena vzestupem pH nad 8 (způsobeným krátkodobým přetížením reaktoru) a s tím spojeným vzestupem koncentrace FA až k extrémním hodnotám kolem 600 mg/l, což několikanásobně převyšuje inhibiční limit (Anthonisen et al. (1976), uvádí, že FA má inhibiční účinek na nitrititaci při koncentraci 10 až 150 mg/l).

Na začátku druhé etapy (69. až 118. den) byla koncentrace FNA v průměru $1,7 \pm 0,86$ mg/l, což jsou hodnoty inhibiční pouze pro nitrataci, která opravdu probíhala pouze minimálně (viz. koncentrace NO_3^- např. Graf 13). Koncentrace FA byla ve stejném období v průměru 36 ± 12 mg/l. Přestože někteří autoři (Anthonisen et al., 1976) uvádí tuto hodnotu již jako inhibiční pro nitritaci, k pozorovatelné inhibici nedocházelo. Předpokládáme tedy, že nitratace byla inhibována jak koncentrací FNA, tak i koncentrací samotného N-NO_2^- , protože inhibiční limity byly překročeny pro oba dva faktory. Buday et al. (1999) uvádí, že inhibice nitratace o 50 % byla dosažena již při koncentraci N-NO_2^- 198 mg/l. Tato hodnota byla v průběhu celé druhé etapy pokusu několikanásobně překročena. Od 21. dne experimentu se koncentrace N-NO_2^- pohybovala nad hodnotou 300 mg/l a průměrná hodnota v průběhu celého experimentu byla 1000 mg/l. Předpokládáme tedy, že k počáteční inhibici nitratace nízkým pH a vysokou hodnotou FNA a následně FA se postupně přidává N-NO_2^- jakožto dominantní inhibiční faktor.

Předpokládáme, že vliv koncentrace O_2 a teploty na inhibici jednotlivých fází nitrifikace byl zanedbatelný. Jak uvádí Gerardi (2002) a Chudoba et al. (1991), při zvyšování koncentrace O_2 až k 2,9 mg/l a výše nastává maximální nitrifikace. Při dalších pokusech na SBR reaktorech (Ciudad et al., 2007) byl též prokázán pozitivní vliv koncentrace O_2 na průběh nitrifikace. Nitrifikace byla dle této práce pozorována od koncentrace 0,6 mg O_2 /l, při nižších hodnotách neprobíhala. Takovéto hraniční hodnoty se ovšem našeho experimentu netýkaly, protože v průběhu byla minimální naměřená hodnota 4,2 mg O_2 /l. Z toho důvodu se v rámci experimentu popsaného v této diplomové práci nepředpokládá, že by koncentrace O_2 mohla působit inhibičně na některou fázi nitrifikace. Naopak to svědčí pro to, že z hlediska koncentrace O_2 byly pro nitrifikaci nastaveny nejlepší možné podmínky. Podmínky dokonce tak dobré, že podle některých autorů (Li et al., 2011) takto vysoké hodnoty O_2 znesnadňují

inhibici nitratace FA a FNA, což ale v rámci našeho pokusu nebylo pozorováno.

Taktéž případný inhibiční vliv teploty na nitrifikaci není na základě dostupné literatury (Park et al., 2007; Van Hulle et al., 2007) předpokládán. Náš pokus neprobíhal v ideálních podmínkách pro nitrifikaci, které jsou dle Van Hulle et al. (2007) mezi 35 – 45 °C. Průměrná teplota v reaktoru se pohybovala kolem 23 °C. To jsou podmínky poměrně snadno dosažitelné v praxi při nitrifikaci kapalné fáze digestátu v objektech bioplynových stanic, kde je produkováno velké množství odpadního tepla (což je teplo, které je možné následně využít k regulaci teploty v nitrifikačním reaktoru), jak například demonstuje Botheju et al. (2010), který prováděl nitrifikaci digestátu při laboratorně kontrolované teplotě 25 °C. Ani při těchto teplotách nebyla však pozorovatelná inhibice nitrifikace. Podle jiných autorů (Gerardi, 2002) je ideální rozmezí pro nitrifikaci mezi 28 a 32 °C a teprve teplota kolem 16 °C může způsobit až 50 % pokles účinnosti nitrifikace oproti průběhu při 30 °C.

6.3 Účinnost odstranění N-amon

Při pokusu s částečnou nitrifikací kalové vody z anaerobní stabilizace kalu na SBR a při objemovém zatížení $1,2 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$ dosáhl Fux et al. (2006) 85 – 90 % odstranění N-amon. Jak uvádí Botheju et al. (2010), při úplné nitrifikaci na SBR a se vstupní hodnotou N-amon 1700 mg/l dosahovala účinnost odstranění N-amon 75 %. Koncentrace O_2 byla 8 mg/l a teplota kolem 25 °C, což jsou hodnoty srovnatelné s naším experimentem. Objemové zatížení dusíkem v tomto experimentu dosahovalo maximálně $0,04 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$, což jsou hodnoty mnohonásobně nižší, než činilo objemové zatížení v rámci našeho pokusu. Zároveň je potřeba zmínit, že vysoká účinnost odstranění N-amon pozorovaná na začátku experimentu presentovaného v rámci této diplomové práce je pouze zdánlivá, což je dáno tím, že v reaktoru na začátku téměř žádný dusík nebyl a teprve postupně se jeho koncentrace ustalovala postupným přísunem tekuté fáze digestátu.

6.4 Účinnost odstranění CHSK

V rámci stejného pokusu (Fux et al., 2006) bylo dosaženo přibližně 40 % snížení CHSK při vstupní hodnotě CHSK 3260 mg/l, což indikuje vysokou heterotrofní bakteriální aktivitu. Při našem experimentu byla oproti tomu účinnost odstranění CHSK velice nízká. Průměrná účinnost v průběhu celého experimentu se pohybovala kolem 13 %. Pro uspokojivé vyčištění

tekuté fáze digestátu bude potřeba organické látky odstranit jinak než biologicky, například srážením, či zvolit mnohem nižší objemové zatížení.

6.5 Optimalizace vzhledem k následnému využití nitrifikované tekuté fáze digestátu pro autotrofní denitrifikaci se sírou

Při následném využití nitrifikované tekuté fáze digestátu budou hrát roli zejména faktory, které jsou v literatuře uváděné jako inhibiční. Jedná se zejména o koncentraci NO_3^- , NO_2^- a hodnotu pH.

Optimální hodnota pH, při které by mohlo být dosaženo maximální účinnosti odstranění N-amon, byla navržena v rozmezí od pH 7,5 až 8 (Claus et Kutzner, 1985). Dle Oh et al. (2000) 6,5 až 7,5. Hodnoty pH v rámci našeho experimentu se pohybovaly v rozmezí 6,5 až 8 od 42. dne s výjimkou 55. dne (8,17), 121. dne (5,96), 127. dne (8,36), 171. dne (5,70) a 185. dne (8,50). Pokud by tedy pro následnou autotrofní denitrifikaci byl použit výstup z druhé části I. fáze popř. II. fáze experimentu, nemělo by pH mít negativní vliv na její průběh.

Jak uvádí Oh et al. (2000), inhibice denitrifikace způsobená NO_3^- se objevila, když jeho koncentrace dosáhla kolem 660 mg/l. Při pokusu byla použita uměle připravovaná odpadní voda. V rámci našeho experimentu bylo těchto hodnot dosahováno v prvních 27 dnech, kdy ve větší míře probíhala i nitratace. Výstup z tohoto období tedy můžeme považovat pro další použití při autotrofní denitrifikaci za nevhodný. Tento problém by bylo možné řešit například naředěním nitrifikované tekuté části digestátu. Pro další výzkum by pak bylo zajímavé ověřit adaptaci mikroorganismů podílejících se na autotrofní denitrifikaci na vysoké koncentrace NO_3^- .

Inhibiční efekt NO_2^- na autotrofní denitrifikaci byl dle Krishnakumar et Manilal (1999) pozorován již při 30 mg/l. Dle Chung et al. (2014) byla účinnost odstranění dusíku při autotrofní denitrifikaci při počáteční koncentraci NO_2^- 1000 mg/l pouhých 35 %, což ukazuje, že takto vysoká koncentrace je pro autotrofní denitrifikaci inhibiční. Stejný autor považuje za ideální maximální koncentraci NO_2^- pro autotrofní denitrifikaci 800 mg/l. Při pokusu byla použita uměle připravovaná odpadní voda. V rámci našeho experimentu překročila koncentrace NO_2^- hranici 1000 mg/l poprvé 28. den a od 42. dne se nad ní pohybovala až do

konce II. etapy. Je tedy otázkou, jaký vliv budou mít takto vysoké koncentrace na průběh autotrofní denitrifikace.

Vycházíme-li z výše uvedených literárních údajů, je možné stanovit dvě hlavní doporučení pro optimalizaci provozu reaktoru, aby se jeho výstup dal využít k následné autotrofní denitrifikaci se sírou, aniž by hrozilo riziko snížené účinnosti z důvodu substrátové inhibice. Prvním z nich je snaha o udržení koncentrace NO_3^- pod limitní koncentrací, čehož by mohlo být docíleno zrychlením zapracování reaktoru zejména zvýšením objemového zatížení na hranici $0,3 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{den}^{-1}$ již v počátku experimentu se současným ohledem na to, aby nedošlo k přetížení reaktoru. Druhé doporučení souvisí s koncentrací NO_2^- , kterou je též třeba držet pod úrovní 800 mg/l , čehož může být dosaženo jak snížením objemového zatížení po zapracování reaktoru, či snížením koncentrace O_2 , jehož nižší koncentrace působí na průběh nitritace taktéž inhibičně. Při řešení koncentrací NO_2^- i NO_3^- je potřeba přihlídnout i k faktu, že oba v autotrofní denitrifikaci slouží jako akceptor elektronů. Avšak jeden atom N-NO_2^- je schopen akceptovat při redukci na N_2 pouze 3 elektrony, kdežto N-NO_3^- 5 elektronů a z hlediska efektivity průběhu reakce by měl být brát jakožto preferovaný produkt nitrifikace pro následnou autotrofní denitrifikaci.

6.6 Návrhy na směřování dalšího výzkumu

Pro optimalizování výkonu reaktoru, zejména zvýšení jeho účinnosti by bylo možné využít řízení hodnoty pH. Jak uvádí Jenicek et al. (2004), při pokusech s kalovou vodou z ČOV bylo dosaženo účinnosti větší než 75 % řízeným přidáváním $1,5 \text{ g NaOH /l}$, které pH udrželo na průměrných hodnotách 7,88. Při takovýchto hodnotách je minimální koncentrace FNA a tedy i inhibice nitritace by měla být minimální.

Vzhledem k inhibičním koncentracím NO_3^- a NO_2^- na průběh autotrofní denitrifikace uváděných v literatuře by bylo vhodné experimentálně ověřit, jak velký vliv tato inhibice hraje a zda-li se může stát překážkou pro takovéto využití kapalně fáze digestátu. Zároveň by bylo možné ověřit, jestli kapalně fáze digestátu s takto vysokými vstupními hodnotami N-amon může být nitritací čištěna tak, aby koncentrace NO_2^- na výstupu byla pod inhibiční hodnotou.

7 Závěr

Jak ukazují výsledky, je možné tekutou fází digestátu s extrémními koncentracemi N-amon přes 2 g/l zpracovávat nitritací, které je možné dosáhnout bez externí regulace pH či vnějšího upravování pufrční kapacity. Bylo zjištěno, že pro navození částečné nitrifikace (tedy potlačení aktivity NOB) je při vstupní koncentraci N-amon > 2 g/l dostačující objemové zatížení menší než $0,3 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$ a s ním spojený pokles pH a vzestup koncentrací FA a FNA nad inhibiční limity. Při delším průběhu procesu poté již jako inhibiční faktor NOB působí dusitanový dusík, který neumožní obnovení činnosti NOB ani při opětovném poklesu objemového zatížení pod $0,3 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{den}^{-1}$ a návratu koncentrace FA mimo inhibiční limity. Ve chvíli, kdy koncentrace N-NO_2^- překročila koncentraci 300 mg/l a koncentrace FNA 13 mg/l, nedošlo již k obnově procesu nitratace.

Koncentrace FNA se ukázala jako málo významnou pro inhibici nitritace. Nitritace přes extrémní hodnoty FNA ($\text{FNA} > 20$ mg/l) naměřené přechodně v systému dosahovala z dlouhodobého hlediska uspokojivý průběh. Inhibiční vliv FNA na činnost NOB byl potvrzen.

U koncentrace FA byl v rámci našeho pokusu pozorován inhibiční vliv na činnosti AOB při krátkodobých extrémních koncentracích $\text{FA} > 150$ mg/l. Inhibiční vliv FA na činnost NOB byl kombinován s inhibičním vlivem FNA a nebylo možné určit, která ze dvou zmíněných sloučenin se na inhibici podílí větším dílem.

Pro další výzkum zůstává otázka využití nitrifikované tekuté fáze digestátu pro autotrofní denitrifikaci se sírou, protože dle některých autorů by mohl dusitanový dusík v koncentracích naměřených v rámci našeho pokusu působit na průběh autotrofní denitrifikace inhibičně. Zjištěné poznatky ale naznačují, že možnosti zpracování tekuté fáze digestátu jsou široké. Relativně snadný způsob, jakým je možné v substrátu s takto vysokými koncentracemi N-amon navodit zkrácenou nitrifikaci, dává prostor pro navázání dalších inovativních čistících procesů, jako je například Annamox.

8 Seznam literatury

Ahn, Y. 2006. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. *Process Biochemistry*. 41 (8). p. 1709-1721. DOI: 10.1016/j.procbio.2006.03.033.

Al Seadi, T., Drogg, B., Fuchs, W., Rutz, D., Janssen, R. 2013. Biogas digestate quality and utilization. *The Biogas Handbook*. Elsevier. DOI: 10.1533/9780857097415.2.267. ISBN 9780857094988. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780857094988500129>

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

Bachmann, N. 2013. Design and engineering of biogas plants. *The Biogas Handbook: science, production and application*. 1st pub. Oxford: Elsevier. p. 191. Woodhead Publishing series in energy. DOI: 10.1533/9780857097415.2.191. ISBN 9780857094988. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780857094988500087>

Bauer, A., Mayr, H., Hopfner-Sixt, K., Amon, T., Janssen, R. 2009. Detailed monitoring of two biogas plants and mechanical solid–liquid separation of fermentation residues. *Journal of Biotechnology*. Elsevier, 142 (1). p. 56-63. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2009.01.016. ISBN 9780857094988. ISSN 01681656. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168165609000364>

Botheju, D., Svalheim, O., Bakke, R. 2010. Digestate Nitrification for Nutrient Recovery. *The Open Waste Management Journal*. 3 (1). p. 1-12. DOI: 10.2174/1876400201003010001.

Buday, J., Drtil, M., Hutňan, M., Derco, J. 1999. *Chem. Papers*. 5. 379 s.

Ciudad, G., Gonzáles, R., Bornhardt, C., Antileo, C. 2007. Mode of operation and pH control as enhancement factors for partial nitrification with oxygen transport limitation. *Water research*. 41. p. 4621 – 4629. DOI: 10.1016/j.watres.2007.06.036.

Ciudad, G., Rubilar, O., Munoz, 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. DOI: 10.1016/j.procbio.2004.06.058. Dostupné

z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032959204002833>

Claus, G., Kutzner, H. 1985. Physiology and kinetics of autotrophic denitrification by *Thiobacillus denitrificans*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 22 (4). p. 283-288.

Da Costa Gomez, C. 2013. Biogas as an energy option: an overview. *The Biogas Handbook: science, production and application*. 1st pub. Oxford: Elsevier, 1. Woodhead Publishing series in energy. DOI: 10.1533/9780857097415.1. ISBN 9780857094988. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780857094988500014>

Dohányos, M. a kolektiv. *Anaerobní čistírenské technologie*. 1. vyd. Brno: NOEL 2000, 1998, 343 s. ISBN 80-860-2019-3.

Fajardo, C., Mora, M., Fernández, I., Mosquera-Corral, A., Campos, J.L., Méndez, R. 2014. Cross effect of temperature, pH and free ammonia on autotrophic denitrification process with sulphide as electron donor. *Chemosphere*. 97. p. 10-15. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.10.028. ISSN 00456535. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653513014288>

Fajardo, C., Mosquera-Corral, A., Campos, J.L., Méndez, R. 2012. Autotrophic denitrification with sulphide in a sequencing batch reactor. *Journal of Environmental Management*. 113. p. 552-556. DOI: 10.1016/j.jenvman.2012.03.018. ISSN 03014797. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301479712001375>

Forkes, J. 2007. Nitrogen balance for the urban food metabolism of Toronto, Canada. *Resources, Conservation and Recycling*. 52 (1). p. 74-94. DOI: 10.1016/j.resconrec.2007.02.003. ISSN 09213449. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0921344907000468>

Fumasoli, A., Morgenroth, E., Udert, K.M. 2015. Modeling the low pH limit of *Nitrosomonas eutropha* in high-strength nitrogen wastewaters. *Water Research*. 83. p. 161-170. DOI:

10.1016/j.watres.2015.06.013.

Fux, Ch., Velten, S., Carozzi, V., Solley, D., Keller, J. 2006. Efficient and stable nitrification and denitrification of ammonium-rich sludge dewatering liquor using an SBR with continuous loading. *Water Research*. 40. p. 2765-2775. DOI: 10.1016/j.watres.2006.05.003.

Gerardi, M.H. 2002. Nitrification and denitrification in the activated sludge process. New York: Wiley-Interscience. 12. p. 193. ISBN 04-710-6508-0.

Hellings, C., Schellen, A., Mulder, J., Vanloosdrecht, M., Heijnen, J., Op Den Camp, H.J.M. The sharon process: An innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water. DOI: 10.1016/S0273-1223(98)00281-9. ISBN 10.1016/S0273-1223(98)00281-9. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0273122398002819>

Horáková, M. 2003. Analytika vody. Vyd. 2., opr. a rozš. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. 335 s. ISBN 80-708-0520-X.

Chudoba, J., Wanner, J., Dohányos, M. 1991. Biologické čištění odpadních vod. Vyd. 1. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury. 465 s. Ochrana životního prostředí. ISBN 80-030-0611-2.

Chung, J., Amin, K., Kim, S., Yoon, S., Kwon, K., Bae, W. 2014. Autotrophic denitrification of nitrate and nitrite using thiosulfate as an electron donor. *Biotechnology Letters*. 21 (5). p. 437-440. DOI: 10.1016/j.watres.2014.03.071.

Jenicek, P., Svehla, P., Zabranska, J., Dohanyos, M. 2004. Factors affecting nitrogen removal by nitrification/denitrification. *Water Science and Technology*. 49 (5-6). p. 73 – 79.

Jetten, M., van Niftrik, L., Strous, M., Kartal, B., Keltjens, J., Op Den Camp, H.J.M. 2001. Biochemistry and molecular biology of anammox bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*. 12. p. 283-288. DOI: 10.1080/10409230902722783. ISBN 10.1080/10409230902722783. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10409230902722783>

Kampschreur, M.J., Tan, N.C.G., Kleerebezem, R., Picioreanu, C., Jetten, M.S.M., Van Loosdrecht, M.C.M., 2008b. Effect of dynamic process conditions on nitrogen oxides emission from a nitrifying culture. *Environ. Sci. Technol.* 42 (2), p. 429–435.

Kim, B.H., Gadd, G.M. 2008. *Bacterial physiology and metabolism*. New York: Cambridge University Press. 22. p. 529. ISBN 05-217-1230-0.

Kleerebezem, R., Mendez, R. 2002. Autotrophic denitrification for combined hydrogen sulphide removal from and post-denitrification. *Water Science and Technology*. 45 (10).

Koenig, A., Liu, L. 2004. Autotrophic Denitrification of High-Salinity Wastewater Using Elemental Sulfur: Batch Tests. *Water Environment Research*. 76 (1). p. 37-46. DOI: 10.2175/106143004X141564. ISSN 10614303. Dostupné také z: <http://openurl.ingenta.com/content/xref?genre=article>

Krishnakumar, B., Manilal, V.B., 1999. Bacterial oxidation of sulphide under denitrifying conditions. *Biotechnology Letters*. 21 (5), p. 437-440. DOI: 10.1023/A:1005584920800.

Kucera, I., Kozak, L., Dadák, V. 1986. The inhibitory effect of nitrite on the oxidase activity of cells of *Paracoccus denitrificans*. *FEBS Letters*. 205 (2). p. 333-336. DOI: 10.1016/0014-5793(86)80923-1. ISSN 00145793. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0014579386809231>

Lalucat, J., Bennasar, A., Bosch, R., Garcia-Valdes, E., Palleroni, N. J., Wagner, M. 2006. Biology of *Pseudomonas stutzeri*: Implications for Molecular Diversity Surveys. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 70 (2). p. 510-547. DOI: 10.1128/MMBR.00047-05. Dostupné z: <http://mmbbr.asm.org/cgi/doi/10.1128/MMBR.00047-05>

Li, J., Elliott, D., Nielsen, M., Healy, M.G., Zhan, X. 2011. Long-term partial nitrification in an intermittently aerated sequencing batch reactor (SBR) treating ammonium-rich wastewater under controlled oxygen-limited conditions. *Biochemical Engineering Journal*. 55 (3). p. 215-222. DOI: 10.1016/j.bej.2011.05.002. ISSN 1369703x. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1369703X11001434>

Murphy, J. D., Thamisiriroj, T. 2013. Fundamental science and engineering of the anaerobic digestion process for biogas production. *The Biogas Handbook: science, production and application*. 1st pub. Oxford: Elsevier. p. 104. Woodhead Publishing series in energy. DOI: 10.1533/9780857097415.1.104. ISBN 9780857094988. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780857094988500051>

Nishimura, S., Yoda, M. 1997. Removal of hydrogen sulfide from an anaerobic biogas using a bio-scrubber. *Water Science and Technology*. 36 (6–7). p. 349-356. DOI: 10.1016/S0273-1223(97)00542-8. ISBN 10.1016/S0273-1223(97)00542-8. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0273122397005428>

Oh, S.E., Kim, K.S., Choi, H.C., Cho, J., Kim, I.S. 2000. Kinetics and physiological characteristics of autotrophic denitrification by denitrifying sulfur bacteria. *Water Science and Technology*. 42. p. 349-356.

Paredes, D., Kusch, P., Mbwette, T. S. A., Stange, F., Muller, R. A., Koser, H. 2007. New Aspects of Microbial Nitrogen Transformations in the Context of Wastewater Treatment – A Review. *Engineering in Life Sciences*. 7 (1). p. 13-25. DOI: 10.1002/elsc.200620170. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/elsc.200620170>

Park, S., Bae, W., Chung, J., Baek, S.C. 2007. Empirical model of the pH dependence of the maximum specific nitrification rate. *Process Biochemistry*. 42 (12). p. 1671-1676. DOI: 10.1016/j.procbio.2007.09.010. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359511307002589>

Pedrazzi, S., Allesina, G., Belló, T., Rinaldini, C.A., Tartarini, P. 2015. Digestate as bio-fuel in domestic furnaces. *Fuel Processing Technology*. 130. p. 172-178. DOI: 10.1016/j.fuproc.2014.10.006. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378382014004214>

Petersson, A. 2013. Biogas cleaning. *The Biogas Handbook: science, production and application*. 1st pub. Oxford: Elsevier. p. 329. Woodhead Publishing series in energy. DOI: 10.1533/9780857097415.3.329. ISBN 9780857094988. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780857094988500142>

Pitter, P. 2009. Hydrochemie. 4., aktualit. vyd. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha. 7. s. 579. ISBN 978-80-7080-701-9.

Purkhold, U., Pommerening-Roser, A., Juretschko, S., Schmid, M.C., Koops, H.-P., Wagner, M. 2000. Phylogeny of All Recognized Species of Ammonia Oxidizers Based on Comparative 16S rRNA and amoA Sequence Analysis: Implications for Molecular Diversity Surveys. *Applied and Environmental Microbiology*. 66 (12) p. 5368-5382. DOI: 10.1128/aem.66.12.5368-5382.2000.

Radechovský, J., ŠVEHLA, P., Hrnčířová, H., Pacek, L., Balík, J. 2013. Inhibiční působení sloučenin dusíku při nitrifikaci odpadních vod. *Chem. listy*. 107. p. 829-896.

Rico, C., Rico, J.L., Tejero, I., Munoz, N., Gómez, B. 2011. Anaerobic digestion of the liquid fraction of dairy manure in pilot plant for biogas production: Residual methane yield of digestate. *Waste Management*. 31 (9-10). p. 2167-2173. DOI: 10.1016/j.wasman.2011.04.018. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X11002169>

Rodriguez-Caballero, Ribera, A., Balcázar, J.L., Pijuan, M. 2013. Nitritation versus full nitrification of ammonium-rich wastewater: Comparison in terms of nitrous and nitric oxides emissions. *Bioresource Technology*. 139. p. 195-202. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.04.021.

Separátor digestátu. Čerpadla míchadla [oline]. [cit. 2016-02-12]. Dostupné z: <http://www.cerpadla-michadla.cz/cerpadla-michadla/eshop/6-1-Separatory-kejdy-a-digestat/0/5/15-Separator-digestatu-Sepcom-65-m3-h-pro-BIOPLYN-STANICE>

Schéma bioplynové stanice. Agrikomp [online]. [cit. 2015-12-09]. Dostupné z: http://www.agrikomp.de/images/stories/processed/CZ/pdf/Schema_BPS-cs-CZ.jpg

Straka, F., Ciahotný, K., 2010. Bioplyn: [příručka pro výuku, projekci a provoz bioplynových systémů]. 3., zkrác. vyd. Praha: GAS. s. 305. ISBN 978-80-7328-235-6.

Švehla, P., Jeníček, P., Habart, J., Hanč, A., Černý, J. 2007. Využití akumulace dusitanů při biologickém čištění odpadních vod. *Chem. listy*. 101. s. 776-781.

Tchobanoglous, G., Burton, F.L., Stensel, H.D. 2003. Meltcalf & Eddy, Inc.'s Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, and Reuse, 4th ed., Tata McGraw-Hill Publishing company Ltd. 65. 580.

Ústřední čistírna odpadních vod. Pražské vodovody a kanalizace [online]. [cit. 2015-11-21]. Dostupné z: <http://www.pvk.cz/o-spolecnosti/technicka-a-vyrobni-data/zakladni-informace/cistirny-odpadnich-vod/>

Van Hulle, S., Volcke, E., Teruel, J.L., Donckels, B., Van Loosdrecht, M., Vanrolleghem, P.A. 2007. Influence of temperature and pH on the kinetics of the Sharon nitrification process: A review. *Journal of Chemical Technology*. 82 (5). p. 471-480. DOI: 10.1002/jctb.1692.

Xu, G., Yin, F., Chen, S., Xu, Y., Yu, H.-Q. 2016. Mathematical modeling of autotrophic denitrification (AD) process with sulphide as electron donor. *Water Research*. 91. p. 225-234. DOI: 10.1016/j.watres.2016.01.011. ISSN 00431354. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135416300112>

Yamamoto, T., Takaki, K., Koyama, T., Furukawa, K. 2006. Novel Partial Nitrification Treatment for Anaerobic Digestion Liquor of Swine Wastewater Using Swim-Bed Technology. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 102 (6). p. 497-503. DOI: 10.1263/Job.102.497.

Zhu, S., Chen, S. 2002. The impact of temperature on nitrification rate in fixed film biofilters. *Aquacultural Engineering*. 26 (4). p. 221-237. DOI: 10.1016/s0144-8609(02)00022-5.