



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA STAVEBNÍ

FACULTY OF CIVIL ENGINEERING

ÚSTAV VODNÍHO HOSPODÁŘSTVÍ KRAJINY

INSTITUTE OF LANDSCAPE WATER MANAGEMENT

OPTIMALIZACE LABORATORNÍHO DENITRIFIKAČNÍHO TESTU

OPTIMIZATION OF LABORATORY DENITRIFICATION TEST

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Klára Novotná

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. JITKA MALÁ, Ph.D.

BRNO 2022



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ FAKULTA STAVEBNÍ

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

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Student	Klára Novotná
Název	Optimalizace laboratorního denitrifikačního testu
Vedoucí práce	doc. Ing. Jitka Malá, Ph.D.
Datum zadání	30. 11. 2021
Datum odevzdání	27. 5. 2022

V Brně dne 30. 11. 2021

doc. Ing. Daniel Marton, Ph.D.
Vedoucí ústavu

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

PODKLADY A LITERATURA

Pitter P. 2015. Hydrochemie.

Horáková M. 2000. Analytika vody.

Další literatura dle vlastní literární rešerše.

ZÁSADY PRO VYPRACOVÁNÍ

Cílem bakalářské práce je optimalizace 28-denního laboratorního testu inhibice denitrifikace, vyvinutého na Ústavu chemie.

Studentka odzkouší vliv vybraných parametrů na stabilitu podmínek testu. Provede potřebné laboratorní experimenty, výsledky zpracuje do tabelární a grafické podoby a kriticky je vyhodnotí.

Výstupem bude metodika 28-denního testu inhibice denitrifikace s optimalizovanými parametry.

STRUKTURA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

VŠKP vypracujte a rozčleňte podle dále uvedené struktury:

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

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

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

ABSTRAKT

Smyvem ze zemědělské půdy se dostávají do povrchových i podzemních vod nejen vysoké koncentrace dusičnanů, ale také např. pesticidy. Cílem této bakalářské práce je optimalizace vstupní koncentrace dusičnanů pro laboratorní denitrifikační test, který umožní studium vlivu různých pesticidů na průběh denitrifikace a zároveň sledování jejich osudu v průběhu denitrifikačního procesu. Teoretická část práce popisuje koloběh a formy dusíku, podrobněji je rozebrána denitrifikace a faktory, které mají vliv na její průběh. V praktické části byl proveden 28denní laboratorní denitrifikační test, práce obsahuje popis použitých analytických metod, průběh a výsledky laboratorního měření. Na základě vyhodnocení průběhu chemické spotřeby kyslíku, koncentrace N-NO_x a denitrifikační rychlosti, byla jako vhodnější doporučena vstupní koncentrace dusičnanů 15 mg.l⁻¹.

KLÍČOVÁ SLOVA

Laboratorní denitrifikační test, inhibice denitrifikace, dusičnany, pesticidy

ABSTRACT

Leaching from agricultural fields not only releases high concentrations of nitrates into surface and groundwater, but also, for example, pesticides. The aim of this bachelor thesis is to optimize the input nitrate concentration of a laboratory denitrification test. This test will allow the study of the influence of different pesticides on the denitrification process and also the monitoring of their fate during this process. The theoretical part of the thesis describes the nitrogen cycle and its forms, the denitrification process and the factors that influence its progress are discussed in detail. In the practical part, a 28-day laboratory denitrification test was performed. Analytical methods used are described in the thesis as well as the process and the results of the laboratory experiment. Based on chemical oxygen demand profile, N-NO_x concentration profile and denitrification rate, an input nitrate concentration of 15 mg.l⁻¹ was recommended.

KEYWORDS

Laboratory denitrification test, inhibition of denitrification, nitrates, pesticides

BIBLIOGRAFICKÁ CITACE

Klára Novotná *Optimalizace laboratorního denitrifikačního testu*. Brno, 2022. 55 s.
Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta stavební, Ústav vodního
hospodářství krajiny. Vedoucí práce doc. Ing. Jitka Malá, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ O SHODĚ LISTINNÉ A ELEKTRONICKÉ FORMY ZÁVĚREČNÉ PRÁCE

Prohlašuji, že elektronická forma odevzdané bakalářské práce s názvem *Optimalizace laboratorního denitrifikačního testu* je shodná s odevzdanou listinnou formou.

V Brně dne 16. 5. 2022

Klára Novotná
autor práce

PROHLÁŠENÍ O PŮVODNOSTI ZÁVĚREČNÉ PRÁCE

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem *Optimalizace laboratorního denitrifikačního testu* zpracoval(a) samostatně a že jsem uvedl(a) všechny použité informační zdroje.

V Brně dne 16. 5. 2022

Klára Novotná
autor práce

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucí mé bakalářské práce, doc. Ing. Jitce Malé, Ph.D., za možnost zpracovávat zajímavé téma, za cenné rady a veškerý čas, který mi věnovala. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Kristíně Pánikové za vedení v laboratoři a nesmím zapomenout ani na svou rodinu, spolužáky a kamarády, kteří mi byli nejen po dobu studia oporou.

OBSAH

1	ÚVOD	10
2	CÍLE.....	11
3	DUSÍK VE VODÁCH	12
3.1	Formy dusíku.....	12
3.1.1	Amoniakální dusík	13
3.1.2	Kyanatany.....	14
3.1.3	Kyanidy	14
3.1.4	Elementární dusík a oxid dusný	15
3.1.5	Dusitany.....	15
3.1.6	Dusičnany.....	16
3.2	Koloběh dusíku.....	19
3.2.1	Fixace dusíku	20
3.2.2	Anammox	20
3.2.3	Amonifikace.....	21
3.2.4	Nitrifikace	21
3.2.5	Denitrifikace	22
4	28DENNÍ TEST INHIBICE DENITRIFIKACE	26
4.1	Průběh testu	26
4.2	Analytické metody.....	27
4.2.1	Stanovení pH a koncentrace kyslíku	28
4.2.2	Stanovení CHSK _{Cr}	28
4.2.3	Stanovení N-NO _x	29
4.2.4	Stanovení dusitanů	30
4.2.5	Výpočet denitrifikační rychlosti.....	31
5	VÝSLEDKY A DISKUSE	32
5.1	Průběh pH	32
5.2	Koncentrace O₂.....	33
5.3	Chemická spotřeba kyslíku	34

5.4	Koncentrace N-NO _x	35
5.5	Denitrifikační rychlost	37
5.6	Koncentrace dusitanů	39
6	ZÁVĚR.....	40
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	41
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	46
9	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	47
10	SEZNAM TABULEK.....	48
11	SEZNAM GRAFŮ	49
12	SEZNAM PŘÍLOH	50
13	PŘÍLOHY	51

1 ÚVOD

Významným zdrojem dusíku ve vodách je zemědělství – zejména používání dusíkatých hnojiv a chov dobytka. Smyvem ze zemědělské půdy se dostávají do povrchových i podzemních vod vysoké koncentrace dusičnanů (NO_3^-), které vedou ke zhoršení kvality vody, eutrofizaci a jsou rizikem pro zdroje pitné vody. [42]

K odstraňování dusičnanů přímo na odtoku ze zemědělské půdy se používají denitrifikační bioreaktory (zatím však především pouze v USA, Kanadě a na Novém Zélandu). Díky nim se tak do vod dostávají dusičnany ve snížených koncentracích. Otázkou však zůstává, jaký vliv na odstraňování dusičnanů (denitrifikaci) má přítomnost různých pesticidů a veterinárních antibiotik. Dochází ke zpomalení denitrifikace? Jsou společně s odstraňováním dusičnanů snižovány také koncentrace pesticidů? [42]

Jednotlivé pesticidy se liší svým složením a zároveň jejich různé kombinace mohou být toxičtější než samostatné pesticidy. Studiu osudu vybraných polutantů v denitrifikačních podmínkách se věnuje Ústav chemie FAST VUT a tato bakalářská práce je zaměřena na optimalizaci vhodné vstupní koncentrace dusičnanů pro udržení optimálních denitrifikačních podmínek pro standardizovaný test, pomocí něž pak budou jednotlivé polutanty testovány. [23][34]

2 CÍLE

Cílem bakalářské práce je optimalizace 28denního laboratorního testu inhibice denitrifikace. Testovaným parametrem je vstupní koncentrace dusičnanů (N-NO_3), výstupem má být vybrání vhodnější ze dvou koncentrací (15 mg.l^{-1} a 30 mg.l^{-1}) na základě jejich vlivu na průběh testu a udržení denitrifikačních podmínek.

3 DUSÍK VE VODÁCH

Dusík je nejvýznamnějším prvkem zemské atmosféry a tvoří asi 16 % hmotnosti bílkovin v organismech. Je to tzv. nutrient, tedy prvek nezbytný pro rozvoj mikroorganismů. Jakožto nepostradatelný pro život se dusík vyskytuje v mikroorganismech v povrchových, podzemních i odpadních vodách, včetně biologických procesů čištění a úpravy vody. Přílišné množství dusíku v povrchových vodách způsobuje eutrofizaci, tedy nadměrný růst rostlin a řas. Kromě přirozené eutrofizace v důsledku sedimentace v jezerech dochází také k eutrofizaci způsobené lidskou činností. Ta je způsobena zejména používáním dusíku v zemědělství (smyv z ploch hnojených dusíkatými hnojivy), či nesprávným nakládáním s odpadními vodami. Eutrofizace způsobuje zanesení vodních ploch zapáchajícím fytoplanktonem (např. sinicemi), zároveň se kvůli pokrytí hladiny květy řas omezuje pronikání světla, snižuje se růst rostlin a dochází k jejich odumírání. V mnoha sladkovodních jezerech se v létě vyskytují tzv. mrtvé zóny, ve kterých je pro většinu organismů nedostatek kyslíku. Následkem eutrofizace vod jsou tak vodní plochy zanesené fytoplanktonem (není možná rekreace), mrtvé zóny, odumírání vodních organismů, znečištění zdrojů pitné vody a v důsledku kvetení toxických druhů sinic byly zaznamenány otravy zvířat i lidí. [1][8][40]

V přírodě se dusík vyskytuje v různých formách, které dohromady tvoří tzv. koloběh dusíku. Mimo jiné je dusík součástí komunálních odpadních vod, pro správné navrhování čistíren odpadních vod je v normě uvedena specifická produkce dusíku 11 g/os./den. [7]

3.1 Formy dusíku

Ve vodách se dusík vyskytuje v rozdílných oxidačních stupních, v iontové a neiontové formě. Nejvýznamnější jsou následující oxidační stupně:

- III amoniakální dusík (NH_4^+ , NH_3), kyanatany (OCN^-), kyanidy (CN^-);
- I hydroxylamin (NH_2OH);
- 0 elementární dusík (N_2);
- +I oxid dusný (N_2O);
- +III dusitanový dusík (N-NO_2^-);
- +V dusičnanový dusík (N-NO_3^-). [1]

Dusík se do biosféry dostává organicky i anorganicky vázaný. Zdroji organického dusíku jsou zemědělské odpady (močůvka či siláže) a biomasa odumřelých organismů. Zdroji anorganického dusíku jsou splachy z půd hnojených dusíkatými hnojivy, srážkové a odpadní vody. [2]

3.1.1 Amoniakální dusík

Vyskytuje se ve vodách jako disociovaný iont NH_4^+ (amonný kationt) a nedisociovaný NH_3 (amoniak – ve skutečnosti $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, tedy hydrát). Dohromady tyto dvě formy tvoří celkový amoniakální dusík N-NH_4^+ . Poměr amoniaku a amonných kationtů je dán teplotou a pH vody. S rostoucí teplotou a rostoucím pH se podíl amoniaku v celkovém množství amoniakálního dusíku zvyšuje. [3]

Amoniakální dusík je přítomen téměř ve všech druzích vod, ovšem v různých koncentracích. Nejmenší koncentrace amoniakálního dusíku bývá v přírodních vodách (povrchových, podzemních i srážkových) a to v desetínách, výjimečně v nižších jednotkách mg.l^{-1} . Ve splaškových vodách se koncentrace amoniakálního dusíku pohybuje v desítkách mg.l^{-1} a v některých odpadních vodách z průmyslu a zemědělství mohou být až stovky mg.l^{-1} či jednotky g.l^{-1} amoniakálního dusíku. [3]

Výše zmíněný hydrát $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ vzniká rozpouštěním plynného amoniaku ve vodě a disociuje na ionty NH_4^+ a OH^- . Při překročení neutrálního pH ztrácí amonný kationt proton a přechází na NH_3 . Proces je popsán následujícími rovnicemi: [4]



Mezní hodnota pro amonné ionty NH_4^+ v pitné vodě je $0,50 \text{ mg.l}^{-1}$. Pro vypouštění odpadních vod z komunálních ČOV jsou limitní dvě hodnoty. První z nich, průměrná hodnota, stanovuje aritmetický průměr koncentrací N-NH_4^+ , který nesmí být za kalendářní rok překročen. Jednotlivé vzorky mohou tuto hodnotu překročit, žádný z nich ale při teplotě odpadní vody vyšší než $12 \text{ }^\circ\text{C}$ na odtoku z biologického stupně nesmí překročit stanovenou maximální hodnotu (m). Hodnoty pro jednotlivé kategorie ČOV podle počtu ekvivalentních obyvatel (EO) jsou uvedeny v Tab. 3.1. Pro kategorie, u nichž nejsou hodnoty uvedeny, může ve specifických případech vodoprávní úřad rozhodnout o výšce limitů. [10][11]

Tab. 3.1 Emisní standardy pro N-NH_4^+ [11]

Kategorie ČOV (EO)	N-NH_4^+ [mg.l^{-1}]	
	průměr	m
<500	-	-
500–2 000	20	40
2 001–10 000	15	30
10 001–100 000	-	-
> 100 000	-	-

Pro vypouštění odpadních vod z průmyslu platí limity od 4 mg.l⁻¹ pro výrobu barviv až do 100 mg.l⁻¹ pro koželužny (tříslučinění, aldehydické činění). [11]

Amoniakální dusík je toxický pro ryby a zooplankton, a jelikož je jedním z hlavních produktů rozkladu organických dusíkatých látek, je také tzv. indikátorem fekálního znečištění – náhlé zvýšení jeho koncentrace v podzemních vodách ukazuje na znečištění živočišnými odpady. [1]

3.1.2 Kyanatany

Kyanatany (OCN⁻) se do vod dostávají při čištění kyanidových odpadních vod (chemickém čištění oxidací chlorem, ozonem a peroxidem vodíku nebo biologickém čištění), kyanatany přírodního původu se ve vodách nevyskytují. Jsou asi tisíckrát méně toxické než kyanidy, proto se při odstraňování kyanidů z vod spokojujeme s jejich oxidací na kyanatany, které poté v recipientu hydrolyzují na hydrogenuhlíčitany a amonné sloučeniny (rovnice (3.4)). [1]



Při vypouštění odpadních vod z těžařského průmyslu se může stát, že jsou koncentrace kyanatanů natolik vysoké, že by mohly být toxické pro vodní organismy. Ačkoliv nejsou známa žádná zařízení zaměřená specificky na odstraňování kyanatanů, dochází k jejich odstraňování náhodně v ČOV navržených na odstraňování kyanidů či jiných příbuzných sloučenin. Například v severní Americe biologické ČOV u dolů zaměřené na odstraňování kyanidu, thiokyanátu a amoniaku, dokáží také snížit koncentrace kyanatanů z cca 300 mg.l⁻¹ na méně než 5 mg.l⁻¹. [9]

3.1.3 Kyanidy

Ve vodách jsou kyanidy (CN⁻) až na výjimky antropogenního původu. Nejčastějším zdrojem jsou odpadní vody z průmyslu, např. z úpravy kovů, výroby karbidu vápenatého či tepelného zpracování uhlí, v koncentracích až stovek mg.l⁻¹. Pokud se vyskytnou kyanidy přírodního původu, pak pouze ve stopových koncentracích (některé bakterie a řasy mohou produkovat kyanovodík). [1]

Kyanidy se vyskytují ve dvou formách – jednoduché a komplexní, jejich součtem jsou celkové kyanidy. Mezi jednoduché kyanidy se řadí např. anion CN⁻ a kyselina kyanovodíková (HCN). Jelikož je tato kyselina těkavá, je možné ji ve slabě kyselém prostředí odstranit pouze provzdušňováním. Anion CN⁻ je schopen tvořit komplexní kyanidy, které jsou však rozdílně stabilní, což působí problémy při jejich analýze. [1]

Kyanidy působí toxicky jak na ryby a ostatní vodní organismy, tak i na člověka. Podle Světové zdravotnické organizace (WHO) by neměli lidé pít vodu obsahující kyanidy o koncentraci více než 0,5 mg.l⁻¹ déle než pět dní, dlouhodobě by koncentrace

neměla překročit 0,08 mg.l⁻¹. Toxicitu vody ovlivňují zejména jednoduché kyanidy, které jsou velmi toxické, proto se voda (jak pitná, tak odpadní) kromě celkových kyanidů posuzuje i na jednoduché kyanidy. Aby mohla být povrchová voda použita k vodárenským účelům, nesmí v ČR překročit koncentrace 0,005 mg.l⁻¹ jednoduchých kyanidů a 0,3 mg.l⁻¹ celkových kyanidů. Limity pro vypouštění odpadních vod z průmyslu a zemědělství jsou 1 mg.l⁻¹ celkových kyanidů a 0,1 mg.l⁻¹ jednoduchých kyanidů. Pitná voda musí splnit limit 0,05 mg.l⁻¹ celkových kyanidů. [1][10][11][12]

3.1.4 Elementární dusík a oxid dusný

Nejvýznamnějším zdrojem elementárního dusíku (N₂) je atmosférický dusík. Kromě toho se dusík tvoří také denitrifikací z dusičnanů přímo ve vodě nebo půdě. Ve velkém rozsahu oxidačně-redukčního potenciálu a pH je dusík ve vodě stabilní, avšak pomocí redukce N₂ na amoniakální dusík jsou některé bakterie a sinice schopné při anaerobních podmínkách fixovat dusík uvnitř buněk. [1]

Spolu s dusíkem vzniká při denitrifikaci (viz kap. 3.2.5) také oxid dusný (N₂O). Největším producentem N₂O je zemědělství (přes 80 %) a spalování paliv. V jednotkách procent jsou to pak odstraňování nutrientů v ČOV pomocí nitrifikace a denitrifikace (3,5 %) a také denitrifikace probíhající v sedimentech vodních nádrží. [1][13]

Elementární dusík ani oxid dusný nemá ve vodě technický ani hygienický význam. Koncentrace N₂ se proto ve vodách nestanovují. Oxid dusný byl však Mezivládním panelem pro změnu klimatu (IPCC) klasifikován jako jeden z nejvýznamnějších skleníkových plynů, a proto probíhají výzkumy, jak v ČOV snížit produkci tohoto plynu. Cílem by mělo být, díky monitorovacím systémům, zajistit při denitrifikaci dostatečný přísun substrátu, aby nedocházelo k produkci N₂O. [1][13]

3.1.5 Dusitany

Dusitany (N-NO₂⁻) přítomné ve vodách jsou nejčastěji výsledkem nitrifikace (viz kap. 3.2.4) nebo redukce dusičnanů. Nejvýznamnějšími zdroji dusitanů je zemědělství (intenzivní rybochov) a průmysl (odpadní vody z výroby barviv či strojírenských závodů používajících chladicí kapaliny s obsahem dusitanů). Ve srážkových vodách se vyskytují dusitany anorganického původu. Dusitany se mohou také vytvářet přímo ve vodovodním potrubí bakteriemi *Nitrosomonas*, pokud pitná voda chudá na kyslík a obsahující dusičnany zůstává dlouho v pozinkovaném ocelovém potrubí, nebo pokud je voda dezinfikována pomocí chloraminace a tento proces není dokonale kontrolován. Nesprávná chloraminace může zvýšit

koncentraci dusitanů obvykle o 0,2 – 1,5 mg.l⁻¹, ale v koncových oblastech vodovodní sítě může koncentraci potenciálně zvýšit až o 3 mg.l⁻¹. [1][14]

Vzhledem k nestálosti dusitanů ve vodě, se tyto zpravidla vyskytují v nízkých koncentracích. V oxických podmínkách (za přítomnosti kyslíku) velmi snadno nitrifikují a v anoxických podmínkách (nedostupný kyslík) naopak denitrifikují. Z tohoto důvodu se jejich koncentrace ve vodách mohou velmi rychle měnit a je obtížné určit jejich koncentrace charakteristické pro jednotlivé druhy vod. Dusitany v nízkých koncentracích se často prokazují jako meziprodukty transformací jednotlivých forem dusíku. [1]

Jejich nízké koncentrace v povrchových i podzemních vodách jsou z hygienického hlediska nepodstatné, avšak zvýšené koncentrace v pitné vodě způsobují zdravotní problémy. Dusitany se v lidském těle rychle spojují s oxyhemoglobinem a za vzniku dusičnanů a methemoglobinu způsobují methemoglobinémii (viz kap. 3.1.6). Dusitany jsou odvozené od kyseliny dusité (HNO₂), která může v silně kyselém prostředí žaludku (pH asi 1,5) reagovat se sekundárními aminy (v žaludku vznikají rozkladem organických dusíkatých látek). Výsledkem této reakce jsou N-nitrosoaminy, které jsou považovány za možné karcinogeny, ale významná souvislost zatím nebyla prokázána. [1][15]

Maximální přípustná koncentrace dusitanů v pitné vodě je v ČR 0,5 mg.l⁻¹, přičemž v roce 2000 byla při monitoringu zjištěna průměrná koncentrace 0,09 mg.l⁻¹, která bezpečně vyhovuje i maximální koncentraci doporučené WHO (0,3 mg.l⁻¹). U kojenecké vody je limitní hodnota 0,02 mg.l⁻¹. Maximální přípustná koncentrace v povrchových vodách používaných k vodárenským účelům je 0,12 mg.l⁻¹. U vypouštění odpadních vod je limitní hodnota nepřímo daná maximální přípustnou koncentrací celkového dusíku. [10][11][16]

3.1.6 Dusičnany

Spolu s uhličitanu (CO₃²⁻), sírany (SO₄²⁻) a chloridy (Cl⁻) jsou dusičnany (NO₃⁻) řazeny mezi čtyři hlavní anionty ve vodách. Ve vodách (přírodních i odpadních) se dusičnany vyskytují jako jednoduchý anion NO₃⁻. V čistých vodách se koncentrace dusičnanů pohybují v jednotkách mg.l⁻¹, ve znečištěných vodách mohou dosáhnout až desítek mg.l⁻¹. Jakožto významné nutrienty způsobují ve vodních nádržích nežádoucí eutrofizaci. Převážně se do vody dostávají nitrifikací amoniakálního dusíku a rozkladem dusíkatých organických látek v oxickém prostředí. Dále jsou součástí smyvu ze zemědělských půd obdělávaných dusíkatými hnojivy a dostávají se také do srážkových vod oxidací elementárního dusíku v atmosféře či spalováním fosilních paliv. [1][3]

Při oxických podmínkách (je-li dostupný kyslík) jsou dusičnany stabilní, při anoxických podmínkách (kyslík je nedostupný) denitrifikují na elementární dusík, resp. oxid dusný. Kromě denitrifikace (biochemické redukce) může docházet i k chemické redukci některými kovy či amoniakálním dusíkem. K chemické redukci je však zapotřebí specifických podmínek a často i katalyzátorů. Při dodržení optimálního pH a velikosti částic elementárního železa může být v technologii vody zajímavým řešením redukce dusičnanů právě elementárním železem. [1]

Samy o sobě jsou dusičnany pro člověka primárně málo škodlivé. Maximální koncentrace doporučená WHO v pitné vodě je 50 mg.l^{-1} , čemuž odpovídá i limitní hodnota pro kvalitu pitné vody v ČR. Tato hodnota na základě epidemiologických studií nezpůsobuje dlouhodobé zdravotní následky. Dusičnany jsou však škodlivé nepřímo, jako předstupeň dusitanů, které v trávicím traktu vznikají bakteriální redukcí dusičnanů. Nepřímo tak dusičnany způsobují methemoglobinemii a jsou potenciálně karcinogenní. Na základě metaanalýzy studií zabývajících se souvislostí příjmu dusičnanů z pitné vody a výskytu rakoviny bylo zjištěno, že zvýšení koncentrace o 10 mg.l^{-1} zdvojnásobuje riziko rakoviny žaludku. Možné vyšší riziko bylo také zjištěno u rakoviny tlustého střeva a konečníku. Pro další typy rakovin byly výsledky jednotlivých metaanalýz rozdílnější, což však mohlo být dáno různými metodikami studií a odhady naznačují, že dusičnany opravdu zvyšují riziko rakovin nejrůznějšího typu. [10][14][15]

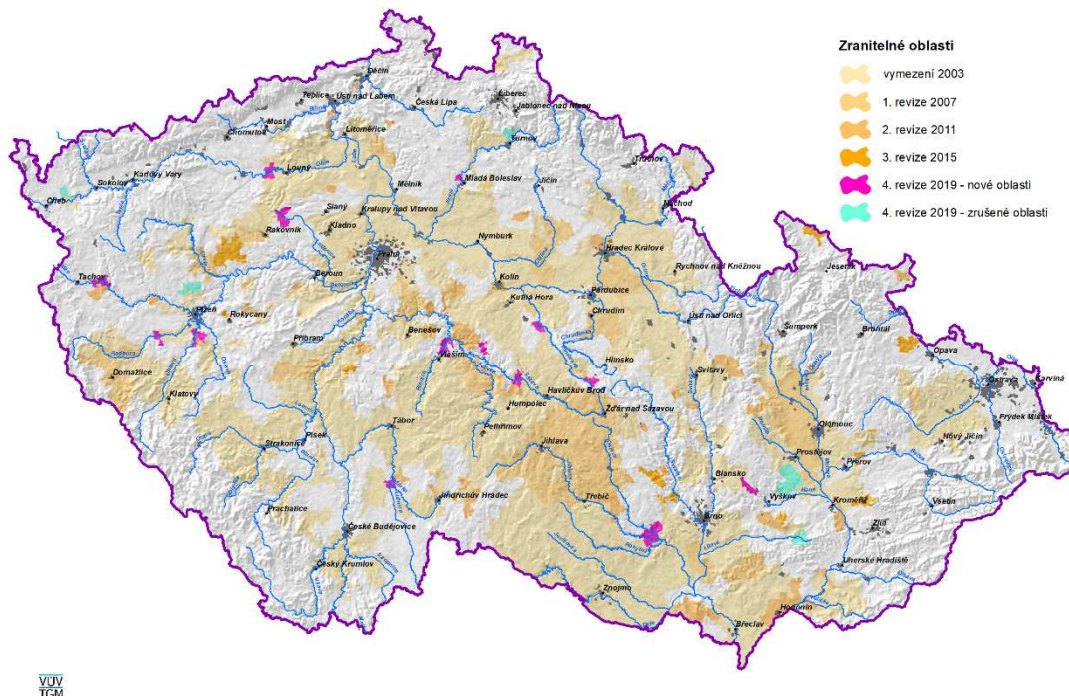
Dusičnanová methemoglobinémie je rizikem především pro děti do 6 měsíců. Žaludek kojenců je totiž méně kyselý než žaludek dospělých, což umožňuje redukci dusičnanů na dusitany. Ty se následně vážou na hemoglobin a vzniká methemoglobin, který snižuje schopnost krve přenášet kyslík. Život ohrožující je stav, kdy hladina methemoglobinu překročí 10 %. Riziko vzniku methemoglobinémie je především tehdy, pokud jsou kojenci krmeni umělou výživou, která je vyrobená z vody obsahující zvýšené množství dusičnanů, případně potravinami, nebo pokud jsou jim podávány léky s vysokým množstvím dusičnanů. Nejvýraznějším příznakem methemoglobinémie u kojenců je zmodrání jejich pokožky v důsledku nedostatku kyslíku v krvi – proto také hovoříme o tzv. blue baby syndromu. Podle vyhlášky č. 275/2004 Sb. může být balená voda označená jako kojenecká, pokud obsahuje nejvýše 10 mg.l^{-1} dusičnanů, avšak podle WHO je obecný limit dusičnanů 50 mg.l^{-1} v pitné vodě zdravotně nezávadný i pro kojence. [14][16][17]

Dusičnany v podzemních vodách

Dusičnany patří k nejvýznamnějším polutantům podzemních vod. Spolu s dalšími anorganickými látkami, pesticidy (přípravky k eliminaci škůdců používanými v zemědělství) a některými organickými látkami a kovy způsobují významné znečištění podzemních vod. Z měření v posledních letech pravidelně vyplývalo, že ve

více než 80 % sledovaných objektech (mělkých vrtech a hlubokých vrtech s prameny) byly překročeny limity stanovené vyhláškou č. 5/2011 Sb., resp. směrnicí Evropského parlamentu a Rady 2006/118/ES. Konkrétně pro dusičnany je limitní hodnota 50 mg.l⁻¹. Dusičnanové znečištění je z velké míry způsobované zemědělstvím, proto vydala Evropská unie tzv. nitrátovou směrnicí, která upravuje hospodaření ve zranitelných oblastech. Nařízení této směrnice jsou zpracována v nařízení vlády č. 262/2012 Sb. Mimo jiné jsou například stanovená období, ve kterých je zakázáno používat dusíkatá hnojiva. Podle typu hnojiva a klimatického regionu jsou to období mezi 15. 10. a 28. 2., tedy mimo vegetační období, kdy jsou obecně koncentrace dusičnanů v podzemních vodách vyšší, jelikož nejsou odebírány z půdy rostlinami pro jejich růst. [2][18][19][20]

Revidované vymezení zranitelných oblastí podle nařízení vlády č. 262/2012 Sb.



VÚV
TGM

Zpracoval: Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, v.v.i., listopad 2019
Zdroj dat: VÚV T.G.M., v.v.i., ČHMÚ, podniky Povodí, s.p., ČÚZK

Obr. 3.1 Mapa zranitelných oblastí k roku 2019 [20]

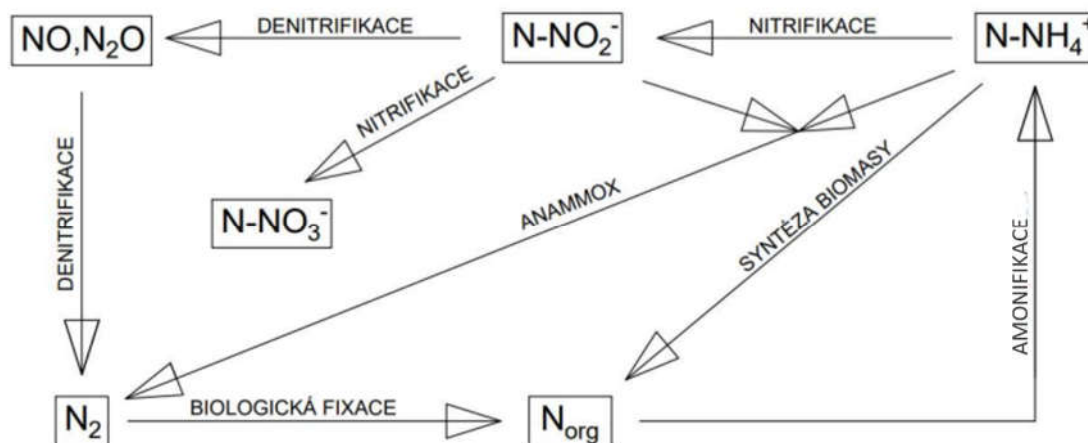
Ke snížení koncentrací dusičnanů na odtoku ze zemědělských půd byly vyvinuty denitrifikační bioreaktory. Je to technologie tzv. *in situ*, tedy určená k použití přímo v místě odtoku ze zemědělské půdy. Výhodou této technologie je nenáročná údržba, životnost a nízké náklady jak na pořízení, tak na údržbu. Bioreaktory existují ve dvou formách – jako lože nebo clony. Fungují na principu organické náplně jako zdroje organického uhlíku pro denitrifikaci. Nejčastěji je používána náplň na bázi dřeva (dřevní štěpka z různých druhů dřeva, směsi pilin a kůry či mulč), avšak v laboratorních podmínkách byly úspěšně testovány i pevné uhlíkaté látky a nemísitelné kapaliny (rostlinné oleje na pískovém loži). [21][22]

Společně s dusičnany se však do vod dostává i nezanedbatelné množství pesticidů. Hlavními skupinami pesticidů jsou herbicidy (likvidace nežádoucích rostlin), fungicidy (likvidace hub) a insekticidy (likvidace hmyzu). Nejpoužívanějšími herbicidy jsou atrazin a metolachlor, hojně používané zejména při pěstování kukuřice a sóji, a fungicidy tebukonazol a karbendazim. Z pesticidů aplikovaných do půdy se až 10 % dostává do míst, která nebyla pro aplikaci určena – zejména na okraje polí, přičemž tento podíl se zvyšuje, pokud byly pesticidy použity těsně před deštěm. Pesticidy jsou škodlivé svým působením v potravním řetězci, kdy se dostanou do vodních živočichů, kterými se poté živí ostatní živočichové, včetně člověka. Pesticidy nejsou nebezpečné pouze samy o sobě, ale za mimořádně toxické jsou považovány z důvodu dlouhého přetrvávání v životním prostředí a kumulace v lidském organismu. Problematické je také míchaní pesticidů – směs několika různých pesticidů může být toxičtější než samostatný pesticid. [23]

U denitrifikačních bioreaktorů je prokázáno, že jsou účinné při odstraňování dusičnanů, nejasnosti však zatím panují okolo jejich schopnosti společně s dusičnany odstraňovat i pesticidy. Vzájemné reakce jednotlivých složek pesticidů a denitrifikačních bakterií nelze jednoduše popsat. Některé bakterie mohou být k toxickým účinkům některých pesticidů citlivé, jiné mohou pesticidy úspěšně akumulovat a rozkládat na méně škodlivé látky. Podpora biodegradace pesticidů denitrifikací již byla prokázána u atrazinu a chloracetanilidových pesticidů, naopak chlorpyrifos se rozkládá na složky životnímu prostředí škodlivější, než je původní pesticid. Pro další rozvoj bioreaktorů a čištění vod ze zemědělství *in situ* je tak zásadní pokračovat ve výzkumu vlivu a chování pesticidů při denitrifikačních podmínkách. [24][25]

3.2 Koloběh dusíku

Pro život na Zemi je koloběh dusíku naprosto zásadní. Přesto, že je to v atmosféře nejzastoupenější prvek (cca 78 % objemu atmosféry je plynný dusík), je tato forma dusíku pro většinu organismů k životu nevyužitelná. Díky bakteriím a mikrobiálním přeměnám, které vykonávají, jsou dusík schopné využít rostliny a následně i živočichové včetně lidské populace. Vzhledem k jeho omezeným zásobám v půdě je rostlinám dodáván uměle v dusíkatých hnojivech, jejichž používání a nadužívání však vede např. k již zmíněné problematické eutrofizaci. Koloběh dusíku sestává z následujících přeměn: fixace dusíku, anammox, amonifikace, nitrifikace a denitrifikace. Pro čištění odpadních vod jsou z těchto přeměn úspěšně využívány anammox, nitrifikace a denitrifikace. [26][27]



Obr. 3.2 Koloběh dusíku [34]

3.2.1 Fixace dusíku

Při tzv. fixaci dusíku dochází k přeměně atmosférického dusíku N_2 , což je forma dusíku, kterou živé organismy neumějí využívat, na dusíkaté sloučeniny pro živé organismy využitelné. Fixace může probíhat buď v atmosféře (blesky), průmyslově nebo biologicky. Biologická fixace je popsána následující rovnicí – probíhá enzymy katalyzovaná redukce N_2 na NH_3 , NH_4^+ nebo organický dusík. [29][35]



Fixace dusíku probíhá díky řadě prokaryot pomocí enzymového komplexu nitrogenázy, který je společný organismům schopným fixovat dusík. Kromě zmíněné společné nitrogenázy vykazují bakterie fixující dusík velkou rozdílnost – některé jsou aerobní, jiné anaerobní, některé fototrofní (zdrojem energie je světlo), jiné chemotrofní (zdrojem energie jsou chemické látky). Organismy schopné fixovat dusík byly nalezeny v široké škále podmínek od oceánů a jezer až po např. sedimenty či útroby termitů, což je příhodné vzhledem k tomu, že fixace dusíku je pro život na Zemi nezbytná. [29][35]

Po fixaci dusíku může dále probíhat oxidace na NO_2^- , NO_3^- nebo asimilace organismy. [35]

3.2.2 Anammox

Anaerobní oxidace amoniaku (anammox) je proces, při kterém bakterie anammox získávají energii z přeměny amoniaku (NH_3) a dusitanů (NO_2^-) na elementární dusík (N_2) – rovnice (3.6). Anammox bakterie jsou podstatnou složkou zón s nízkým obsahem kyslíku především v oceánech, ale i v ostatních vodních systémech. Předpokládá se, že až 50 % dusíku v atmosféře pocházejícího z oceánů je dílem anammox bakterií – je to donedávna netušený, velmi významný článek koloběhu

dusíku už jen proto, že s postupující klimatickou změnou se očekává přibývání zón kyslíkového minima ve vodách, a proto je důležité porozumět procesům v nich probíhajícím. [28][29]



Anammox bakterie je možné využívat při čištění odpadních vod, zatím však pouze pro čištění teplých vod. Probíhají však výzkumy, jak tyto bakterie adaptovat i na odstraňování dusíku z chladnějších vod. Pokud by tedy díky použití bakterií fungujících v anaerobním prostředí nebylo potřeba pro vyčištění vod dodávat kyslík, došlo by k výraznému snížení nákladů při provozu čistíren. [30]

3.2.3 Amonifikace

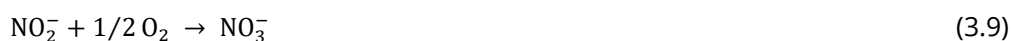
Při amonifikaci dochází k přeměně organického dusíku z organismů, který je např. v aminokyselinách, nukleových kyselinách či močovíně, na anorganický dusík využitelný pro další organismy. Organický dusík se do půdy dostává při vylučování nebo odumírání organismů a rozkladači (různé houby a bakterie) z něj uvolňují amoniak nebo amonné ionty, které si následně z půdy odebírají rostliny a organismy. To umožňuje další pokračování dusíku v potravním řetězci, když z rostlin jej využívají živočichové. [29][31]

3.2.4 Nitrifikace

Nitrifikace je děj probíhající v aerobním prostředí, při kterém mikroorganismy přeměňují amoniak NH_3 na dusitany NO_2^- a dusičnany NO_3^- . V první fázi je amoniak oxidován na dusitany bakteriemi rodů *Nitrosomonas*, *Nitrosospira* a *Nitrosococcus*. V poslední době byla také v oceánech, půdě a slaných bažinách objevena archea schopná oxidovat amoniak. [29]

V druhé fázi nitrifikace jsou dusitany oxidovány na dusičnany. Děje se tak díky bakteriím rodů *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrospina* a *Nitrococcus*. Aby byla nitrifikace kompletní, je potřeba, aby proběhly obě popsané fáze. Při obou fázích ovšem vzniká poměrně málo energie, proto je růst jak amoniak oxidujících bakterií, tak dusitany oxidujících bakterií relativně pomalý. [29]

Průběh nitrifikace, včetně vzniku hydroxylaminu jako meziprojektu při oxidaci amoniaku, je popsán následujícími rovnicemi. [29]



Nitrifikace se využívá při čištění odpadních vod. Přísun kyslíku do aktivační nádrže je zajišťován provzdušňováním. Za nitrifikací v ČOV zpravidla následuje denitrifikace. Průběh těchto biologických procesů v čistírně ovlivňuje řada faktorů (koncentrace oxidu uhličitého, rozpuštěného kyslíku, teplota a pH vody apod.), proto je snaha jednotlivé parametry optimalizovat a řídit tak, aby bylo čištění co nejefektivnější a zároveň byly sníženy finanční náklady. [32]

3.2.5 Denitrifikace

Při denitrifikaci jsou dusičnany (NO_3^-) přeměňovány na plynný dusík (N_2). Dochází tedy k uvolnění fixovaného dusíku a jeho návratu do atmosféry, čímž je koloběh dusíku uzavřen a plynný dusík může být opět fixován a využíván. V případě, že by denitrifikace neprobíhala, veškerý atmosférický dusík by byl postupně fixován a biosféra by byla přesycena dusičnany. Denitrifikace probíhá podle následujícího schématu. [29][33][36]



Výše uvedené schéma je někdy uváděno včetně meziprojektu oxidu dusnatého (NO), někdy je NO považován za produkt vedlejší reakce, nikoliv meziprojekt. Meziprojekt oxid dusnatý a zejména oxid dusný (N_2O) jsou řazeny mezi skleníkové plyny, tedy účastní se skleníkového efektu a přispívají k narušení ozonové vrstvy. Průběh denitrifikace je popsán následujícími rovnicemi. [33][36]



Denitrifikace je podstatným krokem při čištění odpadních vod, kdy následuje za nitrifikací a výsledkem těchto procesů je odstraňování dusíku. Vypouštění odpadních vod s vysokou koncentrací dusičnanů vede mimo jiné k eutrofizaci vod. Denitrifikace v ČOV probíhá v aktivačních nádržích za anaerobních podmínek, přítomny jsou denitrifikační bakterie, které přeměňují dusičnany na N_2O a plynný N_2 . [29][36]

Jakožto biologický proces probíhá denitrifikace kromě řízené denitrifikace v ČOV samozřejmě také v přirozeném prostředí. K přirozené denitrifikaci dochází v půdách denitrifikačními, převážně heterotrofními bakteriemi, které při nepřítomnosti kyslíku získávají denitrifikační energii. K tomuto dochází ve většině půd zejména po deštích. Póry v půdě jsou nasyceny vodou, bakterie tak nemohou využívat kyslík, a proto využívají dusičnany. Obvykle se denitrifikace spouští při minimálně 60% koncentraci vody v pórech. K denitrifikaci může také docházet uvnitř půdních

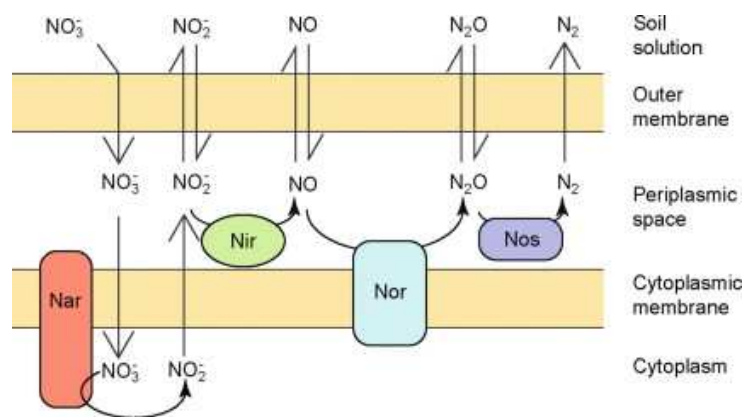
agregátů či v rychle se rozkládajícím stelivu, kde potřeba kyslíku pro bakterie převyšuje jeho dostupnost. [36]

Denitrifikací bývají dusičnany také odstraňovány z podzemní vody bohaté na dusičnany v mokřadech a příbřežních oblastech před jejím přesunem do povrchové vody. Rozhraní podzemní vody a sedimentu je obvykle bohaté na uhlík a v kombinaci s anaerobními podmínkami dochází při pohybu dusičnanů skrz toto rozhraní k denitrifikaci a tyto tak následně neznečišťují povrchové vody. [36]

Denitrifikaci provádí široká škála organismů. Popsáno bylo více než 50 rodů s více než 125 druhy. Kromě řady půdních bakterií jsou to také houby a prvoci *Loxodes*. Většina kultivovatelných denitrifikantů je fakultativně anaerobních zejména z rodů *Pseudomonas*, *Alcaligenes* a *Bacillus*. Jako akceptor elektronů využívají kyslík, pokud je přítomen, pokud není přítomen, pak využívají dusičnany nebo dusitany. Přirozeně se vyskytují v půdě a ve vodě a běžně jsou také součástí fekálního znečištění. [33][36]

Většina denitrifikačních bakterií získává energii z organické hmoty (tzv. organotrofní bakterie), některé jsou chemolitotrofní (zdrojem energie je vodík nebo redukované sloučeniny síry), část je fotolitotrofních (zdrojem energie je světlo), škála denitrifikantů však zahrnuje také fixátory dusíku, termofilní či halofilní bakterie. Organotrofní bakterie nasazené v procesu čištění odpadních vod využívají jako zdroj energie a stavební materiál externí nebo interní substrát. Externím substrátem jsou organické látky přítomné v odpadní vodě či primární kal z usazovací nádrže. Při nedostatku těchto zdrojů jsou uměle dodávány snadno biologicky rozložitelné látky, např. kyselina octová, metanol či škrob. Interní substrát pak jsou vlastní zásobní látky přítomných denitrifikačních bakterií. [4][33][36]

Denitrifikace probíhá ve čtyřech krocích, pro každý z nich je potřeba jiný enzym. Redukci dusičnanů na dusitany katalyzuje disimilační nitrátová reduktáza (Nar). Redukci dusitanů na oxid dusnatý katalyzuje nitrit-reduktáza (Nir), která je vázána na prostor mezi membránou a prostředím (periplazmatický prostor). Reduktázou oxidu dusnatého (Nor) je oxid dusnatý redukován na oxid dusný a v posledním kroku je reduktázou oxidu dusného (Nos) redukován oxid dusný na elementární dusík. Všem enzymům je společné, že je jejich syntéza inhibována kyslíkem. Schéma průběhu denitrifikace je vyjádřeno na Obr. 3.3. [33]



Obr. 3.3 Schéma průběhu denitrifikace [36]

Faktory ovlivňující denitrifikaci

Naprostou nezbytnou pro denitrifikaci je přítomnost zdroje energie optimálního typu a koncentrace podle přítomného druhu bakterií. V našich podmínkách jde nejčastěji o dostatečné množství organického substrátu. Účinnost denitrifikace je určena poměrem CHSK/N, tedy množstvím organického substrátu vyjádřeného chemickou spotřebou kyslíku (CHSK) ku množství dusíku. Při hmotnostním poměru CHSK/N = 2,8 je dosaženo až 90% účinnosti denitrifikace. [33]

Zásadním faktorem, který ovlivňuje denitrifikaci, je koncentrace rozpuštěného kyslíku. Přítomnost kyslíku inhibuje syntézu denitrifikačních enzymů a tím celý proces denitrifikace. Kyslík nejvíce negativně ovlivňuje rychlost syntézy Nos a nejméně Nar, důsledkem čehož se při zvyšující se koncentraci rozpuštěného kyslíku zvyšuje také poměr koncentrace oxidu dusného k elementárnímu dusíku. Jelikož jsou denitrifikační bakterie fakultativně anaerobními bakteriemi, tak v přítomnosti kyslíku přednostně využívají jako zdroj energie kyslík, neboť je to pro ně energeticky výhodnější a až při nedostatku kyslíku využívají jako zdroj energie dusitany a dusičnany a tedy denitrifikují. [33][37]

Denitrifikace sice může probíhat v širokém spektru pH od 3,9 až do 9,0, hodnota pH však má vliv na rychlost a produkty denitrifikace. Optimální hodnota pH pro denitrifikaci je 7,0 – 8,0, resp. 6,0 – 8,0, optimum tedy leží okolo neutrální hodnoty. Při pH 5,0 probíhá denitrifikace pomalu, pokud klesne pH pod 4,0, je rychlost zanedbatelná. Dělicí hodnotou pro produkty denitrifikace je pH 7,3. Nad touto hodnotou je konečným produktem procesu plyný dusík, pod ní roste podíl oxidu dusného. Při hodnotách pH 6,0 – 6,5 byla také pozorována akumulace dusitanů. [33][37]

Vzhledem k povaze denitrifikace jakožto biologického děje, roste její rychlost s růstem teploty. Při zvýšení teploty o 10 °C dojde k téměř zdvojnásobení denitrifikační rychlosti. Avšak pokud dojde k překročení teploty optimální pro

buněčný růst, dochází k denaturaci enzymů a ty již dále nejsou schopné urychlovat denitrifikaci. Pokud je naopak teplota příliš nízká (pod 5 °C, resp. podle některých zdrojů pod 8 °C), je tímto denitrifikace utlumena. Optimální teplota pro denitrifikaci je tak 20–30 °C. [33][37]

Nasycenost půdy optimální pro průběh denitrifikace je v rozmezí od minimálně 60 % až po 100 %. Vysoká vlhkost půdy napomáhá k anoxickým podmínkám, což vede k rychlejší denitrifikaci. Proto pravděpodobně pokud spadne srážka na již vlhkou půdu, bude denitrifikace probíhat lépe, než pokud tato srážka spadne na suchou půdu. Zároveň pokud je půda již vlhká, je produkce plynného dusíku vyšší oproti oxidu dusnému díky Nos již přítomným ve vlhké půdě. [34][36]

Vliv přítomnosti pesticidů či veterinárních antibiotik na průběh denitrifikace zatím není příliš prozkoumán. Ke studiu této problematiky má sloužit právě 28denní test inhibice denitrifikace.

4 28DENNÍ TEST INHIBICE DENITRIFIKACE

Úkolem testu inhibice denitrifikace, vyvinutého a optimalizovaného na Ústavu chemie FAST VUT, je studování osudu různých pesticidů v průběhu denitrifikace a jejich vliv na celkový průběh denitrifikace. Optimalizace jednotlivých parametrů bez přítomnosti pesticidů má zabezpečit udržení denitrifikačních podmínek po celou dobu 28denního testu tak, aby následně testem s optimalizovanými parametry mohla být vyhodnocena inhibice denitrifikace a abiotický a biotický úbytek vybraných pesticidů. [25]

K tomu, aby mohla denitrifikace probíhat, je potřeba, aby byly v anaerobním prostředí přítomny dusičnany a zdroj organického uhlíku. Jako zdroj organického uhlíku v našem testu slouží topolové hoblíny, jejichž frakce 1–1,5 mm byla optimalizována v předchozím testování. Optimalizace vstupní koncentrace dusičnanů je úkolem této bakalářské práce. [34][38]

4.1 Průběh testu

Nultý den testu byla provedena příprava a nasazení testu. Pro přípravu kapalného média byly použity 10litrové kbelíky. Do 10 l destilované vody bylo přidáno 5 g NaHCO_3 (hydrogenuhličitan sodný), aby bylo dosaženo koncentrace NaHCO_3 $0,5 \text{ g.l}^{-1}$ a požadované množství KNO_3 (dusičnan draselný). Pro vzorky A byla požadovaná koncentrace N-NO_3 15 mg.l^{-1} , do 10 l destilované vody bylo přidáno 1,08 g KNO_3 . Obdobně pro vzorky B s požadovanou koncentrací 30 mg.l^{-1} N-NO_3 bylo přidáno 2,16 g KNO_3 . Po důkladném promíchání byla změřena a zaznamenána skutečná koncentrace N-NO_3 . Požadované množství NaHCO_3 a KNO_3 bylo naváženo na analytických vahách.

Testováno bylo pro každou koncentraci 5 vzorků, celkem tedy 10 lahví. Ty byly označeny A1-A5 pro koncentraci 15 mg.l^{-1} N-NO_3 a B1-B5 pro koncentraci 30 mg.l^{-1} N-NO_3 . Do každé lahve bylo odváženo 25 g topolových hoblín frakce 1-1,5 mm a následně pomocí dvoulitrového odměrného válce nalito 2 l kapalného média. Obsah každé lahve byl probubláván argonem, dokud koncentrace O_2 neklesla pod $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$. Lahve byly uzavřeny gumovým uzávěrem a umístěny do termostatu.



Obr. 4.1 Lahve 14. den testu před vrácením do termostatu [foto vlastní]

Lahve byly po dobu 28 dnů inkubovány v termostatu při teplotě 20 °C, bez přístupu světla. Pro 7., 14. a 21. den byly prováděné činnosti totožné. Ihned po vyndání lahví z termostatu bylo změřeno pH a koncentrace rozpuštěného kyslíku. Dále byla stanovena $CHSK_{Cr}$, koncentrace $N-NO_x$ a spočtena potřebná dávka KNO_3 pro doplnění koncentrace na původní hodnotu podle rovnice (4.1). Objem dodaný do jednotlivých vzorků je zaznamenán v tabulkách v Příloze 4. Po nadávkování spočteného objemu KNO_3 byly lahve uzavřeny a vráceny do termostatu. 28. den bylo změřeno pH, koncentrace rozpuštěného kyslíku, $CHSK_{Cr}$, koncentrace $N-NO_x$ a navíc byla stanovena ještě koncentrace $N-NO_2$.

$$V_{KNO_3} = \frac{c_p \cdot (V_p - V_o + V_d) - c_{N-NO_x} \cdot (V_p - V_o + V_d)}{c_{KNO_3} - c_p} \quad [\text{ml}], \text{ kde} \quad (4.1)$$

c_p ... původní koncentrace $N - NO_x$ (15 nebo 30 mg.l^{-1})

V_p ... původní objem vzorku (2000 ml)

V_o ... objem vzorku odebraný ke stanovením

V_d ... objem vzorku dodávkovaný

c_{N-NO_x} ... změřená koncentrace $N - NO_x$

c_{KNO_3} ... koncentrace dodávaného KNO_3 (10 000 mg.l^{-1})

4.2 Analytické metody

Stanovení pH, koncentrace kyslíku a $N-NO_x$ bylo prováděno každý týden, stanovení $CHSK_{Cr}$ každý týden kromě dne nasazení testu a poslední týden bylo ještě provedeno spektrofotometrické stanovení dusitanů.

4.2.1 Stanovení pH a koncentrace kyslíku

Stanovení pH a koncentrace rozpuštěného kyslíku bylo prováděno multiparametrovým laboratorním přístrojem Hach HQ440d. Do lahve byla vložena příslušná sonda a pro odečtení výsledku se vyčkalo na ustálení hodnoty na displeji.



Obr. 4.2 Měření pH [foto vlastní]

4.2.2 Stanovení CHSK_{Cr}

Stanovení chemické spotřeby kyslíku dichromanem draselným bylo provedeno semimikrometodou na spektrofotometru Hach DR 3900. Pro stanovení CHSK_{Cr} byl potřeba síran rtuťnatý HgSO_4 , silný roztok dichromanu draselného $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (koncentrace $1/48 \text{ mol.l}^{-1}$), roztok síranu stříbrného Ag_2SO_4 v koncentrované kyselině sírové H_2SO_4 , vzorky z jednotlivých lahví, pipeta s nastavitelným objemem a mineralizační blok Hach LT 200.

Do zkumavky se šroubovacím uzávěrem bylo odměřeno cca 50 mg HgSO_4 , 2 ml vzorku z láhve (pro každou z lahví byla použita nová špička do pipety), 1 ml roztoku $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a 3 ml roztoku $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{AgSO}_4$. Zkumavka byla ihned řádně uzavřena, jelikož okamžitě po přidání roztoku $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{AgSO}_4$ začala ve zkumavce probíhat reakce, při které bylo vyvíjené velké teplo. Zkumavky byly vloženy do mineralizačního bloku předem zapnutého a nahřátého na $148 \text{ }^\circ\text{C}$. Mineralizační blok má program CHSK s přednastavenou teplotou $148 \text{ }^\circ\text{C}$ a dobou mineralizace 60 min – tento program byl pro stanovení využit. Po skončení mineralizace byly vzorky vyjmuty z přístroje a v digestoři se nechaly vychladnout na laboratorní teplotu.



Obr. 4.3 Mineralizace v přístroji Hach LT 200 [foto vlastní]

Po vychladnutí bylo provedeno měření absorbance ve spektrofotometru Hach DR 3900. Byl použit režim „jedna vlnová délka“, měření probíhalo při vlnové délce 445 nm (CHSK_{Cr} bylo v rozmezí 30-400 mg.l^{-1}) a před samotným měřením byla provedena kalibrace přístroje měřením absorbance zkumavky s destilovanou vodou. Následně bylo provedeno měření absorbance jednotlivých vzorků, kdy každá zkumavka byla před vložením do přístroje vyleštěna hadříkem k odstranění případných nečistot, aby těmito nedošlo ke zkreslení výsledků.



Obr. 4.4 Měření absorbance v přístroji Hach DR 3900 [foto vlastní]

Měření absorbance bylo provedeno ve dvou vzorcích z každé lahve (tedy celkem 20 vzorků), výsledná hodnota CHSK_{Cr} byla stanovena podle rovnice (4.2). Pro každou lahev byla hodnota CHSK_{Cr} spočtena pomocí průměrné hodnoty dvou jí příslušících absorbancí.

$$\text{CHSK}_{\text{Cr}} = \frac{500 \cdot (1,475 - A)}{1,346} \text{ [mg. l}^{-1}\text{]}, \text{ kde} \quad (4.2)$$

A ... naměřená absorpance [mg. l⁻¹]

Výsledné hodnoty do 100 mg.l⁻¹ byly zaokrouhleny na jednotky mg.l⁻¹, hodnoty nad 100 mg.l⁻¹ byly zaokrouhleny na desítky mg.l⁻¹.

4.2.3 Stanovení N-NO_x

Společné stanovení dusitanů a dusičnanů (označované jako N-NO_x) probíhalo sondou Dr Lange a výsledky byly odečítány z přístroje Multiunit Plus. Vzorek se nalil do měřicí cely sondy (viz Obr. 4.5) a vyčkalo se na zobrazení výsledku. Přístroj automaticky proměřuje každou minutu a před samotným odečtením výsledku byla cela měřeným vzorkem vypláchnuta od předchozího vzorku, aby nedošlo k ovlivnění výsledku.



Obr. 4.5 Stanovení N-NO_x [foto vlastní]

4.2.4 Stanovení dusitanů

Na konci testu bylo provedeno spektrofotometrické stanovení dusitanů α-naftolem. K tomu byl potřeba roztok kyseliny sulfanilové, roztok α-naftolu (též 1-naftol či naftalen-1-ol, C₁₀H₇OH), pipeta s nastavitelným objemem, 25ml odměrné baňky a spektrofotometr Hach DR 3900.

Vzorky z jednotlivých lahví byly zfiltrány přes kvalitativní filtrační papír, který odstraňuje částice větší než 8 μm. Do 25ml odběrné baňky se nalilo 20 ml zfiltrovaného vzorku, 2 ml kyseliny sulfanilové a asi po minutě byly přidány 2 ml 1-naftolu. Destilovanou vodou byla baňka naplněna po rysku a v 1cm kyvetě byla ve spektrofotometru při vlnové délce 515 nm změřena intenzita zbarvení. Výsledek v mg.l⁻¹ byl zaokrouhlen na dvě platné číslice.



Obr. 4.6 Filtrace vzorků [foto vlastní]



Obr. 4.7 Vzorky připravené na stanovení intenzity zbarvení [foto vlastní]

4.2.5 Výpočet denitrifikační rychlosti

Denitrifikační rychlost r_D [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{den}^{-1}$] je definována jako úbytek koncentrace N-NO_x v čase. Jde tedy o rozdíl koncentrací na začátku časového intervalu a na jeho konci ku tomuto časovému intervalu. V našem případě probíhalo měření každý 7. den, časový interval je tedy 7 dní.

$$r_D = \frac{c(\text{N-NO}_x)_z - c(\text{N-NO}_x)_k}{7} \text{ [mg} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{den}^{-1}\text{]}, \text{ kde} \quad (4.3)$$

$c(\text{N-NO}_x)_z$... počáteční koncentrace N-NO_x
 $c(\text{N-NO}_x)_k$... konečná koncentrace N-NO_x

5 VÝSLEDKY A DISKUSE

Testování probíhalo pro dvě počáteční koncentrace N-NO₃ 15 mg.l⁻¹ a 30 mg.l⁻¹. Pro každou vstupní koncentraci bylo souběžně testováno 5 vzorků zejména proto, že denitrifikace je biologický proces, který není narozdíl od chemických procesů možné vždy přesně predikovat.

Sledovanými parametry byly hodnoty pH, koncentrace rozpuštěného kyslíku O₂, chemické spotřeby kyslíku CHSK_{Cr}, koncentrace N-NO_x, denitrifikační rychlost a koncentrace dusičnanů N-NO₃. Postup sledování jednotlivých kritérií je rozepsán v předchozí kapitole.

Vstupní parametry testu byly následující:

- materiál: topolové hoblíny,
- frakce: 1,0–1,5 mm,
- dávka NaHCO₃: 0,5 mg.l⁻¹,
- počáteční koncentrace N-NO_x: 15 mg.l⁻¹ pro vzorky A1–A5,
30 mg.l⁻¹ pro vzorky B1–B5.

Použitý materiál a jeho frakce je výsledkem předchozí optimalizace parametrů testu na Ústavu chemie FAST VUT. [34]

Skutečně dosažené hodnoty koncentrace N-NO_x při nasazení testu jsou shrnuté v následující tabulce:

Tab. 5.1 Skutečné počáteční koncentrace N-NO_x

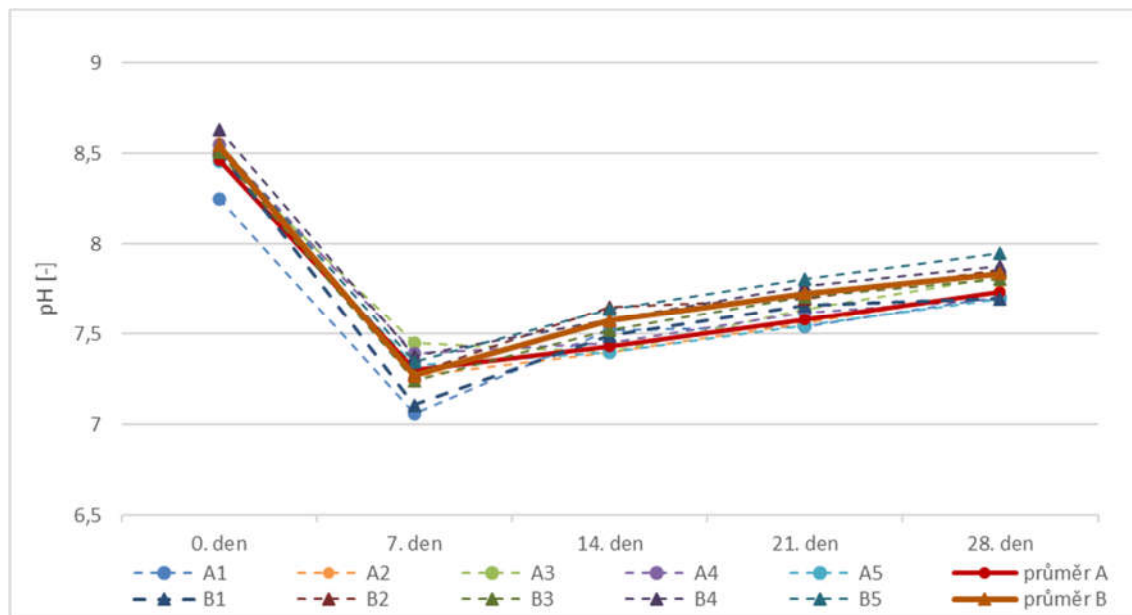
ozn. vzorku	A1	A2	A3	A4	A5
N-NO _x [mg.l ⁻¹]	15,1	15,1	14,9	14,9	15
průměr A [mg.l ⁻¹]	15,0				
ozn. vzorku	B1	B2	B3	B4	B5
N-NO _x [mg.l ⁻¹]	29	29	28,7	28,7	28,7
průměr B [mg.l ⁻¹]	28,8				

5.1 Průběh pH

Optimální hodnota pH je pro denitrifikaci 7,0–8,0, resp. 6,0–8,0. Denitrifikace sice probíhá v rozsahu pH 3,9–9,0, ale k přijatelné enzymatické aktivitě denitrifikačních bakterií je potřeba pH vyšší než 7,0. Pro udržení příznivého pH byl na začátku testu nadávkován hydrogenuhličitan sodný (NaHCO₃), v koncentraci 0,5 mg.l⁻¹, jako zdroj tlumivé kapacity. Koncentrace 0,5 mg.l⁻¹ NaHCO₃ byla zjištěna jako optimální při předchozím testování na Ústavu chemie FAST VUT. [33][34]

Tab. 5.2 Průměrné hodnoty pH [-] v průběhu testování

sk. vzorků	0. den	7. den	14. den	21. den	28. den
A1-A5	8,46 ± 0,10	7,30 ± 0,12	7,43 ± 0,04	7,58 ± 0,04	7,73 ± 0,04
B1-B5	8,55 ± 0,04	7,27 ± 0,09	7,58 ± 0,06	7,73 ± 0,05	7,84 ± 0,08

Graf 5.1 Hodnoty pH v jednotlivých dnech testu

Z Grafu 5.1 je patrné, že kromě 0. dne, tedy dne nasazení testu, se po celou dobu pH drželo v rozmezí 7,0–8,0 ideálním pro denitrifikaci.

Hodnoty pH naměřené u jednotlivých vzorků v průběhu testu jsou zaznamenány v tabulce v Příloze 2.

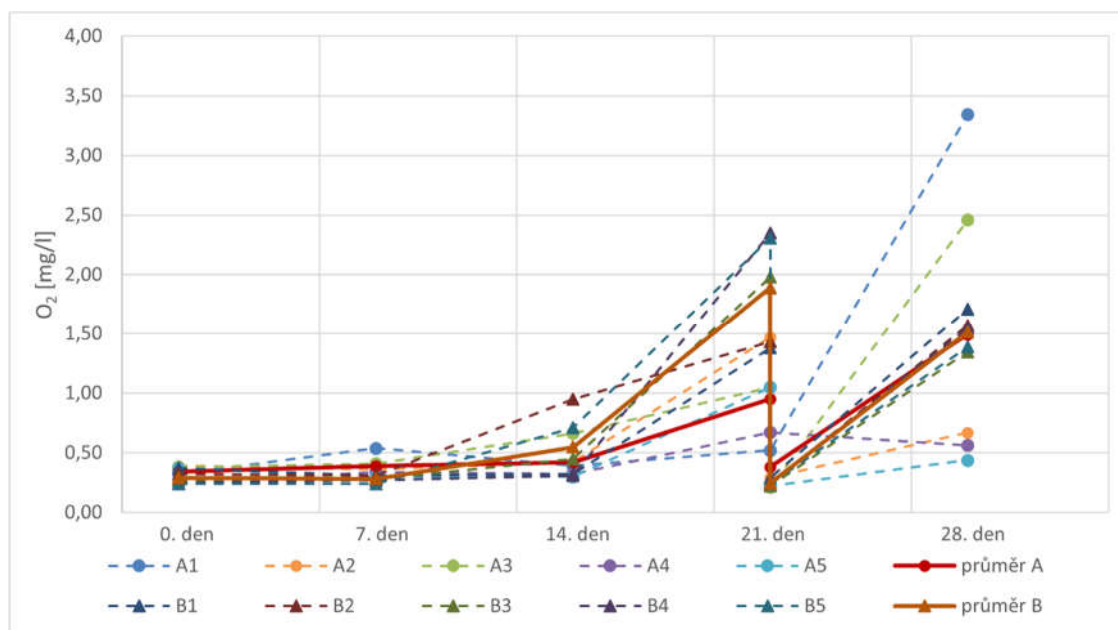
5.2 Koncentrace O₂

Výzkumy vlivu koncentrace rozpuštěného kyslíku na rychlost denitrifikace bylo zjištěno, že k anoxickým podmínkám je potřebná maximální koncentrace 1 mg.l⁻¹. Proto byly 21. den testu vzorky s koncentrací O₂ > 1 mg.l⁻¹ probublávány argonem, dokud koncentrace O₂ neklesla pod 0,5 mg.l⁻¹. Z tohoto důvodu jsou v Tab. 5.3 dva sloupce pro 21. den, kdy v prvním jsou hodnoty před probubláváním a ve druhém po probublání. Z totožného důvodu je i proto v Grafu 5.2 u některých vzorků 21. den patrný pokles. [33]

Tab. 5.3 Průměrná koncentrace rozpuštěného O₂ v průběhu testu

sk. vzorků	0. den	7. den	14. den	21. den	21. den	28. den
A1-A5	0,34 ± 0,05	0,39 ± 0,08	0,42 ± 0,12	0,95 ± 0,30	0,38 ± 0,17	1,49 ± 1,08
B1-B5	0,29 ± 0,04	0,28 ± 0,02	0,55 ± 0,23	1,89 ± 0,38	0,25 ± 0,02	1,51 ± 0,12

Graf 5.2 Průběh koncentrace rozpuštěného O₂ během testu



U všech vzorků skupiny B a tří vzorků skupiny A proběhlo 21. den probublání argonem. Při měření 28. den překročilo 7 z 10 vzorků hranici koncentrace 1,0 mg.l⁻¹. Vzhledem ke konci testu už další probublávání neprobíhalo, pro udržení optimálních denitrifikačních podmínek v delším období by však bylo pravděpodobně potřeba pravidelně snižovat koncentraci rozpuštěného kyslíku.

Všechny naměřené hodnoty koncentrace rozpuštěného O₂ jsou zaznamenány v Příloze 1.

5.3 Chemická spotřeba kyslíku

Stanovení chemické spotřeby kyslíku se využívá ke stanovení celkových organických látek ve vodě. Výsledek udává množství oxidačního činidla spotřebovaného k jejich oxidaci. Lze tedy říci, že čím vyšší je hodnota CHSK, tím více organických látek se ve vzorku nachází. [1]

Literatura uvádí, že k redukcí 1 g N-NO₃ na elementární dusík je potřeba 2,86 g CHSK. Část organického substrátu je však potřeba k syntéze biomasy, proto je pro úplnou denitrifikaci navržen minimální poměr CHSK/N v rozmezí 3,5 až 5,0, tedy 3,5–5,0 g CHSK k redukcí 1 g N-NO₃. [1][38][39]

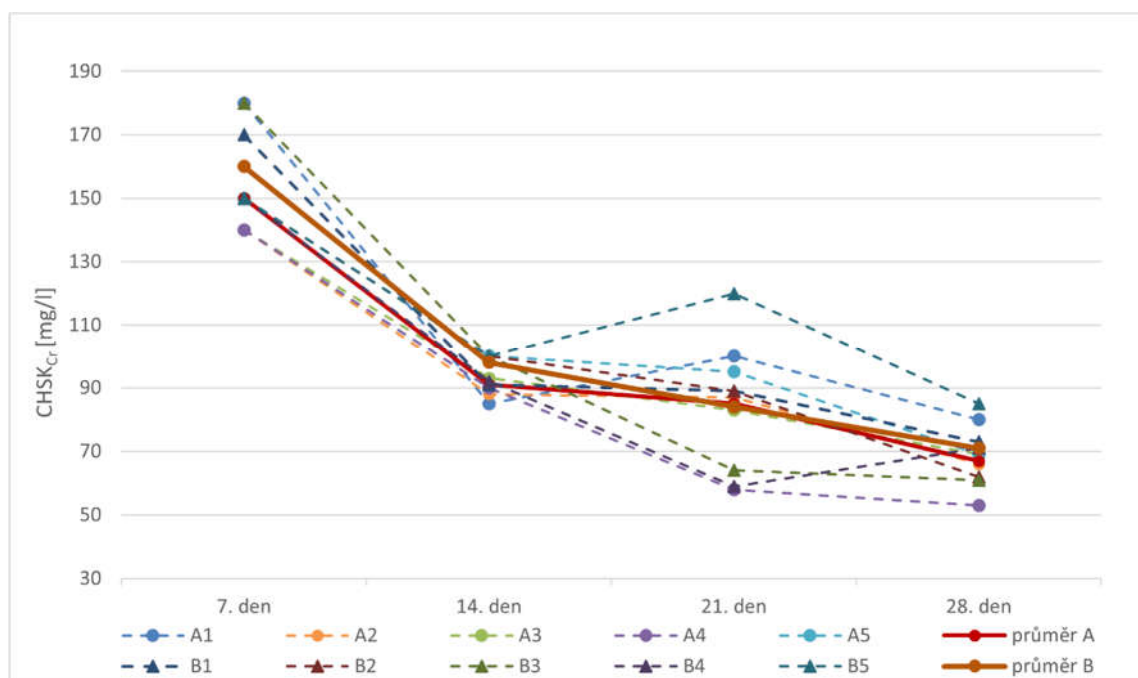
Při koncentraci 15 mg.l⁻¹ N-NO₃ u skupiny A by tedy bylo k úplné denitrifikaci teoreticky potřeba 52,5–75,0 mg.l⁻¹ CHSK. Obdobně u skupiny B by při koncentraci 30 mg.l⁻¹ N-NO₃ bylo k úplné denitrifikaci potřeba 105,0–150,0 mg.l⁻¹. Ze znázornění průběhu hodnot CHSK_{Cr} (Graf 5.3) je patrné, že tyto byly v průběhu testu u obou skupin srovnatelné. Při srovnání s průběhem koncentrací N-NO_x (Graf 5.4 a Graf 5.5) je zřejmé, že hodnoty CHSK_{Cr} pohybující se v uvedených teoretických

mezích pro koncentraci 15 mg.l^{-1} byly pro tuto opravdu dostačující a denitrifikace probíhala úspěšně. Naopak skutečné hodnoty CHSK_{Cr} v porovnání s teoretickými hodnotami pro koncentraci $30 \text{ mg.l}^{-1} \text{ N-NO}_x$ v průběhu testu čím dál tím více klesaly, což se projevilo výrazným snížením úspěšnosti denitrifikace u skupiny B.

Tab. 5.4 Průměrné hodnoty CHSK_{Cr} [mg.l^{-1}] v průběhu testu

sk. vzorků	7. den	14. den	21. den	28. den
A1-A5	150 ± 14	91 ± 5	85 ± 13	67 ± 8
B1-B5	160 ± 12	98 ± 4	84 ± 20	71 ± 8

Graf 5.3 Průběh hodnot CHSK_{Cr}



Všechny spočítané hodnoty CHSK_{Cr} , včetně naměřených hodnot absorbance při vlnové délce 445 nm , jsou uvedeny v tabulce v Příloze 3.

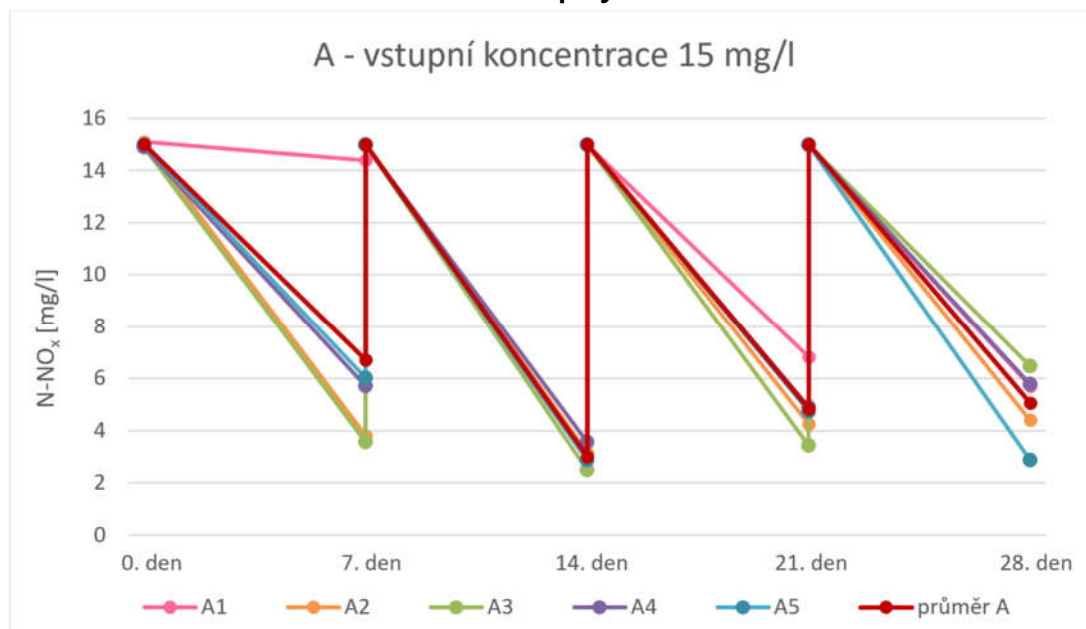
5.4 Koncentrace N-NO_x

Průběh koncentrace N-NO_x pro skupiny A a B je vyjádřen na Grafu 5.4 a 5.5. Ideálním průběhem je pravidelný tvar, kdy během sedmi dnů koncentrace N-NO_x klesá, což ukazuje úspěšnou denitrifikaci, každý sedmý den proběhne nadávkování dusičnanu draselného (KNO_3) do původní koncentrace N-NO_x (15 nebo 30 mg.l^{-1}) a následujících sedm dní opět probíhá denitrifikace a pokles koncentrace N-NO_x .

Tab. 5.5 Průměrné koncentrace N-NO_x na konci 7denních etap denitrifikace

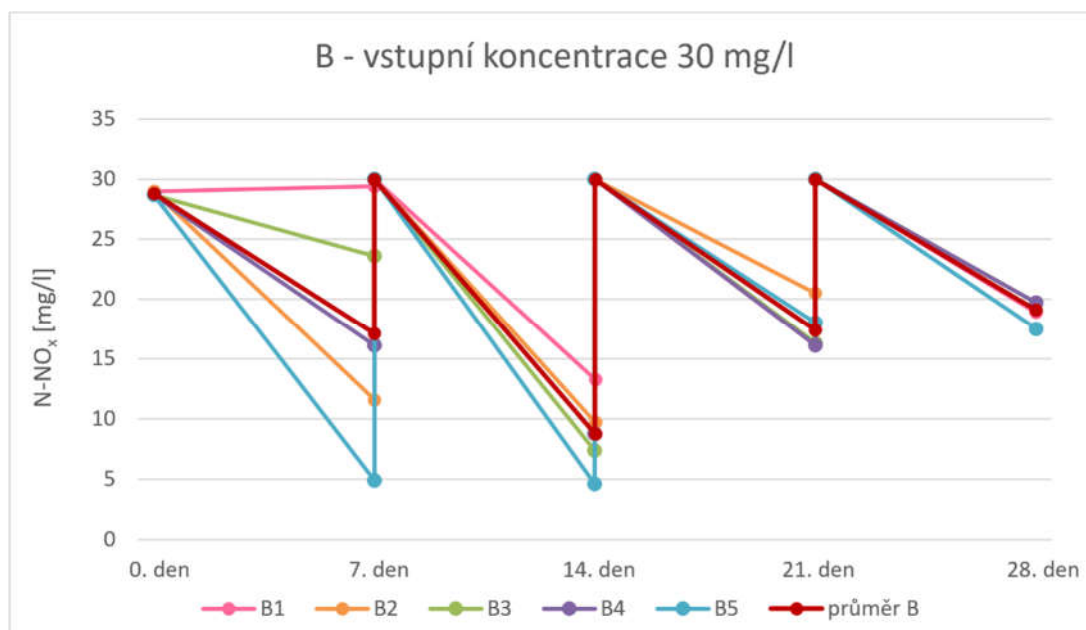
sk. vzorků	7. den	14. den	21. den	28. den
A1-A5	6,70 ± 3,63	3,00 ± 0,33	4,83 ± 1,02	5,05 ± 1,16
B1-B5	17,1 ± 7,9	8,76 ± 2,61	17,4 ± 1,6	19,1 ± 0,8

Lepšího průběhu bylo dosaženo v případě skupiny A (počáteční koncentrace N-NO_x 15 mg.l⁻¹). Kromě 7. dne, kdy se ve vzorku A1 denitrifikace prakticky nerozběhla (pokles N-NO_x z 15 mg.l⁻¹ na 14,4 mg.l⁻¹) a průměrná hodnota pro 7. den je tímto ovlivněná, se průměrné hodnoty koncentrace N-NO_x pohybovaly v rozmezí 3-5 mg.l⁻¹. Vzhledem k tomu, že probíhající procesy jsou biologické, a tedy ne vždy přesně predikovatelné, nebyl odchýlený vzorek A1 po prvním týdnu vyřazen a jak je patrné z Grafu 5.4, v dalších týdnech už byl průběh koncentrace N-NO_x srovnatelný s ostatními vzorky ve skupině.

Graf 5.4 Průběh koncentrace N-NO_x u skupiny A

U skupiny B byl u všech vzorků první týden velmi rozdílný, u vzorku B1 dokonce denitrifikace vůbec neprobíhala. Z totožného důvodu jako u skupiny A nebyl žádný vzorek ze skupiny B vyřazen a v následujících týdnech už byl průběh všech vzorků (včetně v prvním týdnu nedenitrifikujícího B1) podobný. Pro celou skupinu bylo společné, jak je patrné z Grafu 5.5, že úspěšnost denitrifikace postupně klesala, když 14. den byla průměrná koncentrace N-NO_x 8,76 ± 2,61 mg.l⁻¹ a 28. den už byla 19,1 ± 0,8 mg.l⁻¹.

Graf 5.5 Průběh koncentrace N-NO_x u skupiny B



5.5 Denitrifikační rychlost

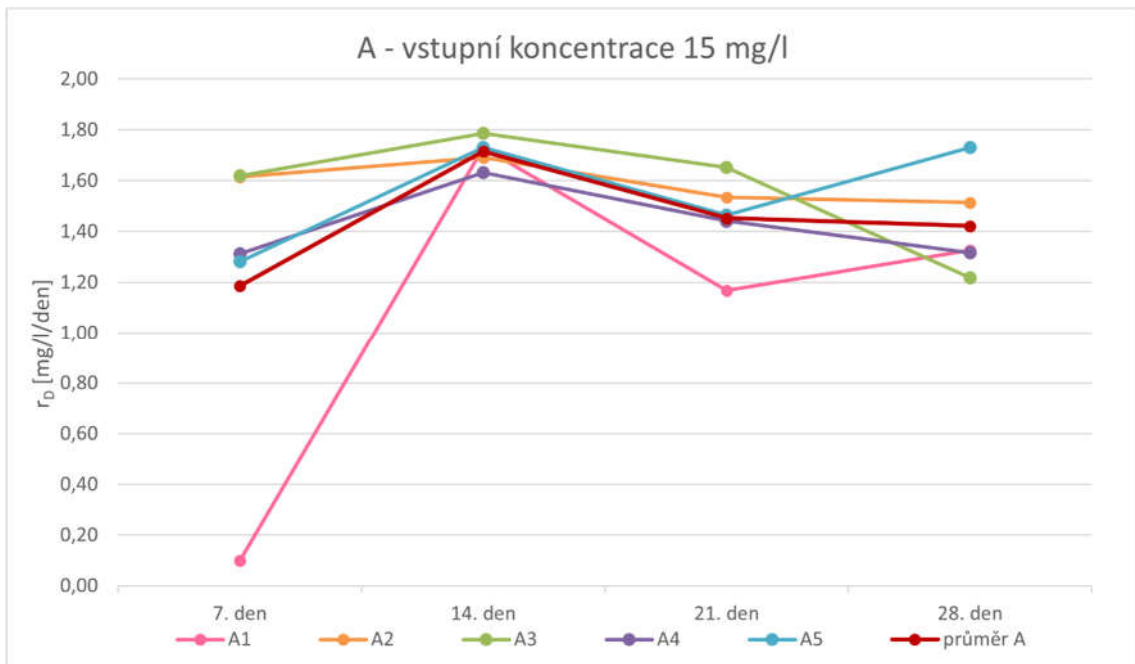
Významným ukazatelem průběhu denitrifikace je denitrifikační rychlost, tedy úbytek koncentrace N-NO_x za čas, v našem případě vyjádřené v úbytku za den.

Tab. 5.6 Průměrná denitrifikační rychlost r_D [mg.l⁻¹.den⁻¹]

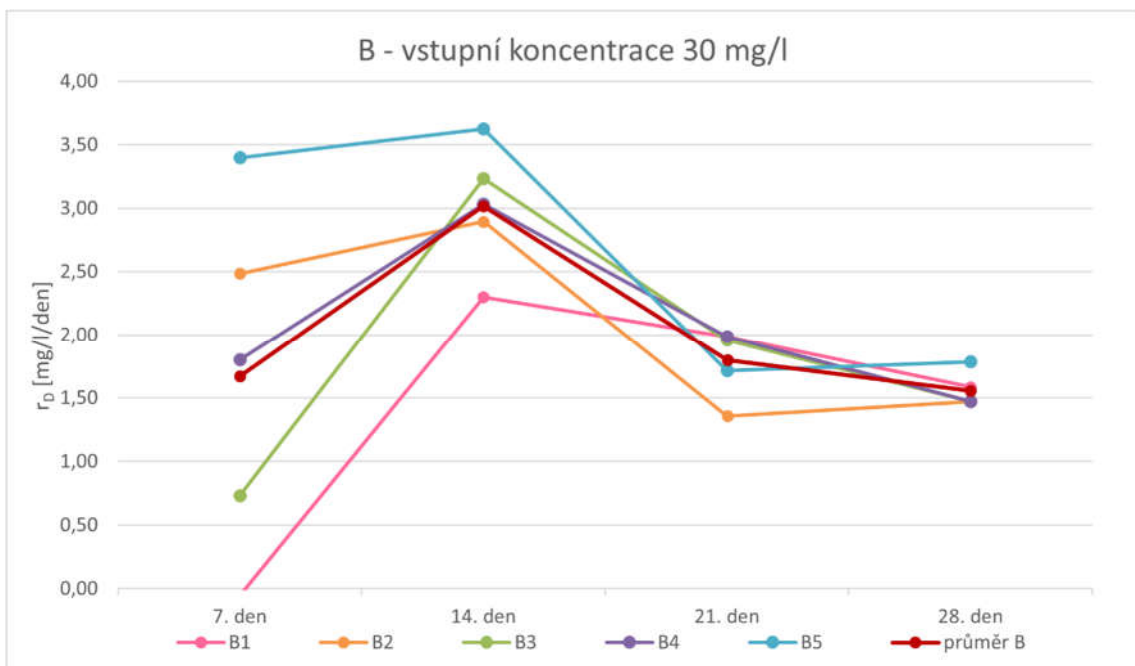
sk. vzorků	7. den	14. den	21. den	28. den
A1-A5	1,19 ± 0,51	1,71 ± 0,05	1,45 ± 0,15	1,42 ± 0,17
B1-B5	1,67 ± 1,12	3,02 ± 0,40	1,80 ± 0,22	1,56 ± 0,11

Průměrné hodnoty 7. den, tedy rychlost úbytku od 0. do 7. dne, jsou ovlivněné velmi málo denitrifikujícím vzorkem A1 a nedenitrifikujícím vzorkem B1. Následně denitrifikační rychlost postupně klesala, u skupiny A od 1,71 ± 0,05 mg.l⁻¹.den⁻¹ na 1,42 ± 0,17 mg.l⁻¹.den⁻¹, tedy pokles přibližně o 17 %. U skupiny B došlo k poklesu přibližně o 52 % z hodnoty 3,02 ± 0,40 mg.l⁻¹.den⁻¹ na 1,56 ± 0,11 mg.l⁻¹.den⁻¹. Pokles denitrifikační rychlosti odpovídá průběhu koncentrace N-NO_x v Grafu 5.4 a 5.5 – čím vyšší denitrifikační rychlost, tím více snížená koncentrace N-NO_x.

Graf 5.6 Průběh denitrifikační rychlosti u skupiny A



Graf 5.7 Průběh denitrifikační rychlosti u skupiny B



5.6 Koncentrace dusitanů

Na konci testu bylo provedeno samostatné stanovení koncentrace dusitanů N-NO₂. Změřené hodnoty jsou v Tab. 5.7. Velmi nízké koncentrace dusitanů v porovnání s celkovou koncentrací N-NO_x ukazují, že úspěšně proběhly všechny stupně denitrifikace a nedocházelo k akumulaci dusitanů, což odpovídá skutečnosti, že po dobu testu bylo pH udrženo pod hodnotou 8,0. [41]

Tab. 5.7 Koncentrace dusitanů na konci testu

sk. vzorků	N-NO ₂ [mg.l ⁻¹]
A1-A5	0,12 ± 0,01
B1-B5	0,13 ± 0,02

6 ZÁVĚR

Úkolem testu bylo zjištění vlivu počáteční koncentrace N-NO_3 na průběh testu a udržení denitrifikačních podmínek.

Na základě provedeného testování a grafického a tabelárního vyhodnocení, je jako vhodnější doporučena počáteční koncentrace $15 \text{ mg.l}^{-1} \text{ N-NO}_3$.

Doporučení vychází z vyhodnocení průběhu koncentrace N-NO_x a průběhu denitrifikační rychlosti r_D , kdy vzorky skupiny A (15 mg.l^{-1}) vykazovaly stabilnější průběh u obou těchto veličin, než vzorky skupiny B (30 mg.l^{-1}).

Zejména však z průběhu CHSK je zřejmé, že hodnota CHSK (a tedy množství organického substrátu) je dostačující k redukci dusičnanů při koncentraci 15 mg.l^{-1} , avšak k redukci dusičnanů v koncentraci 30 mg.l^{-1} už nestačí. Tento problém by byl řešitelný zvýšením množství hoblin, to by však vedlo k nežádoucímu zvýšení zákalu a toto řešení je pro účely 28denního testu považováno za zbytečné.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] PITTER, Pavel. *Hydrochemie*. 4. aktualizované vydání. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, 2009. ISBN 978-80-7080-701-9.
- [2] KOPP, Radovan. *Hydrochemie nejen pro rybáře*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2015. ISBN 978-80-7509-352-3.
- [3] HORÁKOVÁ, Marta a kol. *Analytika vody*. 2. vydání. Praha: VŠCHT Praha, 2003. ISBN 978-80-7080-520-6.
- [4] VENSKÁ, P. *Dusík a jeho sloučeniny v odpadních vodách*. Brno, 2015, 45 s. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická. Vedoucí práce Ing. Veronika Řezáčová, Ph.D.
- [5] *Nutrient Removal: WEF Manual of Practice No. 34*. Alexandria, Virginia: WEF Press, 2011. ISBN 978-0-07-173710-4.
- [6] ČSN 75 6401. *Čistírny odpadních vod pro ekvivalentní počet obyvatel (EO) větší než 500*. Praha: Český normalizační institut, 2014.
- [7] ČSN 75 6402. *Čistírny odpadních vod do 500 ekvivalentních obyvatel*. Praha: Český normalizační institut, 2017.
- [8] CHISLOCK, M. F., E. DOSTER, R. A. ZITOMER a A. E. WILSON. Eutrophication: Causes, Consequences, and Controls in Aquatic Ecosystems. *Nature Education Knowledge: 4(4):10* [online]. 2013 [cit. 2022-03-13]. Dostupné z: <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/eutrophication-causes-consequences-and-controls-in-aquatic-102364466/>
- [9] BOTZ, M.M., T.I. MUDDER a A.U. AKCIL. Cyanide Treatment. *Gold Ore Processing* [online]. Elsevier, 2016, 2016, 619-645 [cit. 2022-03-13]. ISBN 9780444636584. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-444-63658-4.00035-9
- [10] *Vyhláška č. 252/2004 Sb.: Vyhláška, kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody*. In: . Česká republika, 2004. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2015-401/>
- [11] *Nařízení vlády č. 401/2015 Sb.: Nařízení vlády o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech*. In: . Česká republika. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2015-401/>
- [12] Cyanide and drinking water fact sheet. *NSW Health* [online]. [cit. 2022-03-13]. Dostupné z: <https://www.health.nsw.gov.au/environment/water/Pages/cyanide.aspx>

- [13] Oxid dusný – plyn, u kterého smích trvá opravdu krátce. *Naše Voda* [online]. 21. 6. 2021 [cit. 2022-03-15]. Dostupné z: <https://www.nase-voda.cz/oxid-dusny-plyn-u-ktere-smich-trva-opravdu-kratce/>
- [14] *Nitrate and Nitrite in Drinking-water: Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality* [online]. WHO Press, 2016 [cit. 2022-03-15]. Dostupné z: https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/nitrate-nitrite-background-jan17.pdf
- [15] PICETTI, Roberto, Megan DEENEY, Silvia PASTORINO, Mark R. MILLER, Anoop SHAH, David A. LEON, Alan D. DANGOUR a Rosemary GREEN. Nitrate and nitrite contamination in drinking water and cancer risk: A systematic review with meta-analysis. *Environmental Research*. 2022, 210. ISSN 00139351. Dostupné z: doi:10.3390/ijerph15071557
- [16] WARD, Mary, Rena JONES, Jean BRENDER, Theo DE KOK, Peter WEYER, Bernard NOLAN, Cristina VILLANUEVA a Simone VAN BREDA. Drinking Water Nitrate and Human Health: An Updated Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. 2018, 15(7) [cit. 2022-03-15]. ISSN 1660-4601. Dostupné z: doi:10.3390/ijerph15071557
- [17] *Vyhláška č. 275/2004 Sb.: Vyhláška o požadavcích na jakost a zdravotní nezávadnost balených vod a o způsobu jejich úpravy*. In: . Česká republika. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-275>
- [18] *Zpráva o stavu vodního hospodářství ČR v roce 2020*. Ministerstvo zemědělství, 2021. ISBN 978-80-7434-626-2. Dostupné také z: <https://eagri.cz/public/web/mze/ministerstvo-zemedelstvi/vyrocnni-a-hodnotici-zpravy/zpravy-o-stavu-vodniho-hospodarstvi/zprava-o-stavu-vodniho-hospodarstvi-2020.html>
- [19] *Nařízení vlády č. 262/2012 Sb.: Nařízení vlády o stanovení zranitelných oblastí a akčním programu*. In: . Česká republika. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2012-262>
- [20] Nitrátová směrnice. *EAGRI* [online]. [cit. 2022-03-20]. Dostupné z: <https://eagri.cz/public/web/mze/zivotni-prostredi/ochrana-vody/nitratova-smernice/>
- [21] HUNTER, William J. Injection of innocuous oils to create reactive barriers for bioremediation: Laboratory studies. *Journal of Contaminant Hydrology* [online]. 2005, 80(1-2), 31-48 [cit. 2022-03-20]. ISSN 01697722. Dostupné z: doi:10.1016/j.jconhyd.2005.06.008

- [22] MALÁ, Jitka, Zuzana BÍLKOVÁ, Karel HRICH, Kateřina SCHRIMPELOVÁ, Michal KRIŠKA a Michal ŠEREŠ. Sustainability of denitrifying bioreactors with various fill media: Laboratory studies. *Plant, Soil and Environment*. 2017, 63(10), 442-448. ISSN 12141178. Dostupné z: doi:10.17221/372/2017-PSE
- [23] DE SOUZA, Renata Mariane, Daiana SEIBERT, Heloise Beatriz QUESADA, Fátima DE JESUS BASSETTI, Márcia Regina FAGUNDES-KLEN a Rosângela BERGAMASCO. Occurrence, impacts and general aspects of pesticides in surface water: A review. *Process Safety and Environmental Protection* [online]. 2020, 135, 22-37 [cit. 2022-03-20]. ISSN 09575820. Dostupné z: doi:10.1016/j.psep.2019.12.035
- [24] ABDI, Damon E., James S. OWEN, Julie C. BRINDLEY, et al. Nutrient and pesticide remediation using a two-stage bioreactor-adsorptive system under two hydraulic retention times: A review. *Water Research*. 2020, 170, 22-37. ISSN 00431354. Dostupné z: doi:10.1016/j.watres.2019.115311
- [25] PÁNIKOVÁ, Kristína. Průběh dlouhodobého testu denitrifikace. In: *JUNIORSTAV 2021: 23. odborná konference doktorského studia s mezinárodní účastí*. Brno, 2021, s. 422-427. ISBN 978-80-86433-75-2.
- [26] T. Editors of Encyclopaedia. "nitrogen cycle." In: *Encyclopaedia Britannica* [online]. [cit. 2022-03-20]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/nitrogen-cycle>
- [27] HOLMES, Dawn E., Yan DANG a Jessica A. SMITH. *Nitrogen cycling during wastewater treatment* [online]. Elsevier, 2019, 2019, 113-192. Advances in Applied Microbiology. ISBN 9780128169759. Dostupné z: doi:10.1016/bs.aambs.2018.10.003
- [28] FUERST, John A., Yan DANG a Jessica A. SMITH. Planctomycetes—New Models for Microbial Cells and Activities. *Microbial Resources*. Elsevier, 2017, 2017, 1-27. Advances in Applied Microbiology. ISBN 9780128047651. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-804765-1.00001-1
- [29] BERNHARD, Anne. The Nitrogen Cycle: Processes, Players, and Human Impact. *Nature Education Knowledge: 3(10):25* [online]. 2010 [cit. 2022-03-20]. Dostupné z: <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/the-nitrogen-cycle-processes-players-and-human-15644632/>
- [30] KOUBA, Vojtěch. Invaze bakterií anammox na čistírny ušetří stočné. In: *VŠCHT Praha* [online]. 15. 1. 2018 [cit. 2022-03-20]. Dostupné z: <https://www.vscht.cz/popularizace/doktorandi-pisou/2018/bakterie-anammox-v-COV>

- [31] Biologydictionary.net Editors. "Ammonification." In: *Biology Dictionary* [online]. 2016 [cit. 2022-03-20]. Dostupné z: <https://biologydictionary.net/ammonification/>
- [32] JEDLIČKOVÁ, V. a P. HLAVÍNEK. Řízení procesu nitrifikace a denitrifikace na čistírnách odpadních vod. In: *Vodovod.info - vodárenský informační portál* [online]. 21.10.2015 [cit. 2022-03-20]. ISSN 1804-7157. Dostupné z: <https://www.vodovod.info/index.php/kanalizace-a-cov/307-rizeni-procesu-nitrifikace-a-denitrifikace-na-cistirnach-odpadnich-vod#.YjhIIXrMJPY>
- [33] MALÁ, Jitka. *Odstranění dusíku z vod s vysokou koncentrací amonických solí a nízkou koncentrací biologicky rozložitelné organické hmoty v SB-reaktoru*. Brno, 2007. ISBN 978-80-214-3639- 8. Habilitační práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta stavební.
- [34] MARKOVÁ, Jana. *Laboratorní test inhibice denitrifikace*. Brno, 2021, 63 s. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta stavební, Ústav vodního hospodářství obcí. Vedoucí práce doc. Ing. Jitka Malá, Ph.D.
- [35] HANRAHAN, G. a G. CHAN. NITROGEN. *Encyclopedia of Analytical Science* [online]. Elsevier, 2005, 2005, 191-196 [cit. 2022-04-17]. ISBN 9780123693976. Dostupné z: doi:10.1016/B0-12-369397-7/00401-5
- [36] ROBERTSON, G.P. a P.M. GROFFMAN. Nitrogen Transformations. *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry* [online]. Elsevier, 2015, 2015, 421-446 [cit. 2022-04-18]. ISBN 9780124159556. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-415955-6.00014-1
- [37] ERBANOVÁ, Evelína. *Denitrifikace průmyslových odpadních vod*. Pardubice, 2018. Disertační práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Ústav environmentálního a chemického inženýrství. Vedoucí práce prof. Ing. Petr Mikulášek, CSc.
- [38] STENSEL, H. D., R. C. LOEHR a A. W. LAWRENCE. Biological Kinetics of Suspended-Growth Denitrification. *Journal (Water Pollution Control Federation)*. Wiley, 1973, 45(2), 249-261.
- [39] LAHDHIRI, A., G. LESAGE, A. HANNACHI a M. HERAN. Minimum COD needs for denitrification: from biological models to experimental set-up. *Desalination and Water Treatment*. 2017, (vol. 61), 326-334. ISSN 1944-3994.
- [40] SANDERSON, R. Thomas. "nitrogen." In: *Encyclopaedia Britannica* [online]. [cit. 2022-04-30]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/nitrogen>

- [41] GLASS, Charles a JoAnn SILVERSTEIN. Denitrification kinetics of high nitrate concentration water: pH effect on inhibition and nitrite accumulation. *Water Research*. 1998, 32(3), 831-839. ISSN 00431354. Dostupné z: doi:10.1016/S0043-1354(97)00260-1
- [42] SCHRIMPELOVÁ, Kateřina a Zuzana BÍLKOVÁ. Denitrifikační bioreaktory s náplní na bázi dřeva a možnosti zmírnění negativního efektu. *TZB-info* [online]. 30. 11. 2020 [cit. 2022-05-07]. Dostupné z: <https://voda.tzb-info.cz/likvidace-odpadnich-vod/21527-denitrifikacni-bioreaktory-s-naplni-na-bazi-dreva-a-moznosti-zmirneni-negativniho-efektu>

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

ČOV	... čistírna odpadních vod
CHSK _{Cr}	... chemická spotřeba kyslíku (oxidace dichromanem draselným)
N-NH ₄ ⁺	... celkový amoniakální dusík
N-NO _x	... oxidované formy dusíku
N-NO ₂	... dusitanový dusík
N-NO ₃	... dusičnanový dusík
Nar	... disimilační nitrátová reductáza
Nir	... nitrit-reductáza
Nor	... reductáza oxidu dusnatého
Nos	... reductáza oxidu dusného
WHO	... Světová zdravotnická organizace

9 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 3.1 Mapa zranitelných oblastí k roku 2019 [20]	18
Obr. 3.2 Koloběh dusíku [34].....	20
Obr. 3.3 Schéma průběhu denitrifikace [36].....	24
Obr. 4.1 Lahve 14. den testu před vrácením do termostatu [foto vlastní].....	27
Obr. 4.2 Měření pH [foto vlastní]	28
Obr. 4.3 Mineralizace v přístroji Hach LT 200 [foto vlastní]	29
Obr. 4.4 Měření absorbance v přístroji Hach DR 3900 [foto vlastní]	29
Obr. 4.5 Stanovení N-NO _x [foto vlastní].....	30
Obr. 4.6 Filtrace vzorků [foto vlastní].....	31
Obr. 4.7 Vzorky připravené na stanovení intenzity zbarvení [foto vlastní].....	31

10 SEZNAM TABULEK

Tab. 3.1 Emisní standardy pro N-NH ₄ ⁺ [11]	13
Tab. 5.1 Skutečné počáteční koncentrace N-NO _x	32
Tab. 5.2 Průměrné hodnoty pH [-] v průběhu testování	33
Tab. 5.3 Průměrná koncentrace rozpuštěného O ₂ v průběhu testu	33
Tab. 5.4 Průměrné hodnoty CHSK _{Cr} [mg.l ⁻¹] v průběhu testu	35
Tab. 5.5 Průměrné koncentrace N-NO _x na konci 7denních etap denitrifikace	36
Tab. 5.6 Průměrná denitrifikační rychlost r_D [mg.l ⁻¹ .den ⁻¹]	37
Tab. 5.7 Koncentrace dusitanů na konci testu	39

11 SEZNAM GRAFŮ

Graf 5.1 Hodnoty pH v jednotlivých dnech testu	33
Graf 5.2 Průběh koncentrace rozpuštěného O ₂ během testu	34
Graf 5.3 Průběh hodnot CHSK _{Cr}	35
Graf 5.4 Průběh koncentrace N-NO _x u skupiny A	36
Graf 5.5 Průběh koncentrace N-NO _x u skupiny B	37
Graf 5.6 Průběh denitrifikační rychlosti u skupiny A	38
Graf 5.7 Průběh denitrifikační rychlosti u skupiny B	38

12 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1 Koncentrace rozpuštěného kyslíku

Příloha 2 Hodnoty pH

Příloha 3 Hodnoty CHSK_{Cr}

Příloha 4 Koncentrace N-NO_x , denitrifikační rychlost, dávka KNO_3 a koncentrace N-NO_2

13 PŘÍLOHY

Příloha 1 Koncentrace rozpuštěného kyslíku

Ozn. vz.	O ₂ [mg.l ⁻¹]					
	0.den	7.den	14.den	21. den	21. den	28. den
A1	0,32	0,54	0,39	0,52	0,52	3,34
A2	0,39	0,36	0,42	1,47	0,29	0,67
A3	0,38	0,41	0,66	1,05	0,21	2,46
A4	0,24	0,34	0,32	0,67	0,67	0,56
A5	0,37	0,30	0,30	1,05	0,22	0,44
průměr A	0,34	0,39	0,42	0,95	0,38	1,49
směrodatná odchylka [mg.l ⁻¹]	0,05	0,08	0,12	0,30	0,17	1,08
B1	0,37	0,31	0,32	1,38	0,29	1,71
B2	0,32	0,31	0,95	1,43	0,24	1,57
B3	0,27	0,28	0,45	1,98	0,22	1,35
B4	0,25	0,27	0,31	2,35	0,25	1,55
B5	0,24	0,24	0,71	2,31	0,24	1,39
průměr B	0,29	0,28	0,55	1,89	0,25	1,51
směrodatná odchylka [mg.l ⁻¹]	0,04	0,02	0,23	0,38	0,02	0,12

Příloha 2 Hodnoty pH

Ozn. vz.	pH [-]				
	0. den	7. den	14. den	21. den	28. den
A1	8,25	7,06	7,52	7,54	7,71
A2	8,56	7,27	7,40	7,56	7,74
A3	8,49	7,45	7,40	7,64	7,82
A4	8,55	7,39	7,45	7,62	7,70
A5	8,46	7,33	7,40	7,55	7,70
průměr A	8,46	7,30	7,43	7,58	7,73
směrodatná odchylka [-]	0,10	0,12	0,04	0,04	0,04
B1	8,52	7,11	7,49	7,66	7,70
B2	8,53	7,28	7,65	7,70	7,86
B3	8,51	7,24	7,52	7,71	7,81
B4	8,63	7,38	7,58	7,77	7,88
B5	8,55	7,35	7,64	7,81	7,95
průměr B	8,55	7,27	7,58	7,73	7,84
směrodatná odchylka [-]	0,04	0,09	0,06	0,05	0,08

Příloha 3 Hodnoty CHSK_{Cr}

Ozn. vz.	CHSK _{Cr} [mg.l ⁻¹]					
	7. den		14. den		21. den	
	absorbance	CHSK _{Cr}	absorbance	CHSK _{Cr}	absorbance	CHSK _{Cr}
A1	0,996	180	1,247	85	1,206	100
A2	1,112	140	1,238	88	1,242	87
A3	1,104	140	1,225	93	1,252	83
A4	1,105	140	1,233	90	1,319	58
A5	1,078	150	1,206	100	1,219	95
průměr A	1,079	150	1,230	91	1,248	85
směrodatná odchylka	0,039	14	0,013	5	0,036	13
B1	1,021	170	1,231	91	1,236	89
B2	1,059	150	1,193	100	1,235	89
B3	0,994	180	1,207	100	1,304	64
B4	1,081	150	1,226	92	1,316	59
B5	1,060	150	1,199	100	1,154	120
průměr B	1,043	160	1,211	98	1,249	84
směrodatná odchylka	0,029	12	0,014	4	0,053	20

Pokračování tabulky:

Ozn. vz.	CHSK _{Cr} [mg.l ⁻¹]		Ozn. vz.	CHSK _{Cr} [mg.l ⁻¹]	
	28. den			28. den	
	absorbance	CHSK _{Cr}		absorbance	CHSK _{Cr}
A1	1,260	80	B1	1,278	73
A2	1,297	66	B2	1,308	62
A3	1,290	69	B3	1,310	61
A4	1,334	53	B4	1,284	71
A5	1,291	69	B5	1,247	85
průměr A	1,294	67	průměr B	1,285	71
směrodatná odchylka	0,021	8	směrodatná odchylka	0,021	8

Příloha 4 Koncentrace N-NO_x, denitrifikační rychlost, dávka KNO₃ a koncentrace N-NO₂

Ozn. vz.	0. den	7. den			14. den		
	N-NO _x [mg.l ⁻¹]	N-NO _x [mg.l ⁻¹]	<i>r_D</i> [mg.l ⁻¹ .d ⁻¹]	Dávka KNO ₃ [ml]	N-NO _x [mg.l ⁻¹]	<i>r_D</i> [mg.l ⁻¹ .d ⁻¹]	Dávka KNO ₃ [ml]
A1	15,1	14,4	0,10	0,12	2,88	1,73	2,35
A2	15,1	3,8	1,61	2,21	3,16	1,69	2,30
A3	14,9	3,57	1,62	2,26	2,49	1,79	2,43
A4	14,9	5,71	1,31	1,83	3,57	1,63	2,22
A5	15,0	6,03	1,28	1,77	2,88	1,73	2,36
průměr A	15,0	6,70	1,19	1,64	3,00	1,71	2,33
směrodatná odchylka	0,1	3,63	0,51	0,72	0,33	0,05	0,06

Pokračování tabulky:

Ozn. vz.	21. den			28. den		
	N-NO _x [mg.l ⁻¹]	<i>r_D</i> [mg.l ⁻¹ .d ⁻¹]	Dávka KNO ₃ [ml]	N-NO _x [mg.l ⁻¹]	<i>r_D</i> [mg.l ⁻¹ .d ⁻¹]	N-NO ₂ [mg.l ⁻¹]
A1	6,82	1,17	1,57	5,71	1,33	0,13
A2	4,26	1,53	2,06	4,40	1,51	0,12
A3	3,43	1,65	2,22	6,47	1,22	0,13
A4	4,91	1,44	1,93	5,78	1,32	0,12
A5	4,74	1,47	1,97	2,88	1,73	0,11
průměr A	4,83	1,45	1,95	5,05	1,42	0,12
směrodatná odchylka	1,02	0,15	0,20	1,16	0,17	0,01

Ozn. vz.	0. den	7. den			14. den		
	N-NO _x	N-NO _x	<i>r_D</i>	Dávka KNO ₃	N-NO _x	<i>r_D</i>	Dávka KNO ₃
	[mg.l ⁻¹]	[mg.l ⁻¹]	[mg.l ⁻¹ .d ⁻¹]	[ml]	[mg.l ⁻¹]	[mg.l ⁻¹ .d ⁻¹]	[ml]
B1	29,0	29,4	-0,06	0,00	13,3	2,30	3,25
B2	29,0	11,6	2,49	3,64	9,74	2,89	3,95
B3	28,7	23,6	0,73	1,26	7,37	3,23	4,41
B4	28,7	16,1	1,80	2,75	8,78	3,03	4,13
B5	28,7	4,91	3,40	4,96	4,61	3,63	4,95
průměr B	28,8	17,12	1,67	2,52	8,76	3,02	4,14
směrodatná odchylka	0,1	7,89	1,12	1,59	2,61	0,40	0,51

Pokračování tabulky:

Ozn. vz.	21. den			28. den		
	N-NO _x	<i>r_D</i>	Dávka KNO ₃	N-NO _x	<i>r_D</i>	N-NO ₂
	[mg.l ⁻¹]	[mg.l ⁻¹ .d ⁻¹]	[ml]	[mg.l ⁻¹]	[mg.l ⁻¹ .d ⁻¹]	[mg.l ⁻¹]
B1	16,1	1,99	2,67	18,9	1,59	0,11
B2	20,5	1,36	1,83	19,7	1,47	0,12
B3	16,3	1,96	2,63	19,7	1,47	0,13
B4	16,1	1,99	2,67	19,7	1,47	0,14
B5	18,0	1,71	2,31	17,5	1,79	0,16
průměr B	17,4	1,80	2,42	19,1	1,56	0,13
směrodatná odchylka	1,6	0,22	0,30	0,8	0,11	0,02