

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Kvantifikace ztrát dusíku při skladování tepelně
zahuštěného nitrifikovaného fugátu**

Diplomová práce

Bc. Jan Blabolil

Ochrana a využívání přírodních zdrojů

Ing. Pavel Švehla, Ph.D.

© 2019/2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Kvantifikace ztrát dusíku při skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu" 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 13. 7. 2020

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval především panu Ing. Pavlu Švehlovi, Ph.D., který mi poskytl mnoho cenných rad, informací a odborné vedení této diplomové práce. Dále bych chtěl poděkovat také panu Ing. Pavlu Míchalovi, Ph.D. a paní Ing. Liz Mabel Vargas Cáceres za spolupráci a pomoc v laboratoři.

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

Kvantifikace ztrát dusíku při skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu

Souhrn

Cílem této diplomové práce bylo tepelně zahustit nitrifikovaný fugát pomocí vakuového odpařování a následně kvantifikovat ztráty dusíku během dlouhodobého skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu. Zjištěné ztráty byly následně porovnány se ztrátami pozorovanými v rámci dlouhodobého skladování surového fugátu a nitrifikovaného fugátu. Předpokládalo se, že intenzita ztrát dusíku během skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu bude nižší než během skladování surového fugátu. Druhým předpokladem bylo, že ztráty během skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu budou výraznější oproti ztrátám dusíku v případě skladování nitrifikovaného fugátu, který neprošel procesem tepelného zahuštění.

Pro účely pokusu byl použit nitrifikovaný fugát, který byl získán nitrifikací surového fugátu v laboratorním reaktoru pracujícím na principu směšovací aktivace. Následně bylo provedeno tepelné zahuštění nitrifikovaného fugátu vakuovým odpařováním v laboratorních podmínkách. Získaný materiál byl skladován za simulovaných letních (25 ± 2 °C) a zimních (10 ± 1 °C) podmínek, současně byl sledován vliv míchání, které simulovalo větrné podmínky.

Byla potvrzena nižší intenzita ztrát dusíkatých sloučenin během skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu v porovnání se surovým fugátem. Ztráta koncentrace N_{anorg} ($\text{N-amon} + \text{N-NO}_2^- + \text{N-NO}_3^-$) nepřekročila 0,8 % za týden, zatímco během dlouhodobého skladování surového fugátu byly ztráty průměrně 7 % koncentrace N_{anorg} týdně, což je téměř 9krát víc v porovnání s tepelně zahuštěným nitrifikovaným fugátem. Došlo také k potvrzení vyšších ztrát dusíkatých sloučenin během skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu v porovnání s nitrifikovaným fugátem. Významnější rozdíly byly zjištěny pouze u variant v letních podmínkách, kde byly ztráty koncentrace N_{anorg} u zahuštěného nitrifikovaného fugátu 3krát vyšší u nemíchané varianty a 1,6krát vyšší u míchaných, v porovnání s nitrifikovaným fugátem, který nebyl podroben tepelnému zahuštění. Ztráty v zimních podmínkách byly srovnatelné pro nitrifikovaný i tepelně zahuštěný nitrifikovaný fugát.

Klíčová slova: fugát, ztráty dusíku, tepelné zahušťování, nitrifikace, denitrifikace

Quantification of Nitrogen Loss during the Storage of Thermally Thickened Nitrified Liquid Phase of Digestate

Summary

The aim of this diploma thesis was to thermally thicken the nitrified Liquid Phase of Digestate (LPD) by vacuum evaporation and then quantify the nitrogen losses during long-term storage of thermally thickened nitrified LPD. The losses were compared with the losses observed during the long-term storage of raw LPD and nitrified LPD. The intensity of nitrogen losses during storage of the thermally thickened nitrified LPD was expected to be lower than during storage of the raw LPD. The second expectation was that the nitrogen losses during storage of the thermally thickened nitrified LPD would be higher compared to nitrogen losses during storage of nitrified LPD that did not undergo the thermal thickening process.

For this experiment, nitrified LPD obtained by nitrification of the raw LPD in a laboratory reactor was used, which works on the principle of completely stirred tank reactor. Thereafter, the nitrified LPD was thermally concentrated by vacuum evaporation under laboratory conditions. The obtained material was stored under simulated summer (25 ± 2 ° C) and winter (10 ± 1 ° C) conditions, where at the same time the effect of stirring was monitored.

The lower intensity of nitrogen compound losses during storage of the thermally concentrated nitrified LPD compared to the raw LPD was confirmed. The loss of N_{anorg} concentration ($N\text{-amon} + N\text{-NO}_2^- + N\text{-NO}_3^-$) did not exceed 0.8% per week, while during long-term storage of the raw LPD the losses were 7% of N_{anorg} per week on average, which is almost 9 times more compared to thermally thickened nitrified LPD. Higher losses of nitrogen compounds during storage of the thermally thickened nitrified LPD compared to un-thickened nitrified LPD were also confirmed. Compared to the nitrified LPD, significant differences were found only in the variants in summer conditions, the losses of N_{anorg} in the thickened nitrified LPD were 3 times higher in the unmixed variant and 1.6 times higher in the mixed one. Losses in winter conditions were comparable for nitrified LPD and thermally thickened nitrified LPD.

Keywords: Liquid Phase of Digestate, nitrogen loss, thermal thickening, nitrification, denitrification

Obsah

1 Úvod	8
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	9
3 Literární rešerše	10
3.1 Fermentační zbytek	10
3.1.1 Proces vzniku fermentačního zbytku.....	10
3.1.2 Charakteristika a složení fermentačního zbytku.....	11
3.1.2.1 pH	11
3.1.2.2 Obsah makroprvků.....	12
3.1.2.3 Obsah rizikových prvků.....	13
3.1.2.4 Obsah organické hmoty	15
3.1.2.5 Obsah patogenů	16
3.2 Zpracování fermentačního zbytku	17
3.2.1 Separace fermentačního zbytku	17
3.2.2 Technologie separace fermentačního zbytku.....	18
3.2.2.1 Technologie separace fermentačního zbytku šnekovým separátorem.....	18
3.2.2.2 Technologie separace fermentačního zbytku odstředivkou	19
3.3 Agronomické využití fermentačního zbytku	20
3.3.1 Vliv fermentačního zbytku na půdní vlastnosti	20
3.3.2 Legislativa spojená s agronomickým užíváním fermentačního zbytku....	21
3.4 Metody zpracování fugátu	22
3.4.1 Membránové technologie	22
3.4.2 Stripování dusíku	24
3.4.3 Nitrifikace fugátu jako způsob racionálního využití dusíku.....	25
3.4.4 Tepelné zahušťování vakuovým odpařováním.....	26
3.5 Skladování fermentačního zbytku a rizika ztrát dusíku	28
3.5.1 Denitrifikace jako příčina ztrát dusíku	30
4 Metodika	32
4.1 Materiál	32
4.1.1 Původ fugátu	32
4.1.2 Nitrifikace fugátu.....	32
4.1.3 Tepelné zahuštění vakuovým odpařováním	33
4.1.4 Test ztrát dusíku během skladování.....	35
4.2 Analytické metody	37
4.2.1 Měření rozpuštěného kyslíku, teploty a pH.....	37
4.2.2 Stanovení anorganických forem dusíku.....	37
4.2.2.1 Stanovení koncentrace N-amon.....	37

4.2.2.2	Stanovení koncentrace NO_2^-	37
4.2.2.3	Stanovení koncentrace NO_3^-	38
4.2.2.4	Stanovení celkového dusíku	38
4.2.3	Stanovení chemické spotřeby kyslíku	38
4.2.4	Stanovení obsahu veškerých látek, rozpuštěných látek, nerozpuštěných látek a ztráta žiháním	39
5	Výsledky	40
5.1	Skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu	40
5.1.1	Teplota	40
5.1.2	Koncentrace rozpuštěného kyslíku	40
5.1.3	pH	42
5.1.4	Chemická spotřeba kyslíku	43
5.1.5	Dusitany	45
5.1.6	N-amon	48
5.1.7	Dusičnany	49
5.1.8	Celkový dusík	52
5.1.9	Anorganický dusík	54
5.1.10	Veškeré látky a veškeré organické látky	56
6	Diskuze	58
6.1	Vliv kombinace nitrifikace a tepelného zahušťování na ztráty dusíku	58
6.2	Změny v průběhu skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu	58
6.2.1	Koncentrace rozpuštěného kyslíku	58
6.2.2	Ztráty N-amon během skladování	59
6.2.3	Vývoj koncentrace N- NO_2^-	60
6.2.4	Ztráty N- NO_3^- během skladování	61
7	Závěr	63
8	Literatura	64

1 Úvod

Anaerobní fermentace je proces, během kterého dochází k přeměně biologicky rozložitelných materiálů na bioplyn, který se následně používá pro výrobu elektrické energie a tepla. Tento proces je zároveň jedním z nejučinnějších způsobů výroby obnovitelné energie (Šimon et al. 2015). Mimo jiné je dalším produktem fermentačního procesu i fermentační zbytek, který je možné použít jako hnojivo (Al Seadi et al. 2008). V České republice v současnosti funguje 574 bioplynových stanic (Česká bioplynová asociace 2019).

Kromě využívání bioplynu je nutné také adekvátně nakládat s fermentačním zbytkem. Ten je v řadě případů podroben separaci na pevnou a kapalnou frakci (fugát) (Fuchs & Drog 2013), tím je následné skladování a přeprava snazší. Pevná frakce se vyznačuje vysokým obsahem fosforu, naopak kapalná frakce, jejíž objemy jsou vyšší oproti pevné, obsahuje vyšší podíl dusíku (Nkoa 2014). Kapalná frakce obsahuje dusík především ve formě N-amon ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$) a vyznačuje se hodnotou pH 7,5-8,3, která vede k vyššímu těkání NH_3 . S přihlédnutím k tomu, že fugát se používá především jako hnojivo, bylo nutné upravit jeho používání po legislativní stránce, k čemuž slouží směrnice rady EU 91/676/EHS o dusičnanech (Rada Evropského společenství 1991). Na základě povinností, které plynou z této směrnice, se tak často stává, že skladovací doba se prodlužuje, což vede k vyšším emisím NH_3 a zároveň ke snižování kvality hnojiva.

Nitrifikace se jeví jako ideální forma úpravy pro konzervaci živin ve fugátu. Jedná se o biochemický proces, během kterého dochází k oxidaci N-amon na NO_2^- , a ty se následně oxidují na NO_3^- (Botheju et al. 2010). Tato forma dusíku by měla být v průběhu skladování stabilnější (Svehla et al. 2020) a zároveň dobře přijatelná rostlinami. Samotný proces nitrifikace zároveň vede k přirozenému snížení hodnoty pH výsledného produktu, což by mělo omezit ztrátu N během tepelného zahušťování vakuovým odpařováním bez vynaložení dalších nákladů na úpravu pH pomocí kyseliny (Chiumenti et al. 2013).

Tepelné zahuštění vakuovým odpařováním, jakožto následné úpravy nitrifikovaného fugátu, by mohlo být řešením problémů s velkými objemy fugátu a náklady na přepravu. Touto metodou zpracování fugátu je možné dosáhnout snížení objemu fugátu a zároveň získání kondenzátu, který je možné využívat jako ředící kapalinu ve fermentačním reaktoru (Chiumenti et al. 2013). Nicméně během skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu hrozí riziko ztrát dusíku vlivem denitrifikačních procesů, které mohou ve skladovacích nádržích kvůli anoxickým podmínkám probíhat (Painter, 1970). Během procesu denitrifikace dochází k postupné anoxické redukci dusičnanů (NO_3^-) nebo dusitanů (NO_2^-) (Zubair et al. 2020) na elementární N_2 a N_2O (Al Seadi et al. 2013; Zubair et al. 2020). Cílem této diplomové práce je laboratorní simulace dlouhodobého skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu a následné porovnání ztrát dusíku s výsledky skladování surového a nitrifikovaného fugátu.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem této diplomové práce bylo realizovat tepelné zahušťování nitrifikovaného fugátu v laboratorních podmínkách a kvantifikovat ztráty dusíku při skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu způsobené denitrifikací. Následně byly tyto ztráty porovnány se ztrátami, které byly zaznamenány v rámci starších experimentů při dlouhodobém skladování surového a nitrifikovaného fugátu, který nebyl vystaven procesu tepelného zahuštění.

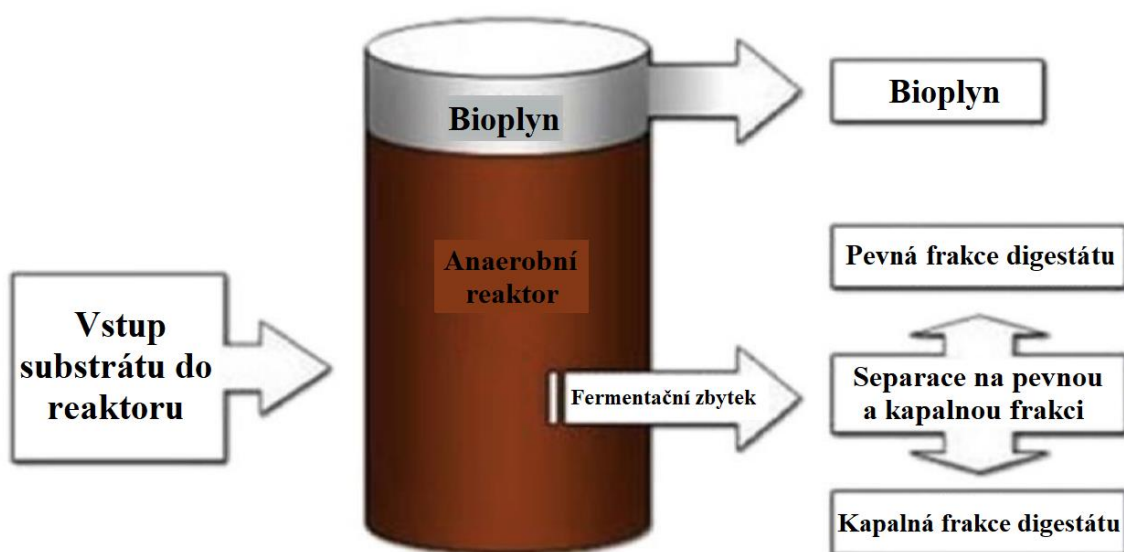
Základní hypotézou je předpoklad, že během skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu bude intenzita ztrát dusíku denitrifikací výrazně nižší než intenzita ztrát dusíku vlivem těkání amoniaku během skladování surového fugátu. Zároveň se předpokládaly významnější ztráty dusíku během skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu oproti ztrátám dusíku v případě skladování nitrifikovaného fugátu, který neprošel procesem tepelného zahuštění.

3 Literární rešerše

3.1 Fermentační zbytek

3.1.1 Proces vzniku fermentačního zbytku

Anaerobní fermentace je proces produkce bioplynu, ke kterému dochází jak samovolně v přírodě, tak řízeně na bioplynových stanicích. Mikroorganismy zde za kontrolovaných anaerobních podmínek přeměňují různé druhy biologicky rozložitelných materiálů. Jedná se například o energetické plodiny, živočišné zbytky, komunální čistírenské kaly či organické frakce komunálního odpadu (Al Seadi et al. 2013). Tento proces je považován za jeden z nejúčinnějších způsobů, jak vyrábět obnovitelnou energii (Šimon et al. 2015). Celý proces má 4 fáze – hydrolýzu, acidogenezi, acetogenezi a metanogenezi (Al Seadi et al. 2013). Jak ukazuje Obrázek 1, výsledkem tohoto procesu jsou dva základní produkty – bioplyn a digestát neboli fermentační zbytek (Al Seadi et al. 2013). K rozvoji tohoto procesu v bioplynových stanicích došlo během 70. let 20. století, a to vlivem růstu cen energií a obav z negativního dopadu využívání fosilních paliv (Nkoa 2014). Bioplyn je hořlavý plyn, který se z většiny skládá z metanu (CH_4), oxidu uhličitého (CO_2) a malého množství dalších plynů a stopových látek. Bioplyn se v současnosti využívá primárně k výrobě obnovitelné energie. Fermentační zbytek je anaerobně rozložený substrát, který je bohatý na makro- a mikroživiny, z tohoto důvodu je vhodný k použití jako hnojivo v zemědělství (Al Seadi et al. 2008). Kvalita fermentačního zbytku se odvíjí od kvality vstupních surovin a technologických podmínek na dané bioplynové stanici (Al Seadi et al. 2013). Objemy vyprodukovaného fermentačního zbytku se pohybují mezi 90 a 95 %, z původně přivedeného množství substrátu do reaktoru (Kathijotes et al. 2015). Na základě zpracovávaných substrátů je možné bioplynové stanice rozdělit na zemědělské, průmyslové a komunální. Jelikož zemědělství produkuje velké množství biologicky rozložitelných produktů, které je možné způsobem anaerobní fermentace zpracovat, jsou v České republice nejvíce rozšířené právě zemědělské bioplynové stanice (Česká bioplynová asociace 2019).



Obrázek 1: Schéma anaerobní fermentace (Nkoa 2014)

3.1.2 Charakteristika a složení fermentačního zbytku

Kvalita a fyzikálně-chemické vlastnosti fermentačního zbytku se přímo odvíjí od provozních parametrů anaerobní fermentace (Al Seadi et al. 2013; Drogg et al. 2015). Jsou dány rychlostí zatížení reaktoru organickými látkami, provozní teplotou, hodnotou pH a hydraulickou dobou zdržení. Delší doba zdržení během anaerobní fermentace vede k nižším obsahům organických látek ve fermentačním zbytku, což je dáno účinnější konverzí organické hmoty (Al Seadi et al. 2013). Vlastnosti používaných substrátů rovněž ovlivňují složení výsledného fermentačního zbytku (Makádi et al. 2012; Al Seadi et al. 2013). Fermentační zbytek je hustá heterogenní kapalina tmavě šedé až černé barvy, která obsahuje 5-10 % sušiny (Tlustoš et al. 2014). Výsledný produkt vykazuje vysokou biologickou stabilitu (Makádi et al. 2012) a vysoký obsah nerozložené organické hmoty (Tlustoš et al. 2014).

Fermentační zbytek může obsahovat i chemické nečistoty, mezi které řadíme především rizikové prvky, organické polutanty a patogeny. (Al Seadi & Lukehurst 2012; Drogg et al. 2015) Kromě chemických nečistot se ve fermentačním zbytku mohou objevit i fyzikální nečistoty: nerozložitelné inertní materiály, například plast, sklo a kameny (Al Seadi & Lukehurst 2012; Al Seadi et al. 2013). Přítomnost jakýchkoli nečistot ve fermentačním zbytku je potenciálním nebezpečím pro životní prostředí a má negativní dopad na jeho kvalitu a vhodnost pro použití jako hnojiva (Drogg et al. 2015). Pečlivým sledováním vlastností fermentačního zbytku se dá částečně zabránit případné kontaminaci půdy a potravinového řetězce (Al Seadi et al. 2013).

3.1.2.1 pH

Hodnota pH určuje kyselost nebo zásaditost vodného roztoku (Al Seadi et al. 2013), u fermentačního zbytku se pohybuje v rozmezí od neutrálního až po mírně zásadité (Tlustoš et al. 2014; Drogg et al. 2015; Svehla et al. 2020). Vyšší hodnota pH může být způsobena zvýšenou koncentrací celkového anorganického uhlíku a následné tvorby uhličitanu amonného ((NH₄)₂CO₃) (Makádi et al. 2012; Möller & Müller 2012). Dalším důvodem je odstraňování CO₂ po transformaci CO₃²⁻ a 2 H⁺ na CO₂ a H₂O (Möller & Müller 2012). Na hodnotu pH má vliv rovněž použitý substrát. Fermentační zbytek ze zvířecího hnoje je mírně zásaditý. Fermentační zbytky z rostlinných substrátů jsou neutrální až mírně zásadité (Makádi et al. 2012; Al Seadi et al. 2013). Hodnota pH je dále ovlivněna koncentrací bazických kationtů (např. Ca²⁺ a K⁺) ve fermentačním zbytku, hodnota pH je jimi zvyšována (Möller & Müller 2012). Výsledné hodnoty pH fermentačního zbytku, při použití různých vstupních substrátů a teplotních podmínek, ukazuje Tabulka 1. Hodnoty se mohou měnit v závislosti na výše zmíněných faktorech.

Využívání fermentačního zbytku o hodnotě pH vyšší než 7 by mohlo být užitečné pro řešení současného celosvětového problému s okyselováním půd (Makádi et al. 2012). Současně by však aplikace fermentačního zbytku s vyšší hodnotou pH mohla zvýšit emise amoniaku (Al Seadi et al. 2013), neboť zastoupení těkavého NH₃ v rámci N-amon s rostoucí hodnotou pH roste (Nkoa 2014). Naopak aplikace fermentačního zbytku, který by vykazoval nižší hodnoty pH, by mohla celkové pH půdy snížit a zvýšit tak mobilitu rizikových prvků (Tampio et al. 2016).

Tabulka 1: Hodnoty pH fermentačního zbytku v závislosti na použitém vstupním substrátu a teplotních podmínkách v reaktoru

Vstupní substrát	Teplotní podmínky	pH fermentačního zbytku	Citace
Dobytčí hnůj	Mezofilní	7,6	
Kal z farmaceutického průmyslu	Mezofilní	7,8	Gómez et al. (2007)
Primární kal z komunálních čistíren odpadních vod a organické frakce pevných KO	Termofilní	7,5	
Prasečí kejda, zbytky energetických plodin a 9,6 % zbytků z řepky	Mezofilní	7,8	Albuquerque et al. (2012)
Organická frakce pevného KO	Termofilní	8,3	Tampio et al. (2016)
Směs rostlinného odpadu a přebytečného kalu z ČOV	Termofilní	7,6	

ČOV = čistírna odpadních vod; KO = komunální odpad

3.1.2.2 Obsah makroprvků

Obsah jednotlivých makroprvků ve fermentačním zbytku je ovlivněn samotným zdrojem biomasy, obsahem sušiny, parametry procesu anaerobní fermentace a následným skladováním (Makádi et al. 2012; Al Seadi et al. 2013; Fuchs & Drosig 2013).

Fermentační zbytek je bohatý na sloučeniny dusíku (N), jedná se o důležité rostlinné živiny, které jsou zároveň jedním z nejčastějších limitních faktorů pro růst rostlin (Makádi et al. 2012). Proces anaerobní fermentace vede k biodegradaci organického materiálu (Makádi et al. 2012; Nkoa 2014), jako jsou sacharidy, proteiny, lipidy nebo celulóza (Al Seadi et al. 2013). Obsažený organický uhlík (C_{org}) je přeměněn na CH_4 a CO_2 . Dochází i k přeměně živin v organických formách na formy anorganické. Organická forma N (N_{org}) je mineralizována na N-amon ($NH_4^+ + NH_3$) (Makádi et al. 2012; Al Seadi et al. 2013). Je nutné podotknout, že během procesu fermentace nedochází ke změnám obsahu živin, ale pouze ke změnám příslušné formy (Al Seadi et al. 2013). Výsledné koncentrace jednotlivých forem N se tedy odvíjí od počátečního obsahu N_{org} v substrátu (Drosig et al. 2015). Na celkovou koncentraci N mohou mít vliv i další faktory, například parametry procesu, množství použité čisté vody a stupeň recirkulace fermentačního zbytku (Fuchs & Drosig 2013; Drosig et al. 2015). Podíl obsahu N-amon ve fermentačním zbytku tvoří zhruba 60-80 % z celkového obsahu N (N_{tot}) (Makádi et al. 2012). Zbytek je tvořen dusíkem, který je v organických formách (Drosig et al. 2015). Vyšší poměr N-amon k N_{org} znamená lepší využitelnost minerálního dusíku rostlinami (Makádi et al. 2012), což je dáno tím, že se jedná o rozpustnou formu N (Nkoa 2014). Vysoké koncentrace N-amon však představují rizika spojená s emisemi NH_3 během skladování či aplikace na půdu (Nkoa 2014; Moller 2015).

V porovnání s kompostem může mít fermentační zbytek vyšší obsahy fosforu (P) a draslíku (K), v závislosti na použitém substrátu, a proto může být vhodný k doplnění těchto makroživin do půdy (Makádi et al. 2012; Koszel & Lorencowicz 2015). Biologické odpady

živočišného původu, které se používají v bioplynových stanicích (zvířecí hnůj a kejda), mají vysoký obsah P a K, což je dáno jejich přítomností v potravě hospodářských zvířat. Odpady živočišného původu jsou tak bohatým zdrojem rostlinných živin (Lukehurst et al. 2010). Rostliny potřebují P pro růst buněk (Al Seadi et al. 2013). Jeho nedostatek zpomaluje růst rostlin, snižuje výnosy a kvalitu sklizně (Koszel & Lorencowicz 2015). Avšak opakovaná aplikace P do půdy může vést k nadměrným koncentracím, odkud se může dále dostávat do povrchových a spodních vod (Lukehurst et al. 2010). Role K ve výživě rostlin je velmi důležitá, neboť se podílí na hospodaření s vodou, procesu fotosyntézy, aktivaci řady enzymů a transportu živin. Podstatný význam má i obsah hořčíku (Mg), který tvoří nedílnou součást v chlorofylu, což ovlivňuje proces fotosyntézy (Koszel & Lorencowicz 2015). Neopominutelný je i obsah síry (S), její přítomnost je důležitá pro tvorbu potřebných aminokyselin v metabolismu rostlin (Möller & Müller 2012). Během anaerobního rozkladu sloučenin síry dochází k produkci sulfanu (H_2S), který může být ve vyšších koncentracích inhibiátorem anaerobní fermentace. Problematickou může být již koncentrace 30 mg H_2S/l . Mimo jiné je S^{2-} schopna vytvářet nerozpustné komplexy s rizikovými kovovými ionty, které by mohly mít negativní vliv na biologickou dostupnost stopových prvků (Al Seadi et al. 2013).

3.1.2.3 Obsah rizikových prvků

Fermentační zbytek může obsahovat organické polutanty a rizikové prvky (Kupper et al. 2014). Těžké kovy řadíme mezi rizikové prvky. Vyskytují se v životním prostředí, půdě i potravinářských produktech (Al Seadi & Lukehurst 2012). Rizikové prvky mohou být v nižších koncentracích nezbytné, ve vyšších koncentracích se však mohou stávat toxickými (Al Seadi & Lukehurst 2012; Al Seadi et al. 2013). Stopová množství některých těžkých kovů, jako je měď a zinek, jsou vyžadována pro fungování fyziologických a biochemických procesů u rostlin a živočichů. Naopak další stopové prvky, jako například kadmium, chrom, rtuť a olovo, jsou pro organismy toxické (Makádi et al. 2012). Před aplikací na půdu je proto nutné vzít v úvahu koncentrace rizikových prvků ve fermentačním zbytku, jejich schopnost kumulace v půdě a potenciálního vstupu do potravního řetězce (Al Seadi et al. 2013).

S přihlédnutím k nebezpečím, která jsou spojena s obsahem a dalším vnosem rizikových prvků do půdy, jsou stanovovány zákonné limity k zabránění kontaminace prostředí. Toho je docíleno splněním kvalitativních požadavků, které vychází především z fyzikálně-chemických vlastností (obsahu kovů), či biologických vlastností (patogeny) (Pivato et al. 2018). V České republice jsou limity pro regulaci těžkých kovů v organických hnojivech dány vyhláškou Ministerstva zemědělství České republiky č. 131/2014 (Ministerstvo zemědělství České republiky 2014). Mezi rizikové prvky podléhající limitům řadí kadmium (Cd), olovo (Pb), rtuť (Hg), chrom (Cr), měď (Cu), zinek (Zn), nikl (Ni), molybden (Mo) a arsen (As). Limitní koncentrace těchto prvků ve fermentačním zbytku a jejich porovnání v rámci legislativy různých zemí ukazuje Tabulka 2.

Tabulka 2: Srovnání limitních koncentrací rizikových prvků ve fermentačním zbytku (mg/kg sušiny) pro aplikaci na zemědělskou půdu v různých zemích

	Česká republika ¹	Spojené království ²	EU ³
	mg/kg sušiny		
Cd	2	1,2	1,5
Pb	100	160	120
Hg	1	0,8	1
As	20	n/a	40
Cr	100	80	200
Cu	100	160	300
Mo	5	n/a	n/a
Ni	50	40	50
Zn	300	320	800

n/a = nedostupné

- 1 Ministerstvo zemědělství České republiky (2014)
- 2 BSI (2014)
- 3 Evropský parlament a Rada (2019)

Chemické složení vstupních surovin může mít vliv na výslednou koncentraci rizikového prvku ve fermentačním zbytku (Lukehurst et al. 2010; Al Seadi & Lukehurst 2012), což ukazuje Tabulka 3. V současnosti používané biologicky rozložitelné materiály (organické zbytky, kaly a odpadní vody) mohou být kontaminované těžkými kovy (Makádi et al. 2012; Al Seadi et al. 2013). Mohou být obsaženy i v krmivech zvířat a doplňcích stravy, odkud se dostávají spolu s hnojem a kejdou do fermentačního reaktoru (Lukehurst et al. 2010) a do fermentačního zbytku. Pokud jsou zbytky využity jako hnojivo, mohou se dostat až do půdy (Al Seadi & Lukehurst 2012).

Ke kontaminaci vstupních surovin dochází vlivem antropogenní činnosti (Makádi et al. 2012; Al Seadi et al. 2013). Samotný fermentační proces zpracování substrátu nemá žádný vliv na konečnou koncentraci těžkých kovů (Kupper et al. 2014), což je způsobeno tím, že těžké kovy nepodléhají degradaci během procesu anaerobní fermentace (Makádi et al. 2012; Al Seadi et al. 2013; Kupper et al. 2014). Fermentační zbytek vyrobený ze směsi rostlinného odpadu a přebytečného kalu z čistírny odpadních vod (ČOV), překračoval legislativní limity, z důvodu obsahu vysokých koncentrací těžkých kovů (Tampio et al. 2016). Vývoj nových technologií, které by napomohly ke snížení obsahů těžkých kovů ve fermentačním zbytku, je velice důležitý (Al Seadi & Lukehurst 2012).

Tabulka 3: Porovnání obsahu rizikových prvků ve fermentačním zbytku v závislosti na použitém vstupním substrátu

Vstupní surovina	Cd	Pb	Hg	As	Cr	Cu	Ni	Zn	Citace
	mg/kg sušiny								
Organická frakce pevného KO	1,5	11,7	0,3	3,3	13	58,7	6,7	401	Tampio et al. (2016)
Směs rostlinného odpadu a přebytečného kalu z ČOV	1,1	98	1,8	2,6	32,9	626,5	22,3	1006	
Zbytky jídla	0,3	5,6	0,1	1	7,5	21,7	42,4	175	
Prasečí kejda	1,03	9,77	n/a	n/a	4,79	65,6	6,1	423	Lukehurst et al. (2010)
Organická frakce pevného KO	0,58	18,6	0,08	n/a	12,74	53,2	11,03	233	Beggio et al. (2019)
Zemědělské produkty	0,4	4,66	0,05	n/a	8,74	62,2	8,2	280	

ČOV = čistírna odpadních vod; KO = komunální odpad; n/a = nedostupné

3.1.2.4 Obsah organické hmoty

Zastoupení organických látek (OL) v sušině fermentačního zbytku je velmi variabilní. Pohybuje se v rozmezí 38-75 % (Nkoa 2014). Rozkladem snadno degradovatelných sloučenin uhlíku ve fermentačních reaktorech dochází ke snížení obsahu OL až o 95 %. Degradace závisí na charakteru vstupní suroviny a podmínkách během anaerobní fermentace (Makádi et al. 2012; Möller & Müller 2012).

V případě vysokého organického zatížení bioplynové stanice a krátké doby zdržení, bude výsledný produkt obsahovat velké množství nerozložitelných OL, což je z hlediska výroby bioplynu neekonomické (Makádi et al. 2012; Nkoa 2014). Nadbytek nerozložených OL může mít za následek vyšší uvolňování zápachu, fytotoxicitu a přítomnost patogetnů (Albuquerque et al. 2012; Nkoa 2014). Snahou je přeměna většiny OL na bioplyn, přičemž zároveň dojde ke stabilizaci zbývajících OL. Mezi ně patří především lignin, kutin, huminové kyseliny, steroidy a komplexní bílkoviny. Výše zmíněné aromatické a alifatické molekuly jsou možnými prekurzory humusu s vysokou biologickou stabilitou (Tambone et al. 2009).

Konečné použití fermentačního zbytku je ovlivněno také celkovým obsahem pevných látek (celková sušina), který se odvíjí od obsahu sušiny ve vstupním substrátu. Sušina během anaerobní fermentace klesá z důvodu rozkladu snadno degradovatelných OL, což způsobuje, že výsledný fermentační zbytek může obsahovat o 50-80 % sušiny méně než vstupní surovina (Drosg et al. 2015).

Z těchto důvodů se stala maximalizace produkce kvalitního bioplynu stejně důležitá, jako výroba a sledování kvality parametrů fermentačního zbytku. Nemělo by docházet ke zkracování doby zdržení v reaktoru, čímž se zajistí dostatečná stabilizace a minimalizace rizik spojených s toxickými organickými sloučeninami, patogeny a uvolňováním zápachu (Nkoa 2014). Obsažené stabilní OL, které mohou tvořit až 70 % zbylé sušiny (Drosg et al.

2015), navíc přispívají ke zlepšení stavu půdní organické hmoty (Tambone et al. 2010). Stabilní OL napomáhají střednědobému až dlouhodobému vytváření humusu (Drosg et al. 2015), což pozitivně ovlivňuje půdní vlastnosti, rozvoj kořenového systému a tvorbu biomasy (Makádi et al. 2012).

3.1.2.5 Obsah patogenů

Jak již bylo zmíněno výše, před aplikací fermentačního zbytku je nutné celkové hodnocení obsažených látek a živin. Stejně tak je nezbytné dbát na mikrobiální stabilitu a hygienizaci materiálu (Albuquerque et al. 2012). Přítomnost biologických kontaminantů, jako jsou různé patogeny, priony či semena, může vést k vytvoření nových cest přenosu mezi lidmi, zvířaty a životním prostředím (Lukehurst et al. 2010). Používání fermentačního zbytku s sebou nevyhnutelně nese i rizika spojená s patogenními mikroorganismy. Riziko se zvyšuje s využíváním biologických odpadů živočišného původu (hnůj, kejda nebo kal). Patogeny se mohou šířit na zemědělských půdách a následně kontaminovat potravní řetězec (Lukehurst et al. 2010; Johansen et al. 2013; Maynaud et al. 2016).

Mnoho z těchto bakterií patří mezi zoonózní patogeny, což znamená, že mohou způsobit onemocnění lidí i zvířat (Sahlström 2003). Mezi nejběžnější přítomné patogeny se řadí celá řada virů, včetně viru způsobujícím Hepatitidu E (Maynaud et al. 2016) a bakterií, například *Salmonella spp.*, *Enterobacter*, *Clostridia*, *Campylobacter*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* a *Mycobacterium paratuberculosis* (Sahlström 2003; Avery et al. 2012). Nejvíce jsou sledovány obsahy bakterií rodů *Salmonella*, *Campylobacter* a *Listeria* (Maynaud et al. 2016).

Je známo, že proces anaerobní fermentace může potlačit činnost patogenů obsažených ve vstupním substrátu (Makádi et al. 2012). Jejich odstranění však záleží na společné interakci provozních podmínek a parametrů, včetně pH, teploty, doby zdržení a obsahu nižších mastných kyselin. Některé patogenní bakterie se vyznačují vysokou rezistencí, což může způsobit jejich množení v reaktoru (Sahlström 2003). Během sledování chování patogenů, při procesu anaerobní fermentace bylo zjištěno, že teplota je hlavním faktorem, který ovlivňuje jejich vitalitu (Avery et al. 2012; Maynaud et al. 2016). Při vyšších teplotách dochází k rychlejší inaktivaci patogenních organismů (Sahlström 2003). K efektivnějšímu snížení koncentrací patogenů došlo při termofilních podmínkách (50-55 °C), oproti podmínkám mezofilním (30-38 °C) (Avery et al. 2012). Dalšími výhodami využívání vyšších teplot je i vyšší rychlost degradace OL, což způsobí kratší dobu zdržení a vyšší produkci bioplynu (Makádi et al. 2012; Nkoa 2014). Proto při provozování reaktorů v mezofilních podmínkách není zaručená dostatečná hygienizace fermentačního zbytku (Sahlström 2003). Pro správnou hygienizaci je vhodné použít samostatnou metodu ošetření (70 °C, 60 minut), před nebo po fermentaci, především v případě používání odpadů živočišného původu (Makádi et al. 2012).

Při nedostatečném odstranění mohou být patogeny v nízkých koncentracích stále přítomny i po procesu anaerobní fermentace (Maynaud et al. 2016). Z těchto důvodů je nutná přísná kontrola vstupních surovin a výsledného fermentačního zbytku (Lukehurst et al. 2010; Albuquerque et al. 2012). S tím souvisí i zařazení předběžných, či následných úprav, jako je pasterizace nebo tlaková sterilizace materiálů (Sahlström 2003; Al Seadi & Lukehurst 2012).

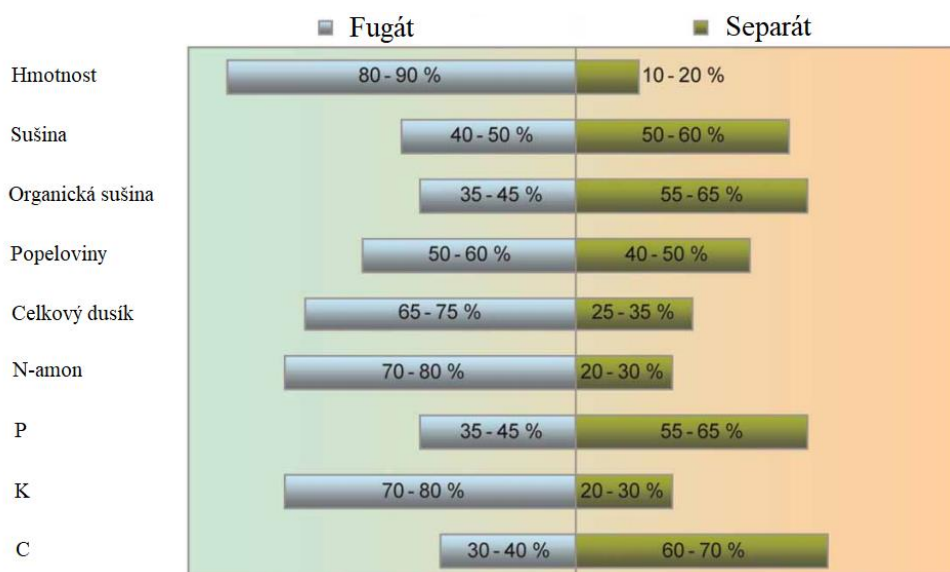
3.2 Zpracování fermentačního zbytku

Surový fermentační zbytek je možné aplikovat na zemědělskou půdu přímo ve formě prospěšného hnojiva s vysokým obsahem živin a organické hmoty. Avšak vlivem nevhodných postupů při hnojení a aplikaci přímo na půdu může docházet k těkání amoniaku z povrchu půdy do ovzduší a ztrátě živin. Intenzifikace hnojení půdy minerálními hnojivy vede ke ztrátám uhlíku v půdě, vyšším nákladům, a především znečištění dusičnany (Nkoa 2014). Na tuto situaci reagovalo Evropské hospodářské společenství již v roce 1991, kdy byla přijata a zároveň vešla v platnost Směrnice Rady 91/676/EHS o ochraně vod před znečištěním dusičnany ze zemědělských zdrojů. Tato směrnice je stále platná a má za úkol snižovat znečištění vod, které pochází ze zemědělské činnosti a zároveň předcházet dalšímu takovému znečištění (Rada Evropského společenství 1991).

Dalším problémem efektivnějšího zpracování fermentačních zbytků jsou velké objemy a vysoké náklady na přepravu, které z toho vyplývají. Technologie zpracování fermentačního zbytku se zaměřují na snížení objemu rozdělením na jednotlivé frakce – pevnou a kapalnou (Al Seadi et al. 2013). To přispívá ke snižování nákladů za přepravu, skladování a možnosti opětovného využití dusíku a fosforu, které jsou ve fermentačním zbytku obsažené.

3.2.1 Separace fermentačního zbytku

Separace pevné frakce (separátu) a kapalně frakce (fugátu) je prvním, a často také jediným krokem zpracování fermentačního zbytku (Al Seadi et al. 2013; Fuchs & Drosig 2013). Zřídka se stává, že by se zpracovával surový fermentační zbytek bez předchozí separace (Fuchs & Drosig 2013). Separace na jednotlivé frakce navíc poskytuje i přirozené oddělení fosforu a dusíku, kdy dusík zůstává v kapalně frakci ve formě N-amon a většina fosforu naopak v pevně (Nkoa 2014), jak ukazuje Obrázek 2. Oddělením dusíku a fosforu je možná cílená aplikace konkrétních živin, které jsou pro danou plodinu potřeba.



Obrázek 2: Rozdělení hlavních složek po separaci surového fermentačního zbytku (Fuchs & Drosig 2013)

Po oddělení složek je možné pevnou frakci používat přímo jako hnojivo na zemědělskou půdu bez nutnosti dalšího zpracování. Pro vytvoření lépe obchodovatelné formy se přistupuje k následnému sušení a peletování (Fuchs & Drogg 2013). Kapalnou frakci je po oddělení také možné použít jako přímou formu hnojiva, ale vzhledem k velkým objemům se ve snaze o snížení nákladů za přepravu a skladování přistupuje k zakoncentrování, například za pomoci tepla (Al Seadi et al. 2013; Fuchs & Drogg 2013).

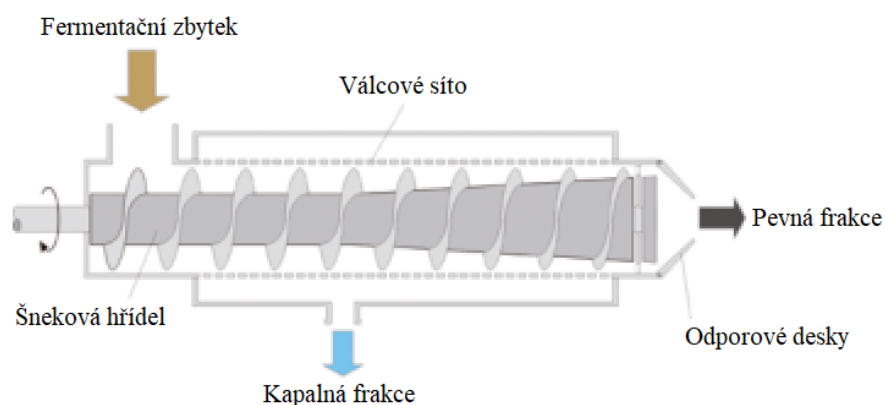
Ojedinelým způsobem zpracování je například sušení surového separačního zbytku na slunci. Jde o málo efektivní proces, během kterého dojde k vytékání velkého množství dusíku do ovzduší, a tím ke znehodnocení fermentačního zbytku (Fuchs & Drogg 2013).

3.2.2 Technologie separace fermentačního zbytku

Existuje několik dostupných technologií, jak separovat kapalnou a pevnou složku fermentačního zbytku. Běžně se tak používají vibrační síta, sítopásové lisy, prohnutá síta, odstředivky a šnekové separátory (Al Seadi et al. 2013; Fuchs & Drogg 2013). Přičemž v Evropské unii patří k jedněm z nejpoužívanějších odstředivky a šnekové separátory (Al Seadi et al. 2013).

3.2.2.1 Technologie separace fermentačního zbytku šnekovým separátorem

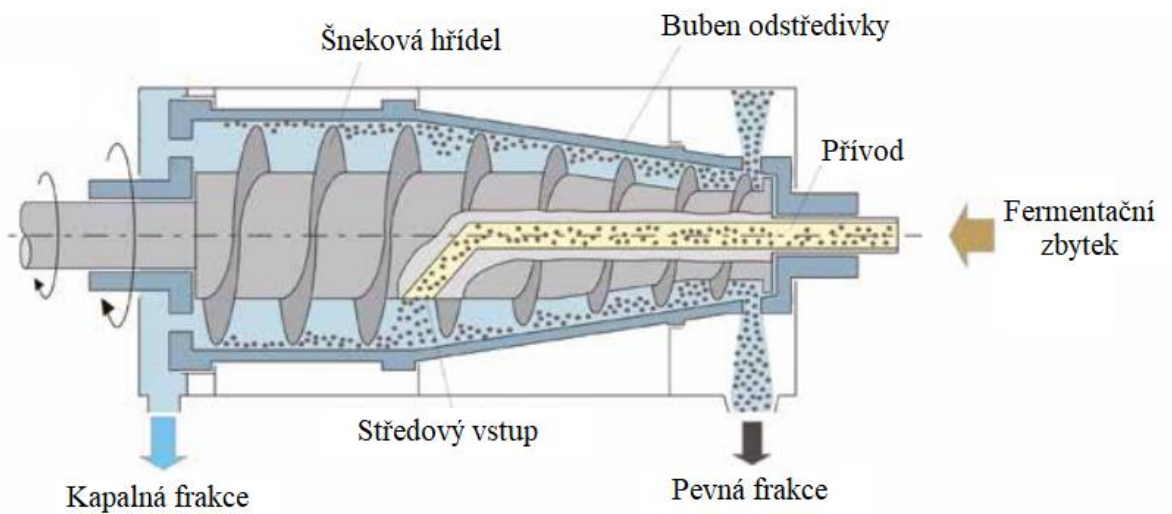
Šnekový separátor je zařízení, které slouží k mechanickému oddělování kapalně a pevně frakce fermentačního zbytku. Využití nachází především v případech, kdy má fermentační zbytek vysoký obsah vláknitých částic. Z tohoto důvodu je šnekový separátor používán ve středních a velkých zemědělských bioplynových stanicích, které produkují fermentační zbytek bohatý na vláknité částice (Al Seadi et al. 2013; Drogg et al. 2015). Schéma fungování znázorňuje Obrázek 3. K separaci fermentačního zbytku dochází v bubnu, jehož vnější strana je tvořena válcovým sítem, přes které buben opouští oddělená kapalná frakce. Zde je možné nastavit stupeň separace za pomoci změny velikosti ok. Částice s menším průměrem (0,5-1 mm) zůstanou v kapalně frakci a projdou skrz síto. Vlivem zvětšujícího se průměru šnekové hřídele dochází ke zvyšování tlaku posunujících se vláken bubnem. Zvýšeným tlakem je kapalná frakce vytlačována skrz síto ven. Ke zvýšení odporu v bubnu lze využít i mechanicky nastavitelné odporové desky na výstupu ze separátoru. Pevná frakce zbavena vody je otáčením šnekové hřídele vytlačována koncovou částí z bubnu ven (Drogg et al. 2015).



Obrázek 3: Schéma fungování šnekového separátoru (Drogg et al. 2015)

3.2.2.2 Technologie separace fermentačního zbytku odstředivkou

Odstředivky jsou využívány hlavně tam, kde je třeba oddělit malé částice a koloidy. Zároveň je možné je využít k oddělení většiny obsaženého fosforu do pevné frakce (Møller et al. 2000). Schéma fungování odstředivky znázorňuje Obrázek 4. Fermentační zbytek vstupuje do odstředivky přes centrální vstup a je dále dopravován do středu odstředivky. Ta se otáčí spolu se šnekovou hřídelí stejným směrem, avšak každá jinou rychlostí. Uvnitř bubnu dochází k oddělení částic odstředivou silou. Separační výkon se odvíjí od velikosti, tvaru i hustoty separovaných částic. Oddělené částice se vlivem odstředivých sil hromadí na stěnách bubnu, odtud jsou následně posunovány otáčením šnekové hřídele k výstupu. Současně dochází k vypouštění oddělené kapalně frakce na opačné straně (Drosg et al. 2015).



Obrázek 4: Schéma separace pomocí odstředivky (Drosg et al. 2015)

3.3 Agronomické využití fermentačního zbytku

V současné době dochází vlivem dotační politiky Evropské unie k rychlému rozvoji množství bioplynových stanic v Evropě (Šimon et al. 2015). V České republice došlo v několika posledních letech k nárůstu budování bioplynových stanic a dle dostupných dat je zde nyní 574 bioplynových stanic (Česká bioplynová asociace 2019).

S rozvojem bioplynových stanic je zároveň spojen nárůst množství fermentačního zbytku, který v nich jako vedlejší produkt výroby bioplynu vzniká (Šimon et al. 2015). Fugát obsahuje v sušině více minerálního dusíku (okolo 5-6 %) a méně organického dusíku, v porovnání s biologicky nerozložitelnými hospodářskými zbytky (Johansen et al. 2013). S přihlédnutím k nárůstu využívání fermentačního zbytku jako náhrady za statková hnojiva (Šimon et al. 2015), kterých je v současné době nedostatek. Je nutné sledovat vlivy užívání jednotlivých forem fermentačního zbytku na půdu, ať už její kvalitu, úrodnost nebo množství rizikových prvků. Byly provedeny studie, které byly zaměřeny na hnojivý účinek různých fermentačních zbytků a krátkodobé experimenty. Sledovaly vlivy přidávání jak fermentačního zbytku, tak minerálních a organických typů hnojiv na mikrobiální společenstva, množství C_{org} a emise N, CO_2 a N_2O (Johansen et al. 2013).

Výsledky dlouhodobých experimentů, které by sledovaly dopady fermentačního zbytku na úrodu plodin a vlastnosti půdy v polních podmínkách a srovnaly je s dalšími dostupnými typy hnojiv stále chybí. Příčinou je především stále relativně krátká doba masivního využívání fermentačních zbytků v zemědělství (Šimon et al. 2015).

3.3.1 Vliv fermentačního zbytku na půdní vlastnosti

Dodáváním fermentačního zbytku do půdy dochází ke změnám v půdních vlastnostech. Jedná se o velmi komplexní materiál, jehož účinky se projevují v širokém spektru fyzikálních, chemických i biologických vlastností v závislosti na půdním typu (Makádi et al. 2012).

Změna pH je jeden z primárních parametrů, který je nutné při aplikaci sledovat. Při změně hodnoty pH může docházet ke snadnějšímu uvolňování rizikových prvků či imobilizaci jiných. S přihlédnutím k faktu, že fermentační zbytek má mírně zásadité pH by se dalo předpokládat, že jeho aplikací se celkové pH půdy zvýší. Nicméně vlivem možného obsahu kyselých sloučenin (nižší mastné kyseliny), které následně v půdě reagují s minerálními i organickými koloidy, mohou přispět k celkovému snížení hodnoty pH a změně chemických vlastností (Makádi et al. 2012).

Organických látek v zemědělských půdách ubývá. Pokud je aplikován fermentační zbytek, jejich množství se v půdě zvýší. Množství je srovnatelné s obsahy v kejďe a hnoji. Rozdílem je jejich vyšší stabilita ve fermentačním zbytku (Jeřábková 2019). Ve fermentačním zbytku se nachází i velké množství nižších mastných kyselin (C2-C5), které se v půdě rozkládají během několika dnů. Vysoká míra mineralizace byla sledována v průběhu 30 dní. Nejrychlejší rozklad byl zaznamenán během prvního dne (Makádi et al. 2012). Fermentační zbytek obsahuje vysoký podíl dusíku ve formě N-amon, proto by se dal očekávat jeho zvýšený obsah v půdě. V této formě je však snadno degradatelný. Během jara dochází k nitrifikaci dusíku ve formě N-amon z fermentačního zbytku aplikovaného v podzimních měsících. Degradace je iniciována vysokou vlhkostí (Makádi et al. 2012).

3.3.2 Legislativa spojená s agronomickým užíváním fermentačního zbytku

S využíváním fermentačního zbytku a jeho separovaných produktů (separát a fugát) v zemědělství jsou spjaty nejen nesporné výhody, ale i určitá rizika. Je proto nutné se řídit legislativními omezeními, která musí procházet pravidelnou aktualizací. V rámci ochrany podzemních a povrchových vod před znečištěním dusičnany způsobeným zemědělskými zdroji se postupuje dle Směrnice Rady 91/676/EHS o dusičnanech (Rada Evropského společenství 1991). Směrnice stanovuje nejvyšší možné roční množství pro aplikaci hnojiva s obsahem dusíku na 170 kg/ha. Především se jedná o oblasti ohrožené dusičnany ze zemědělské činnosti. V České republice jsou zranitelné oblasti uvedeny v Nařízení vlády ČR č. 262/2012 Sb. o stanovení zranitelných oblastí a akčním programu, ve znění pozdějších předpisů (Ministerstvo zemědělství České republiky 2012). Dle uvedeného nařízení o vymezení zranitelných oblastí rozhoduje Ministerstvo životního prostředí na základě přezkumu povrchových a podzemních vod. Omezení aplikace se v rizikových oblastech týká i hnojiv s poměrem C:N < 10, kam spadá i použití fermentačního zbytku a jeho separovaných složek.

Podle zákona č. 156/1998 Sb., Zákon o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd (zákon o hnojivech), ve znění pozdějších předpisů (Ministerstvo zemědělství České republiky 1998), se fermentační zbytek řadí mezi organická hnojiva, která dle tohoto zákona podléhají nutnosti registrace s výjimkou fermentačního zbytku, který vzniká výhradně ze statkových hnojiv a krmiv. Rovněž se zmíněným zákonem zakazuje aplikace na zaplavenou, příliš vlhkou, zasněženou či zamrzlou půdu. Zákaz vyplývá z požadavků Směrnice Rady 91/676/EHS (Rada Evropského společenství 1991) na rovnoměrné hnojení a zákazu hnojení za nepříznivých podmínek. K zákonu o hnojivech se pojí Vyhláška č. 474/2000 Sb., Vyhláška Ministerstva zemědělství o stanovení požadavků na hnojiva, ve znění pozdějších předpisů (Ministerstvo zemědělství České republiky 2000), která stanovuje rizikové prvky a udává jejich limitní obsahy v hnojivech.

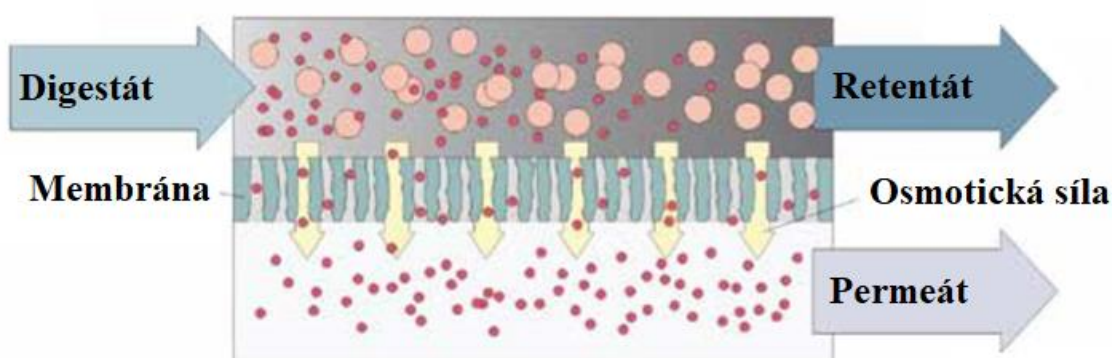
Nakládání s fermentačním zbytkem se věnuje i Vyhláška č. 377/2013, o skladování a způsobu používání hnojiv, ve znění pozdějších předpisů (Ministerstvo zemědělství České republiky 2013), která upřesňuje používání hnojiv, pomocných látek a substrátů na zemědělské ploše. Kapalné organické hnojivo musí být po aplikaci na povrch zemědělské půdy, zapraveno nejpozději do 24 hodin od aplikace, čímž se omezí možné emise.

3.4 Metody zpracování fugátu

Po separaci fermentačního zbytku na pevnou a kapalnou frakci mohou být ve fugátu zvýšené koncentrace N-amon (Ghyselbrecht et al. 2018; Svehla et al. 2020), draslíku, nižších mastných kyselin (Al Seadi & Lukehurst 2012; Al Seadi et al. 2013), suspendovaných pevných látek a živin. Výsledné koncentrace záleží na vstupní surovině, typu a podmínkách v anaerobním reaktoru, separační technologii a na užití metod pro zvýšení stabilizace živin (Drosg et al. 2015). Fugát je možné použít bez dalších úprav jako hnojivo (Lukehurst et al. 2010), při upravě obsahu sušiny vstupních surovin na bioplynové stanici nebo ke zvlhčování kompostovacích hromad. V případě intenzivního užívání recirkulace části fugátu jako procesní vody může dojít k akumulaci N-amon a dalších látek v reaktoru a následné inhibici mikrobiální aktivity (Drosg et al. 2015). Tato akumulace může být pro metanogenní organismy dokonce toxická a vést k zastavení procesu anaerobní fermentace (Ghyselbrecht et al. 2018). Během jakékoli úpravy fugátu může docházet k nežádoucím emisím NH_3 , zápachu nebo rizikových prvků (Al Seadi et al. 2013; Drosg et al. 2015). Proto v této kapitole budou více přiblíženy některé metody, které byly vyvinuty pro zlepšení vlastností fugátu, využívání procesní vody, snižování objemů nebo racionálního využívání živin.

3.4.1 Membránové technologie

Membránová separace je fyzikální separace, kdy čištěná kapalina prochází skrz membránu (Drosg et al. 2015). V závislosti na velikosti pórů membrány a aplikovaném tlaku (Dumitru 2014), dochází k zadržování některých částic v koncentrátu. Skrz semipermeabilní membránu, vlivem osmotických sil, prochází pouze částice o určité velikosti a voda (Drosg et al. 2015), což tento proces řadí mezi selektivní metody (Gerardo et al. 2015). Konečným produktem je koncentrát bohatý na živiny a vyčištěná procesní voda, kterou je po splnění parametrů možné vypouštět do recipientu (Al Seadi & Lukehurst 2012; Fechter & Kraume 2016). Membránová separace je komplexní proces skládající se z několika kroků (Drosg et al. 2015). Princip znázorňuje Obrázek 5.



Obrázek 5: Schéma membránové separace digestátu na dvě frakce (Fuchs & Drosg 2010)

Obrázek 5 od Fuchs & Drosg (2010) znázorňuje separaci digestátu na dvě frakce, retentát a permeát. Permeát je frakce tvořená částicemi, které jsou schopny skrz membránu projít. Retentát je frakce složená z částic, které nejsou schopny projít skrz membránu.

Volba vhodné technologie se odvíjí od požadavků na velikost částic, které mají být separovány (Dumitru 2014). Na základě velikosti pórů jsou rozlišovány jednotlivé stupně membránové separace, jedná se o mikrofiltraci (MF), ultrafiltraci (UF), nanofiltraci (NF) a reverzní osmózu (RO). Velikost separovaných částic se snižuje ve směru od mikrofiltrace k reverzní osmóze. Zároveň dochází ke zvyšování potřebného provozního tlaku se zvyšujícím se odporem a hustotou.

I proto je energeticky nejméně náročná MF, kde není potřeba využívání vysokého tlaku (Fechter & Kraume 2016). Pomocí MF je v závislosti na odpovídající membráně možné separovat částice až do průměru 0,1 μm . Jedná se o rozpuštěné pevné částice, bakterie či částice zbytkového kalu. UF je vhodná pro separaci částic v rozmezí průměru 0,1-0,01 μm : viry, olejové emulze a koloidy. NF separuje částice o průměru 0,01-0,001 μm . Posledním stupněm je RO, která je schopna separovat částice menší než 0,001 μm , například kovové ionty a rozpuštěné soli (Drosg et al. 2015).

Prvním krokem je separace fermentačního zbytku na pevnou a kapalnou frakci. Poté je nutné fugát podrobit důkladnému odstranění pevných látek. Jedná o zásadní krok, kterým dojde k omezení zanášení membránových pórů. Pro omezení zanášení je vhodné zařadit separaci pomocí odstředivky (viz 3.2.2.2) s přidáním srážecího činidla, které podpoří odstranění pevných látek (Al Seadi et al. 2013; Drosg et al. 2015). Dalším krokem je samotná membránová separace. Retentát, který vznikne po MF/UF, je bohatý na obsah OL. Tento retentát se často vrací zpět do reaktoru bioplynové stanice za účelem snížení jeho množství a dalšího využití obsažených OL (Al Seadi et al. 2013; Fechter & Kraume 2016). Permeát, který je výsledným produktem po UF, může obsahovat velké množství rozpuštěných iontů. RO je vhodná pro využití rozpuštěných živin a iontů (Fuchs & Drosg 2013; Gerardo et al. 2015). Pro získání vyčištěné vody se permeát po MF/UF zavádí do procesu RO, což se děje ve dvou krocích. Během prvního kroku dojde k odstranění většiny solí a rozpuštěných látek, nicméně po tomto kroku permeát stále obsahuje významnou část N-amon, kterou není možné membránou zachytit. Proto se k permeátu přidá H_2SO_4 , čímž dojde k vytvoření sloučeniny síranu amonného ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), který již může být membránou v druhém kroku zadržen (Al Seadi et al. 2013; Fechter & Kraume 2016). Výsledným permeátem druhého kroku je vyčištěná voda, kterou je možné použít jako procesní vodu. Lze ji také vypustit do recipientu, pokud splňuje parametry dané místní legislativou (Fechter & Kraume 2016). Retentát zbylý po RO se dále využívá pro zemědělské účely (Drosg et al. 2015). Je možné ho přivádět zpět do prvního kroku RO (Fechter & Kraume 2016), nebo ho dále zpracovávat pro snížení objemu odpařováním (Dumitru 2014).

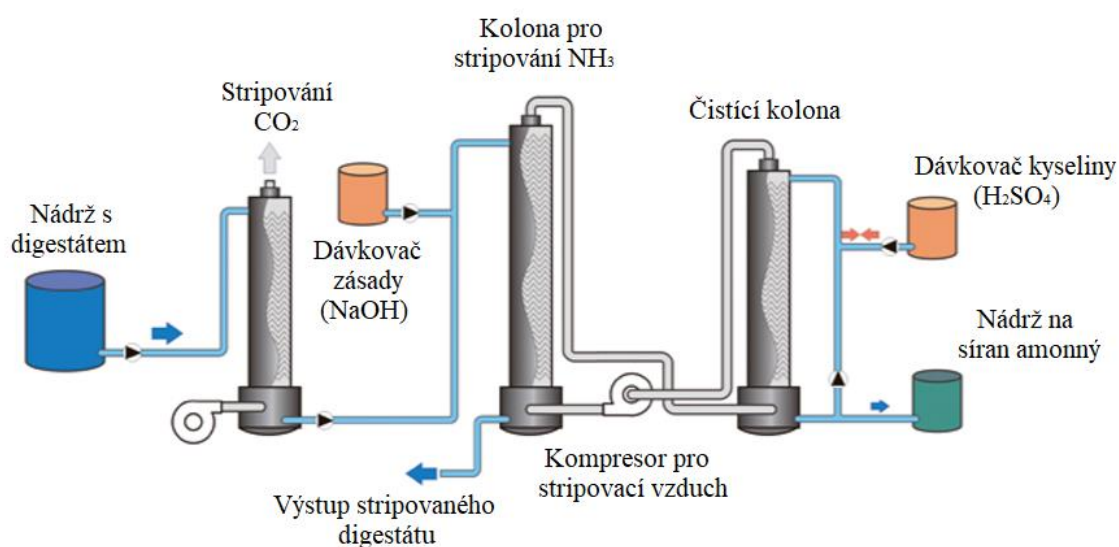
Hlavní výhodou membránové separace je využití živin z fugátu a možnost získání vyčištěné vody po vysoce selektivní separaci téměř bez použití chemikálií (Gerardo et al. 2015). Zároveň dochází ke snížení objemu fugátu. Nevýhodou membránové technologie jsou vysoké energetické vstupy, přičemž až 50 % energie vyrobené z bioplynu může být nezbytné pro úplnou úpravu fermentačního zbytku pomocí membránové technologie (Dumitru 2014). Zpracování 1 m^3 surového fermentačního zbytku pomocí membránového procesu, včetně separace, vyžaduje 21 kWh elektrické energie (Fechter & Kraume 2016). Dalším problémem je zanášení ok membrán (Al Seadi et al. 2013; Drosg et al. 2015), což může znamenat další náklady na jejich vyčištění nebo výměnu. Dalším potenciálním problémem je významné pomnožení bakterií na povrchu membrán (Al Seadi et al. 2013).

3.4.2 Stripování dusíku

Stripování je fyzikálně-chemický proces, během kterého jsou těkavé látky z kapaliny separovány proudem procházejícího plynu (Drosg et al. 2015; Liu et al. 2015). Při zpracování fermentačního zbytku metodou stripování je cílem regenerace nebo odstranění dusíku ve formě NH_3 z kapaliny (Drosg et al. 2015; Fechter & Kraume 2016; Ghyselbrecht et al. 2018).

Separace NH_3 může být provedena pomocí vzduchu, páry nebo bioplynu. Dojde k oddělení plynného NH_3 od kapalné fáze. Celý proces závisí na teplotě a pH kapalné fáze (Ghyselbrecht et al. 2018). Těkavost amoniaku ve vodném roztoku se dá podpořit zvýšením pH a teploty kapalné fáze (Drosg et al. 2015). Bylo vyzkoušeno několik pokusů. Nejvyšší efektivnosti pro stripovací proces bylo docíleno při teplotě $50\text{ }^\circ\text{C}$ a pH 8,5, nicméně se v tomto případě jednalo o nejvyšší použitou hodnotu pH (Ghyselbrecht et al. 2018). Při vyšší hodnotě pH mohla být efektivnost stripování mnohem vyšší kvůli vyšší koncentraci volně stripovatelného NH_3 (Bousek et al. 2016; Costamagna et al. 2020).

Při stripování vzduchem se fugát zahřívá přebytečným teplem z kogenerační jednotky. Nárůstu hodnoty pH je docíleno v předúpravě stripováním CO_2 nebo použitím zásady (Drosg et al. 2015). Nejčastější zásadou bývá volen hydroxid sodný (NaOH) (Ghyselbrecht et al. 2018). Stripování CO_2 a následné přidání NaOH napomůže změně poměru mezi NH_4^+ a NH_3 ve prospěch NH_3 , který je volně stripovatelný (Bousek et al. 2016). Zahřátý fugát se následně přivede do stripovací kolony, kde je NH_3 uvolněn do proudu stripovacího plynu (Drosg et al. 2015). Takto ošetřený fugát se pak vrací zpět do fermentačního reaktoru, nebo do skladovací nádrže (Fechter & Kraume 2016). Mezitím je plyn s obsahem NH_3 přiveden do čistící kolony a vystaven působení kyselého prostředí, které bývá obvykle zajištěno kyselinou sírovou (H_2SO_4). Dojde ke vzniku roztoku $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Ghyselbrecht et al. 2018), který se dá využít jako hnojivo (Jiang et al. 2014). Otázkou zůstává použití HNO_3 , která je dražší, ale výsledný produkt (hnojivo) NH_4NO_3 je hodnotnější (Ghyselbrecht et al. 2018). Vyčištěný stripovací plyn může být pak znovu použit ve stripovací koloně (Al Seadi et al. 2013; Drosg et al. 2015; Fechter & Kraume 2016). Schéma procesu zřetelněji znázorňuje Obrázek 6.



Obrázek 6: Schéma procesu stripování NH_3 vzduchem se zařazeným odstraňováním CO_2 a regenerací NH_3 (Fuchs & Drosg 2010)

Stripování vodní párou je náročnější, protože pro výrobu páry je zapotřebí vyšší teplota. V případě stripování vodní parou však není nutné mít koncovou čistící kolonu, jelikož NH_3 může být kondenzován přímo ve formě čpavkové vody s koncentrací 25-35 % NH_3 (Drosg et al. 2015).

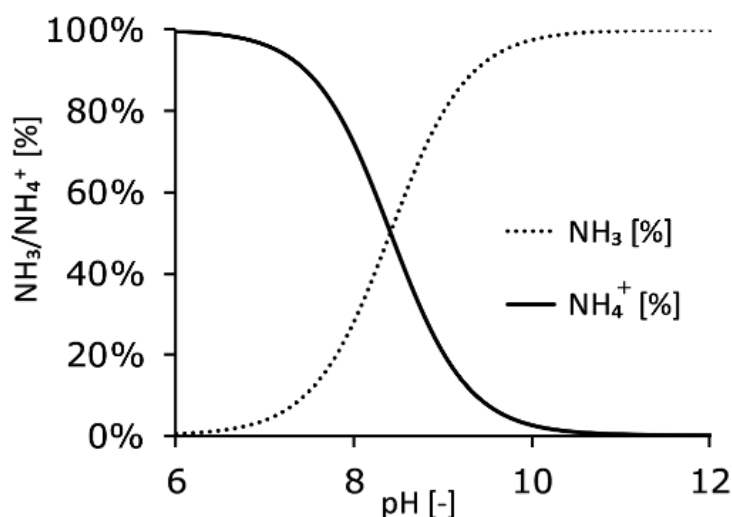
Mezi hlavní výhody používání stripování NH_3 patří především vznik hodnotného komerčně uplatnitelného dusíkatého hnojiva. Další předností je použití čpavkové vody nebo roztoku síranu amonného k obohacení nutričně chudších frakcí fermentačního zbytku na standardizovanou koncentraci dusíku. Dojde tak ke zvýšení jejich prodejnosti (Al Seadi et al. 2013; Jiang et al. 2014; Drosg et al. 2015). Nevýhodou metody stripování jsou vysoké náklady způsobené nutností ohřevu na vyšší teploty a současné použití přídatných chemikálií pro úpravu pH (Jiang et al. 2014). V současné době je hojně řešeným problémem ucpávání uzavřených stripovacích kolon, které je způsobeno obsahem zbytkových pevných částic (Al Seadi et al. 2013; Drosg et al. 2015) a možné riziko vzniku pěny v soustavě (Jiang et al. 2014).

3.4.3 Nitrifikace fugátu jako způsob racionálního využití dusíku

Proces biologické nitrifikace následovaný denitrifikací je nejpoužívanější metodou k odstraňování dusíku z odpadních vod. Je možné jej aplikovat i na čištění tekutých hnojů či fermentačního zbytku (Zubair et al. 2020). Během procesu dochází k přeměně chemicky vázaného dusíku na plynný N_2 . Jsou však snahy o maximální recyklaci a opětovné využití živin z odpadů (Botheju et al. 2010), proto zde není cílem N odstranit, ale racionálně využít. Nitrifikace je biochemický proces, během kterého dochází k oxidaci N-amon na NO_2^- , které se následně oxidují na NO_3^- (Botheju et al. 2010; Svehla et al. 2017). Akceptorem elektronu v uvedených reakcích je molekulární kyslík (O_2) (Botheju et al. 2010).

Nitrifikace má dva samostatné stupně. V prvním kroku je N-amon přeměněn na NO_2^- , za účasti aerobních nitritačních bakterií, proto je tento krok známý také jako nitritace (Botheju et al. 2010; Svehla et al. 2017). Mezi nitritační bakterie patří například rody bakterií *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira* a *Nitrosocystis* (Svehla et al. 2017; Seuntjens et al. 2018). Druhým krokem je oxidace NO_2^- na NO_3^- . Jedná se o proces známý pod pojmem nitratace. Podílí se na něm nitratační bakterie (Botheju et al. 2010; Svehla et al. 2017). Do této skupiny mikroorganismů řadíme rody *Nitrobacter*, *Nitrospira* a *Nitrocystis* (Svehla et al. 2017; Seuntjens et al. 2018). Obě skupiny bakterií patří mezi aerobní autotrofní mikroorganismy (Botheju et al. 2010).

Ve fermentačním zbytku je obsaženo velké množství N-amon, který je spojen s rozkladem dusíkatých organických látek během procesu anarobní fermentace (Makádi et al. 2012; Al Seadi et al. 2013; Nkoa 2014). Poměr NH_3 a NH_4^+ je vysoce závislý na pH a teplotě (Botheju et al. 2010). Neošetřené fermentační zbytky mají hodnotu pH spíše slabě zásaditou okolo 7,5-8,5 (Botheju et al. 2010; Whelan et al. 2010), při těchto hodnotách převládá forma NH_4^+ (Botheju et al. 2010). Simulovaným výpočtem bylo dokázáno, že při pH 7 a provozní teplotě 55 °C je 96,34 % N-amon v ionizované formě NH_4^+ a 3,66 % v neionizované formě NH_3 (Costamagna et al. 2020). Vývoj poměru NH_3 a NH_4^+ ukazuje Obrázek 7. Je zde reálné riziko emisí amoniaku během skladování fermentačního zbytku nebo po aplikaci na půdu (Botheju et al. 2010; Svehla et al. 2017).



Obrázek 7: Koncentrace NH_3 a NH_4^+ ve vztahu k hodnotě pH při teplotě 55 °C na základě simulovaného výpočtu (Costamagna et al. 2020)

Během procesu nitrifikace, především u substrátů bohatých na dusík, dochází ke snížení hodnoty pH v důsledku produkce H^+ (Svehla et al. 2017) a současně z důvodu poklesu pH se poměr $\text{NH}_3:\text{NH}_4^+$ mění a zvyšuje se koncentrace NH_4^+ (Costamagna et al. 2020). Proces nitrifikace tak napomáhá k omezení emisí NH_3 během skladování a během aplikace fugátu (Botheju et al. 2010). Zároveň je tím možné přeměnit přítomný N-amon na oxidované formy N (NO_2^- a NO_3^-), které jsou odolné vůči těkání (Svehla et al. 2020). Vzniklé hnojivo je stabilní a s vysokým obsahem NO_3^- , který poslouží jako snadno dostupný zdroj dusíku pro rostliny (Botheju et al. 2010; Svehla et al. 2017). Nitrifikace, navzdory poklesu hodnoty pH, má vliv na obsah rizikových prvků. Jejich množství je v průběhu procesu snižováno, napomáhá tomu vyšší obsah S, která se v kombinaci s nízkým pH oxiduje na sírany. Následnou reakcí, například s Pb či Cr, vznikají nerozpustné formy síranu olovnatého (PbSO_4) a síranu chromitého ($\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$). Přítomnost těchto těžkých komplexů zvyšuje hmotnost a upravuje strukturu kalu, čímž jsou podpořeny jeho sedimentační vlastnosti. Zvýšená sedimentace usnadňuje unášení koloidních částic s rizikovými prvky. Přispívá tak ke zvyšování kvality fermentačního zbytku (Botheju et al. 2010).

Potíže nastávají při dlouhodobém skladování nitrifikovaného fugátu, během kterého je potenciálně možná heterotrofní denitrifikace, která by následně způsobila ztráty dusíku ve formě N_2 (Svehla et al. 2017).

3.4.4 Tepelné zahušťování vakuovým odpařováním

Fugát získaný separací fermentačního zbytku může být koncentrován pomocí vakuového odpařování (Fechter & Kraume 2016). Vakuové odpařování probíhá při tlaku nižším, než je atmosférický tlak. Tekutý substrát se přivede k bodu varu. Bod varu je kvůli využití podtlaku mnohem nižší než při využití atmosférického tlaku (Chiumenti et al. 2013). Tím je možné snížit nároky na energetické vstupy (Fechter & Kraume 2016).

Fugát je přiveden do odparníku, kde vlivem podtlaku klesne bod varu vody na 40-70 °C. Na odparník je napojen chladicí okruh z kogenerační jednotky, který umožňuje využít chladicí

vodu z jednotky o teplotě přibližně 85 °C k ohřevu (Heviánková et al. 2014; Fechter & Kraume 2016). Dochází k odpaření vody a zahuštění fugátu. Odpařená voda následně ochlazením kondenzuje a je zadržována v kondenzační nádrži. Výsledným produktem je kondenzovaná pára (kondenzát), druhý produkt představuje zahuštěný fugát (Chiumenti et al. 2013). V důsledku vysokých koncentrací N-amon ve fugátu je produkována pára a následně i kondenzát bohatý na NH₃. Kvůli uzavřenému systému nedochází k emisím NH₃ do ovzduší (Fechter & Kraume 2016). Pro omezení stripování NH₃ z fugátu do kondenzátu je během odpařování vhodné snížit hodnotu pH fugátu na mírně kyselé (6 a méně) (Chiumenti et al. 2013). Okyselení změni poměr mezi NH₄⁺ a NH₃ směrem k NH₄⁺, čímž se omezi stripovatelnost (Bousek et al. 2016). Při hodnotě pH 5 zůstává v koncentrátu 97,5 % celkového dusíku (Chiumenti et al. 2013). Změnu hodnoty pH je možné provést pomocí minerálních kyselin. Značně se však zvýší náklady za přidávané chemikálie (Al Seadi et al. 2013). Alternativní metodou může být předúprava fugátu pomocí nitrifikace (viz 3.4.3), během které dochází přirozeně ke snížení hodnoty pH (Svehla et al. 2017). Zároveň je omezeno unikání NH₃ během odpařování (Botheju et al. 2010; Svehla et al. 2017). Pro získání vyčištěné vody je možné zařadit za odparku čistící kolonu. V koloně dochází k působení H₂SO₄, a tím k vytvoření sloučeniny (NH₄)₂SO₄. Vyčištěný plyn následně kondenzuje a je odváděn do skladovací nádrže (Fechter & Kraume 2016). Získaný kondenzát je možné používat pro zavlažování (Heviánková et al. 2014) nebo jako ředící vodu ve fermentačním reaktoru (Chiumenti et al. 2013). Tepelné zahušťování nabízí možnost produkce zahuštěného fugátu, který je bohatý na živiny. Zahuštěním dochází ke snižování objemu fugátu. Výrazné zmenšení celkového objemu fugátu má vliv na snížení nákladů a spotřebu fosilních paliv, které jsou nutné k jeho přepravě (Al Seadi et al. 2013; Heviánková et al. 2014; Vondra et al. 2016). Zahuštěný fugát má mnohem větší hnojivý potenciál než neupravený fugát z důvodu vyšší koncentrací živin (Chiumenti et al. 2013; Heviánková et al. 2014).

Výhody zahušťování použitím vakuového odpařování jsou především v možnosti snížení objemu fugátu, v nižších nákladech na přepravu a v lepším využívání procesní vody (Al Seadi et al. 2013). Nevýhodou se jeví vysoká potřeba tepelné energie (Vondra et al. 2016), kterou je ale možné ovlivnit správným výběrem odparníku (Vondra et al. 2018). V bioplynových stanicích se využije zhruba 20-40 % tepla, které vyprodukují kogenerační jednotky, zbylé teplo je odpadním produktem bez využití (Vondra et al. 2016). Využívání technologie odpařování fugátu může být cestou pro racionální využívání odpadního tepla a zvýšení produktivity bioplynové stanice s malými či žádnými dodatečnými finančními náklady (Al Seadi et al. 2013; Fechter & Kraume 2016; Vondra et al. 2016).

3.5 Skladování fermentačního zbytku a rizika ztrát dusíku

Jak bylo zmíněno výše, vlivem legislativy v oblasti ochrany životního prostředí a zemědělství jsou stanovena omezení, která udávají maximální množství vnášených živin a vymezují období aplikace hnojiv, včetně fermentačního zbytku. Aplikace musí probíhat v době vegetačního období, kdy jsou živiny nejlépe využívány plodinami. Vzhledem k tomu, že produkce fermentačního zbytku je kontinuální proces, je nutné zajistit skladovací prostory pro jeho následné uchování (Lukehurst et al. 2010; Al Seadi & Lukehurst 2012).

V České republice je období aplikace hnojiva s rychle uvolnitelným dusíkem vymezeno Nařízením vlády ČR č. 262/2012 Sb. o stanovení zranitelných oblastí a akčním programem, dle Směrnice Rady 91/676/EHS o dusičnanech (Rada Evropského společenství 1991). Období zákazu v dané lokalitě je určeno klimatickým regionem, který vychází z první číslice kódu bonitované půdně-ekologické jednotky. V České republice je vymezeno 10 klimatických regionů a zařazení do regionu je v závislosti na podmínkách v dané lokalitě. Pro oblasti 0 až 5 je použití omezeno od 15. 11. do 15. 2., u oblastí 6 až 9 omezení platí od 5. 11. do 28. 2. (Ministerstvo zemědělství České republiky 2012).

Délku skladovací doby a požadavky na konstrukci skladovacích prostor kromě právních předpisů ovlivňují i další faktory. Patří mezi ně vyprodukovaný objem fermentačního zbytku, geografická poloha, typ půdy a pěstované plodiny (Lukehurst et al. 2010; Al Seadi & Lukehurst 2012). Ke skladování fermentačního zbytku slouží obvykle nadzemní nebo podzemní nádrže, tanky či jímky, které musí splňovat takové podmínky, aby nedocházelo ke kontaminaci vody a půdy (Al Seadi & Lukehurst 2012; Al Seadi et al. 2013; Möller 2015). Všechny typy skladovacích prostor mají být zakryty, aby nedocházelo ke ztrátám živin a ředění dešťovou vodou. Pokud není možné použití zakrytých nádrží, je vhodné na hladinu aplikovat uměle vytvořenou plovoucí vrstvu, kterou mohou tvořit například hliněné granule, či nasekaná sláma (Al Seadi & Lukehurst 2012). K tomuto kroku se přistupuje především proto, že skladované fermentační zbytky přirozeně netvoří povrchovou krustu, která by napomáhala ke snižování emisí (Sommer 1997; Al Seadi & Lukehurst 2012).

Směrnice Rady 91/676/EHS o dusičnanech požaduje skladovací kapacitu, která je vyšší než objem vyprodukovaného fermentačního zbytku během nejdelšího období, kdy je zákaz aplikace na ohrožená území (Rada Evropského společenství 1991). V mírném klimatu je vhodné mít objemy skladovacích kapacit dostatečné k pojmutí vyprodukovaného fermentačního zbytku za dobu 4 až 9 měsíců, kdy není možná jeho aplikace (Al Seadi et al. 2013).

Skladování organických a organominerálních hnojiv se v České republice řídí Vyhláškou č. 377/2013, o skladování a způsobu používání hnojiv, ve znění pozdějších předpisů (Ministerstvo zemědělství České republiky 2013), která nařizuje, že surový fermentační zbytek i jeho kapalná frakce musí být skladovány v nepropustných nadzemních, či částečně zapuštěných nádržích nebo zemních jímkách. Především u jímek a nádrží je nutné zabránit přístupu dešťové a povrchové vody, pokud není v rozhodnutí o provozu určeno jinak. Pro skladování pevné frakce fermentačního zbytku platí stejná nařízení jako pro skladování hnoje. Stavby pro skladování musí být zabezpečené proti přítoku povrchových a srážkových vod, současně musí být vybaveny jímkou na sběr tekutého podílu.

Během skladování fermentačního zbytku dochází k významným emisím zápachu, NH_3 a skleníkových plynů (Lukehurst et al. 2010; Perazzolo et al. 2015; Perazzolo et al. 2016). Nejčastěji dochází ke ztrátám N a C, unikají ve formě CH_4 , NH_3 a oxidu dusného (N_2O) během skladování fermentačního zbytku. Dochází ke snižování koncentrací živin a energetické hodnoty hnojiva (Perazzolo et al. 2017). Proces anaerobní fermentace vede ke zvýšení koncentrace N-amon (Nkoa 2014; Svehla et al. 2020). V důsledku výskytu N v anorganické formě N-amon a vyššího pH, dochází k těkání NH_3 (Nkoa 2014; Möller 2015). Těkavost amoniaku je podpořena, pokud je skladování realizováno v otevřených nádržích (Lukehurst et al. 2010; Möller 2015; Svehla et al. 2020). Po separaci zůstává většina N-amon v kapalně frakci (Fuchs & Drogg 2013, Nkoa 2014), proto se vyšší ztráty dusíku očekávají právě při manipulaci s ní (Perazzolo et al. 2015). U kapalných frakcí tvoří ztráty N výhradně ve formě NH_3 až 99 % z celkové ztráty dusíku. Jelikož je ve skladovacích nádržích anaerobní prostředí, ztráty N_2O vlivem nitrifikace nebo denitrifikace jsou nevýznamné (Perazzolo et al. 2015). Ztráty N a C jsou během skladování ovlivněny i ročním obdobím a teplotním režimem. Čím nižší teploty, tím nižší ztráty a naopak. Během léta činily ztráty N v průměru 38 % u všech sledovaných variant a během zimy pak 2,2 až 12,6 % v závislosti na sledované variantě. Podobné výsledky byly zaznamenány u ztrát C, kdy v zimním období byly ztráty C způsobené odvětráváním CO_2 v průměru okolo 3,5 % u všech sledovaných variant. V průběhu letního období byly pozorovány ztráty v rozsahu 13 až 23 % v závislosti na sledované variantě (Perazzolo et al. 2017). Při zohlednění současného vlivu teploty a způsobu skladování na ztráty dusíku způsobené emisemi amoniaku byly nejvyšší ztráty pozorovány v koncentraci N-amon u vzorku, který byl skladován za mezofilních podmínek (30 ± 1 °C) po dobu 60 dní v otevřené nádobě. Ztráty činily téměř 90 %. U vzorku, který byl skladován za psychofilních podmínek (15 ± 1 °C) po dobu 60 dní v otevřené nádobě byly ztráty u N-amon nižší, přesto však dosahovaly zhruba 45 %. U vzorků, které byly během sledování po dobu 60 dní zakryty, byly ztráty N-amon mnohem nižší, konkrétně okolo 17 % obsahu při mezofilních podmínkách a okolo 25 % obsahu při psychofilních podmínkách (Li et al. 2018).

Během aplikace fermentačního zbytku na zemědělskou plochu hrozí rizika emisí zápachu a NH_3 . Množství se odvíjí od používané technologie, aplikační doby a dávky. K těmto účelům se využívají dostupná zařízení pro aplikaci hnoje a kejdy (Lukehurst et al. 2010; Al Seadi & Lukehurst 2012). Výběr vhodné technologie se odvíjí od obsahu sušiny. Fermentační zbytek s obsahem sušiny nad 18 % je možné aplikovat povrchovou technologií. Pokud je obsah sušiny nižší než 12 %, může být aplikován povrchově, případně vstříkovan přímo pod povrch půdy (Al Seadi et al. 2013). Největší rizika emisí NH_3 hrozí při rozstříkování na povrch půdy, nejmenší při vstříkování pod povrch půdy (Lukehurst et al. 2010). Po aplikaci fermentačního zbytku na povrch půdy jsou během prvních 24 hodin očekávány ztráty NH_3 od 10 % (chladné a mokré podmínky) do 50 % (teplé a suché podmínky) (Al Seadi et al. 2013). Vlivem ztrát dusíku ve formě NH_3 dochází ke snižování výživové hodnoty fermentačního zbytku. Depozice NH_3 do půdy a vody vede k eutrofizaci, čímž přispívá ke ztrátám biodiverzity v přírodě (Möller 2015). Bylo zaznamenáno, že ke zvýšeným ztrátám N dochází těkáním NH_3 a denitrifikací po aplikaci fermentačního zbytku na půdu. Z toho důvodu nedochází pouze ke zvýšení emisí NH_3 , ale také N_2O jako jednoho z meziproductů denitrifikace (Nkoa 2014).

Ochraně ovzduší v České republice se věnuje zákon č. 201/2012 Sb. Zákon o ochraně ovzduší, ve znění pozdějších předpisů (Parlament České republiky 2012). Vymezuje stacionární zdroje znečištění ovzduší, mezi které spadají i bioplynové stanice. Udává zdrojům emisní limity pro znečišťující látky, mezi které se řadí i skleníkové plyny – CO₂, CH₄ a N₂O.

Největším problémem spojeným se skladováním a agronomickým využíváním fermentačního zbytku je ztráta živin. Ke ztrátám dochází těkáním, případně denitrifikací, po aplikaci na půdní povrch (Al Seadi et al. 2013). K nejvýznamnějším ztrátám dusíku dochází při skladování kapalné frakce. Je třeba využívat vhodné metody postupů eliminující ztráty dusíku a emise skleníkových plynů na minimum (Botheju et al. 2010; Al Seadi et al. 2013; Perazzolo et al. 2015).

3.5.1 Denitrifikace jako příčina ztrát dusíku

Denitrifikace je proces postupné anoxické redukce dusičnanů (NO₃⁻) a dusitanů (NO₂⁻) (Zubair et al. 2020) na elementární N₂ nebo N₂O (Al Seadi et al. 2013; Zubair et al. 2020). Proces probíhá pomocí denitrifikačních organotrofních bakterií, mezi které se řadí například rod *Pseudomonas* (Magonigal & Neubauer 2019). Bakterie oxidují dostupný C_{org} a zároveň denitrifikují NO₃⁻ a NO₂⁻. Při dlouhodobém skladování surového fermentačního zbytku nebo fugátu v nádržích bez provzdušnění se vytváří anoxické podmínky, které jsou vhodné pro většinu denitrifikačních bakterií (Painter 1970).

Během skladování surového fugátu je riziko ztrát dusíku denitrifikací minimální, což je zapříčiněno tím, že surový fugát obsahuje N především ve formě NH₄⁺ a obsahy N ve formě NO₃⁻ a NO₂⁻ jsou téměř nulové (Botheju et al. 2010). Problém nastává při skladování nitrifikovaného fugátu, kde se dusík nachází především ve formě NO₃⁻ a jeho koncentrace jsou vyšší (viz 3.4.3). Ačkoliv fugát prošel anarobní fermentací, při které dochází k degradaci organické hmoty, nemůže být vyloučena přítomnost OL využitelných těmito bakteriemi a s tím spojená ztráta N vlivem denitrifikace (Svehla et al. 2020). Biologická rozložitelnost OL, které se ve skladovaném fugátu nachází, je velmi nízká. Přítomnost aerobních heterotrofních organismů, které by se mohly podílet na dalším odstranění biologicky rozložitelných OL, však není možné vyloučit (Svehla et al. 2017).

Ke ztrátám N v důsledku denitrifikace by mohlo docházet rovněž v případě skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu, kde by ztráty mohly být intenzivnější než v případě skladování nitrifikovaného fugátu. Důvodem může být vznik snadno rozložitelných OL využitelných pro proces denitrifikace. Po termické hydrolyze dochází k nárůstu koncentrace nižších mastných kyselin (NMK), které vznikají především rozkladem lipidů a proteinů. Tyto NMK jsou velmi dobře rozložitelné OL (Bjerg-Nielsen et al. 2018; Yang et al. 2019). Obsah NMK je po vystavení termické hydrolyze téměř o 45 % vyšší než u surového materiálu (Zhang et al. 2019). Na základě těchto dat se dá předpokládat, že by mohly být tyto látky obsaženy i v tepelně zahuštěném nitrifikovaném fugátu a následně využity denitrifikačními organismy.

K denitrifikaci fugátu dochází také při jeho aplikaci na zemědělskou půdu. Buď bezprostředně po aplikaci surového fugátu, kde obsažený N-amon následně projde procesem nitrifikace (viz 3.4.3), nebo po aplikaci již nitrifikovaného fugátu. Proces denitrifikace po aplikaci na zemědělskou půdu je ovlivněn půdními podmínkami, především

teplotou a vlhkostí. Intenzita denitrifikace se zvyšuje s rostoucí teplotou a při vysokém obsahu půdní vody. Vysoký obsah vody v pórech (70-100 %), upřednostňuje proces denitrifikace před nitrifikací (Griffin et al. 2002). Denitrifikací dochází k emisím N_2 , N_2O a snižování hnojivého efektu aplikovaného fermentačního zbytku. Transformace dusíku v půdě závisí na aktuální teplotě a vlhkosti půdy. Nejvýraznější rozdíly jsou pozorovány během podzimní aplikace ve srovnání s aplikací na jaře (Al Seadi et al. 2013).

4 Metodika

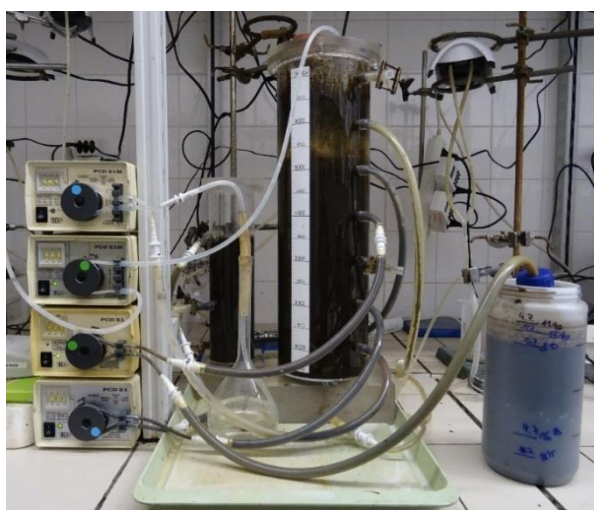
4.1 Materiál

4.1.1 Původ fugátu

Experimenty popsané v této diplomové práci byly provedeny s fugátem, který pocházel z bioplynové stanice (AGRO PODLESÍ a.s., Červené Janovice, Česká republika). Bioplynová stanice v Červených Janovicích funguje na principu technologie mokré fermentace v teplotních podmínkách na pomezí mezofilního a termofilního režimu. Zaměřuje se na zpracování biologicky rozložitelných zemědělských odpadů, konkrétně na chlévskou mrvu, kejdu skotu, kukuřičnou siláž a travní siláž. Slouží k výrobě energie s instalovaným výkonem 1200 kW a výrobě tepla, které je primárně využíváno pro udržení teploty reaktoru a v přilehlých budovách a provozech.

4.1.2 Nitrifikace fugátu

Nitrifikace surového fugátu byla provedena v laboratorním reaktoru pracujícím na principu směšovací aktivace, jehož pracovní objem činil 5 litrů. Byl provzdušňován hrubobublinnou areací s využitím akvaristického vzduchovacího motoru. Nitrifikační reaktor zobrazuje Obrázek 8. Fugát byl kontinuálně přiváděn do reaktoru pomocí peristaltického čerpadla ze zásobní nádoby. Reaktor byl inokulován nitrifikujícím aktivovaným kalem z městské ČOV. Následně došlo k dávkování fugátu a procesu nitrifikace (viz 3.4.3) v souladu s postupem dle Svehla et al. (2017). Reaktor byl provozován při laboratorní teplotě 25 ± 2 °C a koncentraci rozpuštěného kyslíku přesahující 3 mg/l. Nitrifikovaný fugát byl po odtoku z reaktoru skladován v uzavřených neprůhledných nádobách v chlazené místnosti.



Obrázek 8: Nitrifikační reaktor (Autor práce 2019)

Získaný nitrifikovaný fugát byl odstředěn a podroben analytickým metodám pro stanovení koncentrace N-amon, N-NO₂⁻, N-NO₃⁻ a CHSK (celkové a rozpuštěné). Dále byly stanoveny veškeré látky (VL), rozpuštěné látky (RL), nerozpuštěné látky (NL) a veškeré

organické látky (VL_{org}). Vzorky byly před vlastními analytickými rozbory ve vhodném poměru naředěny demineralizovanou vodou. Výsledné hodnoty znázorňuje Tabulka 4.

Tabulka 4: Parametry nitrifikovaného fugátu

Parametr (jednotky)	Hodnota
pH	7,6 ± 0,1
CHSK _{Celková} (mg/l)	65440 ± 4174,4
CHSK _{Rozpuštěná} (mg/l)	26705 ± 5306,2
N-amon (mg/l)	99,9 ± 19,5
N-NO ₂ ⁻ (mg/l)	9,1 ± 6,2
N-NO ₃ ⁻ (mg/l)	4361 ± 436,22
VL (g/l)	94,8 ± 4,2
RL (g/l)	59,6 ± 0,9
NL (g/l)	35,3 ± 3,4
VL _{org} (g/l)	53,5 ± 1,1

4.1.3 Tepelné zahuštění vakuovým odpařováním

Pro účely experimentu byl použit uskladněný nitrifikovaný fugát získaný z provozu laboratorního nitrifikačního reaktoru z období od 19. 3. 2018 do 27. 7. 2018. Proces vakuového odpařování nitrifikovaného fugátu byl proveden za použití rotační odparky BÜCHI R-215 (BÜCHI, Francie), kterou zobrazuje Obrázek 9. Prvním krokem bylo vyhřátí vodní lázně na 95 °C (BÜCHI topná lázeň B-491, Francie), čímž se podpořilo odpařování. V dalším kroku se do předem nahřáté baňky s kulatým dnem přidalo 500-750 ml nitrifikovaného fugátu spolu s 40-45 kapkami odpěňovače BURST EP 8100 (BASF, Německo). Baňka se připevnila na odparku. Následovalo částečné ponoření do připravené topné lázně pomocí nastavitelného ramena. Baňka rotovala rychlostí 30 ot/min při teplotě 65 ± 5 °C, která odpovídala bodu varu vody při dané úrovni vakua 370 ± 10 mbar. Teplotních a tlakových podmínek bylo docíleno za pomoci vakuové jednotky BÜCHI V-850 a vakuové pumpy BÜCHI V-700 (BÜCHI, Francie). Rotace slouží k rychlejšímu odpařování, ke kterému dochází z důvodu vytvoření tenké vrstvy fugátu na vnitřní straně horké baňky. Zároveň vlivem otáček dochází k rovnoměrnému promíchávání, čímž se zabrání poškození baňky nebo případné kontaminaci vzorku v důsledku rychlého odpaření. Vzniklé páry z fugátu odcházely vysokou rychlostí do kondenzátoru, ve kterém proudila jako chladicí médium voda z vodovodního řadu (cca 12 °C). Zde došlo k předání energie z páry na chladicí médium, čímž došlo ke kondenzaci. Kondenzát stékal gravitační silou do sběrné nádoby. Vakuová pumpa byla vypnuta a po vyrovnání tlaku byly obě baňky vyjmuty. Tento proces trval přibližně 90-120 minut na jeden vzorek v závislosti na vstupním objemu, během této doby bylo odpařeno zhruba 50 % objemu nitrifikovaného fugátu. Takto byl získán zahuštěný fugát a destilát, jejichž výsledné objemy byly měřeny pomocí odměrného válce, aby bylo možné stanovit potenciální objemové ztráty.

Hodnoty z jednotlivých opařovacích etap znázorňuje Tabulka 5. Z výsledků v této tabulce je patrné, že dosažení přesného objemu destilátu nebylo možné ve všech etapách.

Ztráty byly způsobené především vysokou hustotou výsledného fugátu, který zůstal na stěnách odpařovací baňky a nebylo možné ho kvantitativně převést do skladovací nádoby.



Obrázek 9: Rotační odparka BÜCHI R-215 (Autor práce 2019)

Tabulka 5: Objemy použitého nitrifikovaného fugátu před odpařením a objemy výsledných produktů

Datum odpařování	Parametr (jednotky)				
	Nitrifikovaný fugát (ml)	Zahuštěný fugát (ml)	Destilát (ml)	Zahuštěný + destilát (ml)	Ztráty (ml)
06.05.2019	500	242	250	492	8
06.05.2019	500	240	250	490	10
07.05.2019	500	236	246	482	18
07.05.2019	500	248	248	496	4
07.05.2019	600	286	292	578	22
07.05.2019	600	260	320	580	20
07.05.2019	600	270	305	575	25
09.05.2019	700	320	345	665	35
09.05.2019	700	280	352	632	68
09.05.2019	500	230	246	476	24
10.05.2019	600	285	292	577	23
10.05.2019	600	295	305	600	0
10.05.2019	600	285	298	583	17
10.05.2019	600	275	295	570	30
10.05.2019	600	290	298	588	12
10.05.2019	500	230	250	480	20
17.03.2019	700	345	350	695	5
17.03.2019	750	370	375	745	5
Celkem (ml)	10650	4987	5317	10304	346

Všechny vzorky destilátu byly smíchány. Stejný krok byl proveden pro zahuštěný nitrifikovaný fugát. Následovalo změření hodnoty pH. Smíšený vzorek zahuštěného nitrifikovaného fugátu byl poté odstředěn pomocí odstředivky Sigma 2-16P s rotorem 12139 (Sigma Laboratory Centrifuges, Německo) při 12 500 ot/min po dobu 10 minut. Vzorek byl před vlastními analytickými rozbory ve vhodném poměru naředěn demineralizovanou vodou a podroben analytickým metodám pro stanovení N-amon, N-NO₂⁻, N-NO₃⁻ a CHSK (celkové a rozpuštěné). Získané průměrné hodnoty ukazuje Tabulka 6.

Tabulka 6: Parametry získaného zahuštěného nitrifikovaného fugátu

Parametr (jednotky)	Hodnota
pH	8,5 ± 0,1
CHSK _{Celková} (mg/l)	159000 ± 4445,0
CHSK _{Rozpuštěná} (mg/l)	96500 ± 730,0
N-amon (mg/l)	134 ± 12,2
N-NO ₂ ⁻ (mg/l)	95,8 ± 2,4
N-NO ₃ ⁻ (mg/l)	7242 ± 470,0
VL (g/l)	202,0
RL (g/l)	158,3
NL (g/l)	43,7
VL _{org} (g/l)	117,5

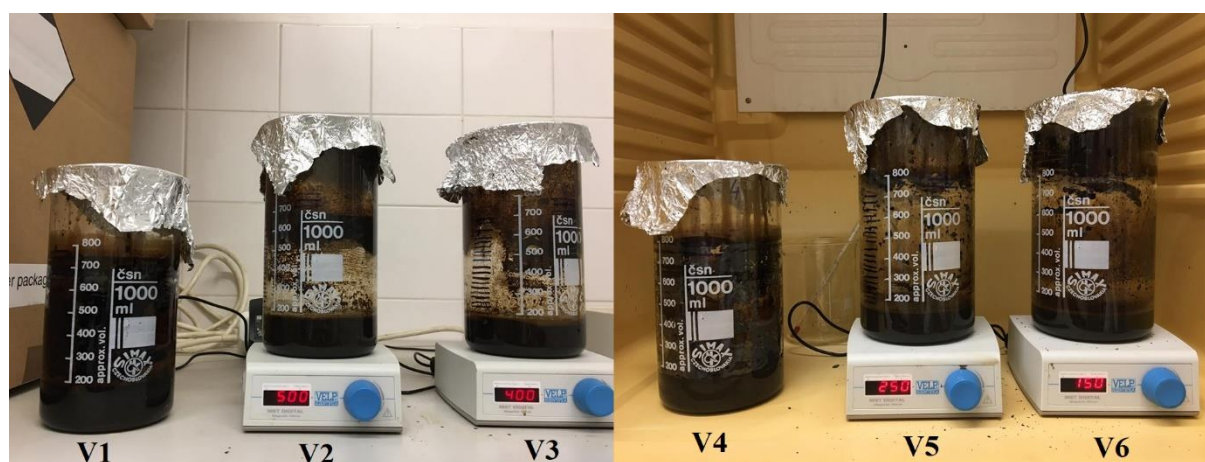
4.1.4 Test ztrát dusíku během skladování

Pokus byl založen pro stanovení průměrných ztrát dusíku způsobených denitrifikací během skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu. Na základě výsledků bylo možné porovnat průměrné ztráty se ztrátami sledovanými u dříve provedeného pokusu (skladování surového a nitrifikovaného fugátu bez tepelného zahuštění). Pro účely pokusu byl použit tepelně zahuštěný nitrifikovaný fugát (viz 4.1.3). Zahuštěný fugát bylo vzhledem k jeho konzistenci nutné před začátkem pokusu naředit přidáním demineralizované vody v poměru 1:1. K tomuto kroku bylo nutné přistoupit, aby bylo možné simulovat mírné větrné podmínky mícháním s využitím magnetického míchadla. Neředěný vzorek by nebylo možné promíchávat vzhledem k jeho hustotě a viskozitě. Ředěním bylo zajištěno přesnější odebrání vzorku a následné měření.

Pro účely pokusu bylo do šesti skleněných kádinek o objemu 1 000 ml odměřeno 735 ml důkladně promíchaného fugátu. Kádinky byly označeny V1-V6. Vzorky V3 a V6 byly ihned naočkovány 15 ml aktivovaného kalu z městské ČOV a důkladně promíchány, předpokladem byl rychlejší projev případných ztrát v důsledku zanesení heterotrofních denitrifikačních organismů do vzorku. Ke vzorkům V1, V2, V4 a V5 bylo doplněno 15 ml demineralizované vody, aby bylo kompenzováno naředění ostatních vzorků přísadkou inokula. Připravené vzorky o celkovém objemu 750 ml byly zakryty aluminiovou fólií s otvory a rozděleny do dvou skupin. Pro simulaci letních podmínek, byly vzorky V1-V3 skladovány při laboratorní teplotě 25 ± 2 °C. Vzorky V2 a V3 byly nepřetržitě míchány při 600 ot/min pomocí magnetického míchadla MST Digital (VELP Scientifica, Itálie), čímž byly simulovány větrné podmínky. Pro simulaci zimních podmínek byly vzorky V4-V6 skladovány při teplotě 10 ± 1 °C

v termostátované skříně (Lovibond, Německo). Vzorky V5 a V6 byly nepřetržitě míchány při 600 ot/min magnetickým míchadlem MST Digital (VELP Scientifica, Itálie). Intenzita míchání byla v průběhu pokusu regulována v závislosti na aktuálním objemu daného vzorku tak, aby bylo zachováno mírné promíchávání. Rozdělení vzorků zobrazuje Obrázek 10.

Každý vzorek byl analyzován v intervalu maximálně dvou týdnů. Hliníková folie byla snímána pouze pro měření pH, množství rozpuštěného kyslíku, teploty a odběru vzorku. Po každém odběru vzorku byl zbývající objem zaznamenán vodorovnou ryskou na kádinku. Před každým dalším odběrem vzorku byl rozdíl v objemu doplněn na vodorovnou rysku demineralizovanou vodou. Kompenzované ztráty byly způsobeny přirozeným odparem. K zajištění odběru homogenních vzorků pro analytická stanovení byly vzorky míchány po dobu 1 minuty. Po odběrech vzorků byly na všech kádinkách označeny objemy vodorovnou ryskou. Kádinky byly znovu zakryty hliníkovou folií a vráceny zpět na původní místa. Pro analytická měření byly jednotlivé vzorky odstředěny pomocí odstředivky Sigma 2-16P s rotorem 12139 (Sigma Laboratory Centrifuges, Německo) při 12 500 ot/min po dobu 10 minut. Po odstředění byly jednotlivé vzorky naředěny demineralizovanou vodou dle rozsahu měření jednotlivých analytických metod. Byly stanovovány koncentrace N-amon, N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, CHSK_{Celková} a N-tot. Výsledky analýz umožnily zhodnocení ztrát dusíku vlivem různých skladovacích podmínek.



Obrázek 10: Test ztráty dusíku během skladování. V1-V3 (vlevo), V4-V6 (vpravo) (Autor práce 2020)

4.2 Analytické metody

Použité analytické metody vycházely ze standardních norem dle Horáková et al. (2003) a byly prováděny v laboratořích Katedry agroenvironmentální chemie a výživy rostlin České zemědělské univerzity v Praze.

4.2.1 Měření rozpuštěného kyslíku, teploty a pH

Pro elektrochemické stanovení koncentrace rozpuštěného kyslíku a teploty byl použit kombinovaný oxymetr WTW Oxi340i s membránovou sondou CellOx 325 (WTW, Německo). Sonda udává hodnoty koncentrace pro rozpuštěný kyslík v mg/l a teplotu ve °C. Podobným způsobem probíhalo měření hodnoty pH pomocí pH metru WTW 340i s pH sondou SenTix 21 (WTW, Německo).

4.2.2 Stanovení anorganických forem dusíku

Pro stanovení ztrát dusíku v průběhu skladování nitrifikovaného zahuštěného fugátu byly analyzovány různé formy dusíku (N-amon, N-NO₂⁻, N-NO₃⁻ a N-tot). Před spektrofotometrickým stanovením byly vzorky odstředěny pomocí odstředivky Sigma 2-16P s rotorem 12139 (Sigma Laboratory Centrifuges, Německo) při 12 500 ot/min po dobu 10 minut. K měření spektrofotometrickou metodou byl použit spektrofotometr DR 3900 (Hach-Lange, Německo) a výsledné hodnoty byly udávány v mg/l.

4.2.2.1 Stanovení koncentrace N-amon

Ke stanovení koncentrace N-amon (součet koncentrace N-NH₃ a N-NH₄⁺) byla použita spektrofotometrická indofenolová metoda v souladu s postupy dle Horáková et al. (2003). Pomocí této metody je možné stanovit obě formy, NH₃ i NH₄⁺. Během metody dochází k reakci amoniaku a salicylanu. Látky vytváří v přítomnosti dichlorisokyanuratanu sodného a alkalického pH modro-zelené zbarvení. Zabarvené vzorky byly měřeny ve spektrofotometrické zkumavce při vlnové délce 655 nm.

4.2.2.2 Stanovení koncentrace NO₂⁻

Pro stanovení dusitanového dusíku (N-NO₂⁻) byla použita metoda, při které došlo ke vzniku růžově zbarveného azobarviva, čehož je docíleno přidáním N-(1-naftyl)ethylendiamin-dihydrochloridu (NED-dihydrochlorid) a amidu kyseliny sulfanylové. Výsledně zbarvený vzorek se měřil v spektrofotometrických kyvetách o objemu 25 ml při vlnové délce 540 nm (Horáková et al. 2003).

4.2.2.3 Stanovení koncentrace NO_3^-

Ke stanovení koncentrace dusičnanového dusíku (N-NO_3^-) byla použita metoda s použitím 2,6-dimethylfenolu. Metoda je založena na principu reakce dusičnanů s 2,6-dimethylfenolem v prostředí kyseliny fosforečné a kyseliny sírové. Dochází ke vzniku 4-nitro-2,6-dimethylfenolu. Výsledná koncentrace byla měřena ve spektrofotometrické zkumavce při vlnové délce 324 nm (Horáková et al. 2003).

4.2.2.4 Stanovení celkového dusíku

Stanovení celkového dusíku (N-tot) představuje součet koncentrací dusíku ve všech přítomných formách (tj. N-amon, N-NO_2^- , N-NO_3^- a dusíku v organických sloučeninách). Výsledná koncentrace je udávána v mg/l. Pro stanovení N-tot byl použit kyvetový test Test 'N Tube™ metoda 10071 (Hach-Lange, Německo), který je založen na principu mineralizace persíranem. Oxidace a mineralizace N-amon, dusitanů a dusíku v organických sloučeninách byla zajištěna v mineralizačním boxu Hach DRB 200 (Hach, USA) v prostředí alkalického persíranu po dobu 30 minut a teplotě 105 °C. Vzniklé dusičnany byly redukovány v kyselém prostředí na amoniak. Koncentrace N-tot byla spektrofotometricky stanovena při vlnové délce 410 nm oproti slepému vzorku, který byl připraven stejným způsobem.

4.2.3 Stanovení chemické spotřeby kyslíku

Stanovení chemické spotřeby kyslíku (CHSK) bylo založeno na principu oxidace C_{org} pomocí silného oxidačního činidla v kyselém prostředí. Došlo k rozkladu na CO_2 a H_2O . Metodou bylo možno stanovit množství organických látek ve vzorku, které byly oxidovatelné za přesně stanovených podmínek.

Během metody (CHSK_{Cr}) byl jako silné oxidační činidlo použit roztok dichromanu draselného se síranem rtuťnatým v kyselině sírové. Síran rtuťnatý zmírňuje rušivý vliv chloridů tak, že rtuť vyvazuje chloridové ionty. Poté byl přidán katalyzační roztok kyseliny sírové a síranu stříbrného. Vzorek byl následně mineralizován v mineralizačním boxu Hach DRB 200 (Hach, USA) po dobu 2 hodin a teplotě 150 ± 2 °C. Během mineralizace se dichroman draselný zredukoval na Cr^{3+} , jehož koncentrace odpovídala obsahu organických látek ve vzorku. Po vyjmutí z mineralizačního boxu a ochlazení na laboratorní teplotu byly jednotlivé vzorky měřeny ve spektrofotometrických zkumavkách při vlnové délce 600 nm. Hodnoty CHSK_{Cr} byly udávány v mg/l (Horáková et al. 2003).

4.2.4 Stanovení obsahu veškerých látek, rozpuštěných látek, nerozpuštěných látek a ztráta žiháním

Pro stanovení obsahu veškerých látek (VL) byla použita gravimetrická analýza v souladu s metodami dle Horáková et al. (2003). VL zahrnují celkové obsahy anorganických i organických rozpuštěných látek (RL) a nerozpuštěných látek (NL). Analýzy VL byly provedeny z neodstředěných homogenizovaných vzorků. Každý vzorek byl naředěn ve vhodném ředícím poměru. Z naředěného vzorku bylo odpipetováno 10 ml do předem zvážených misek z hliníkové folie. Vzorky byly odpařeny ve vodní lázni, která byla zahřívána pomocí ohřevné desky STUART CB 500 (STUART, Velká Británie). Odpařené vzorky byly následně umístěny na 2 hodiny při teplotě 105 °C do sušárny Ecocell 55 (BMT Medical Technology, Česká republika). Vysušené vzorky byly po vložení do exsikátoru znovu zváženy. Koncentrace VL (g/l) byla spočítána na základě rovnice (Rovnice 1):

$$\rho(VL) = \frac{(m_2 - m_1)}{V_{vz}} \times 1000 \quad (\text{Rovnice 1})$$

kde $(m_2 - m_1)$ udává rozdíl hmotnosti misky s vysušeným vzorkem (m_2) a prázdné misky (m_1), V_{vz} je objem odpipetovaného vzorku v ml a koeficient 1000 byl použit za účelem převodu ml na l.

Stanovení RL bylo provedeno ze vzorků, které byly nejprve odstředěny pomocí odstředivky Sigma 2-16P s rotorem 12139 (Sigma Laboratory Centrifuges, Německo) při 12 500 ot/min po dobu 10 minut. Další postup pro přípravu vzorku a výpočet byl obdobný jako při stanovení VL. Rovnice pro výpočet RL (Rovnice 2):

$$\rho(RL) = \frac{(m_2 - m_1)}{V_{vz}} \times 1000 \quad (\text{Rovnice 2})$$

Na základě výše vypočítaných hodnot bylo možné dopočítat koncentraci NL podle následující rovnice (Rovnice 3):

$$\rho(NL) = \rho(VL) - \rho(RL) \quad (\text{Rovnice 3})$$

Pro stanovení veškerých organických látek (VL_{org}) byla použita metoda ztrát žiháním v souladu s Horáková et al. (2003). Vysušený a zvážený vzorek byl vložen na jednu hodinu do muflové pece MF5 (ELSKLO s.r.o., Česká republika), která byla zahřívána na 550 °C. Během metody došlo k dokonalému tepelnému rozložení organických látek na CO_2 a H_2O . Po vyjmutí z pece byly misky vloženy do exsikátoru a po ochlazení zváženy. Na základě následující rovnice byla stanovena hodnota VL_{org} (Rovnice 4):

$$\rho(ZŽ) = \frac{(m_2 - m_3)}{V_{vz}} \times 1000 \quad (\text{Rovnice 4})$$

5 Výsledky

5.1 Skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu

Experiment, během kterého byly vzorky (V1-V6) skladovány za účelem kvantifikace ztrát dusíku, probíhal celkem 264 dní.

5.1.1 Teplota

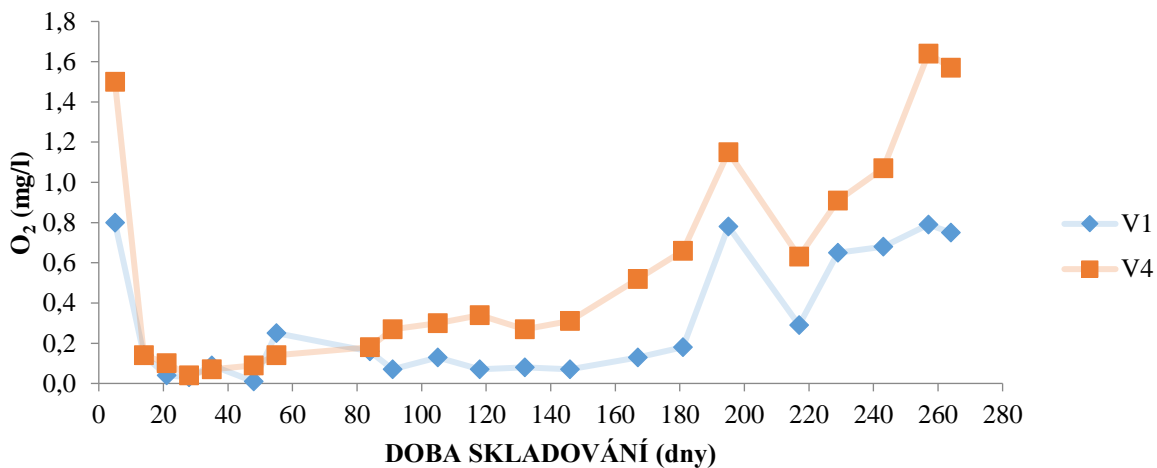
Průměrnou teplotu a směrodatnou odchylku u jednotlivých vzorků znázorňuje Tabulka 7.

Tabulka 7: Průměrné teploty skladovaných vzorků

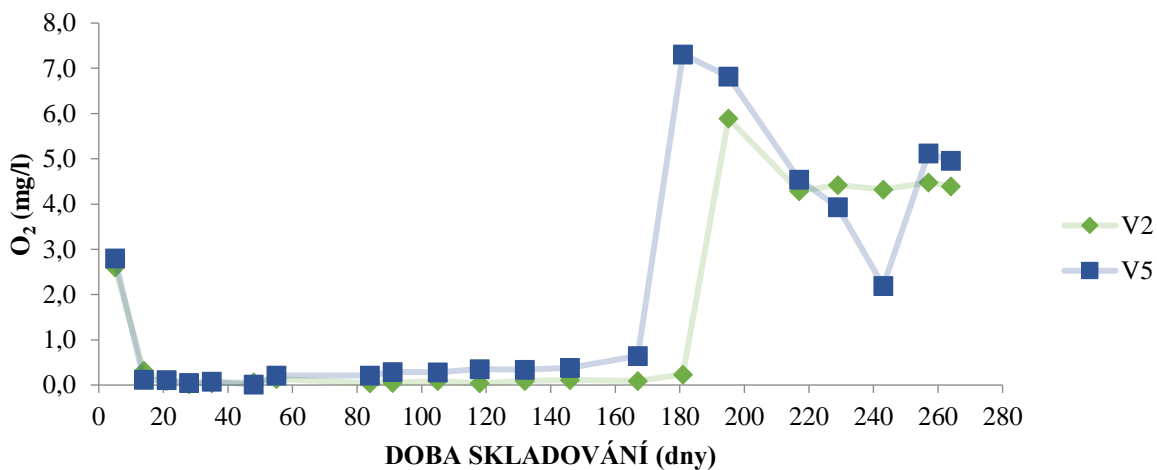
Vzorek	Hodnota
V1	25,4 ± 2,2 °C
V2	26,1 ± 2,3 °C
V3	26,0 ± 2,4 °C
V4	12,6 ± 1,7 °C
V5	13,2 ± 1,6 °C
V6	13,5 ± 1,4 °C

5.1.2 Koncentrace rozpuštěného kyslíku

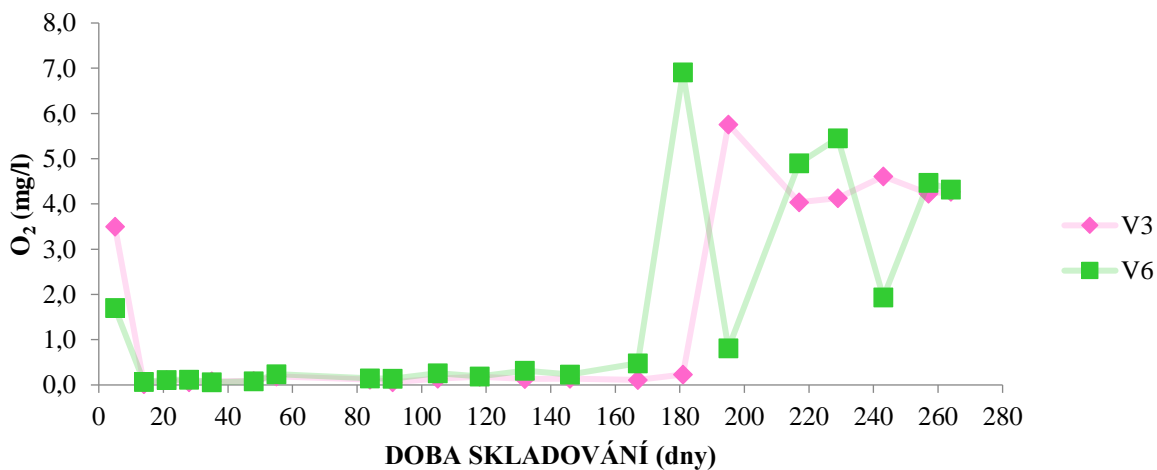
Koncentrace rozpuštěného kyslíku se od začátku pokusu pohybovaly na nízkých hodnotách, přibližně pod 0,5 mg/l u všech vzorků. Výjimku tvořil pouze den 5, kdy bylo v jednotlivých vzorcích stále ještě rozpuštěno vyšší množství kyslíku, které bylo nejspíše zapříčiněno ředěním a intenzivním promícháním použitého materiálu při zakládání pokusu. Zlom nastal okolo 181. dne měření, kdy koncentrace kyslíku začaly prudce stoupat, především u míchaných vzorků (V2, V3, V5 a V6). Zvýšená koncentrace byla zaznamenávána až do konce experimentu, kdy byla koncentrace rozpuštěného kyslíku pro V2 4,39 mg/l, pro V3 4,27 mg/l, pro V5 4,96 mg/l a pro V6 4,32 mg/l. Nižší nárůst koncentrace byl zaznamenán u nemíchaných vzorků: 0,75 mg/l pro V1 a 1,57 mg/l pro V4. Grafické porovnání výsledků analogických variant (s mícháním × bez míchání; s inokulací × bez inokulace) skladovaných při různých teplotách (laboratorní × uměle udržovaná v termostatované skříni) ukazuje Obrázek 11 pro vzorky V1 a V4, Obrázek 12 pro vzorky V2 a V5 a Obrázek 13 pro vzorky V3 a V6.



Obrázek 11: Porovnání koncentrací rozpuštěného kyslíku během skladování V1 a V4



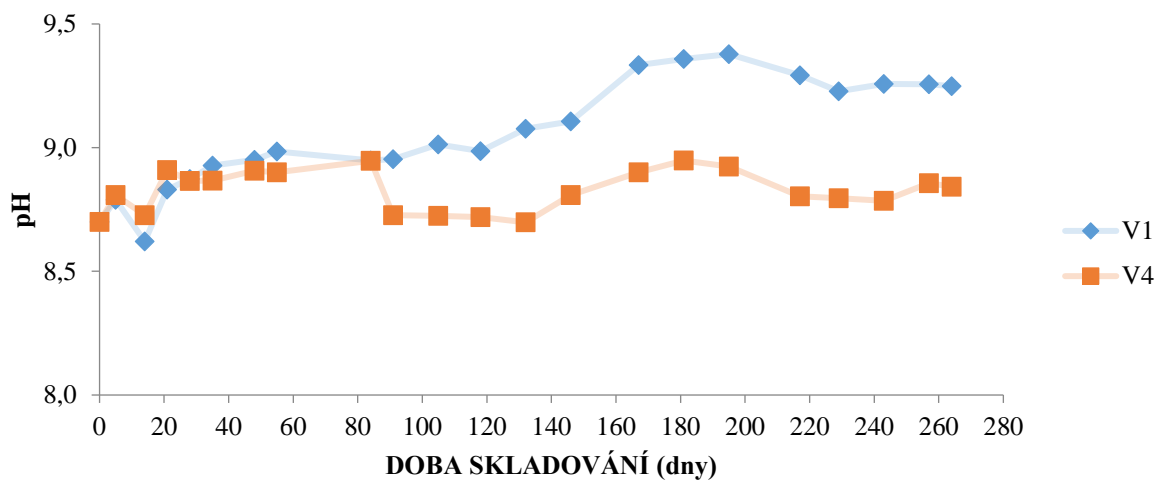
Obrázek 12: Porovnání koncentrací rozpuštěného kyslíku během skladování V2 a V5



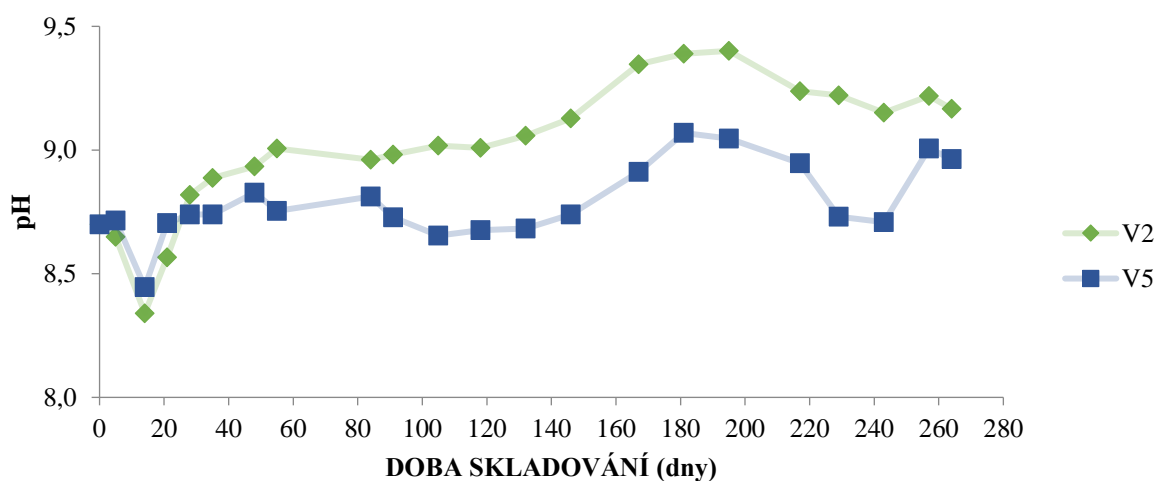
Obrázek 13: Porovnání koncentrací rozpuštěného kyslíku během skladování V3 a V6

5.1.3 pH

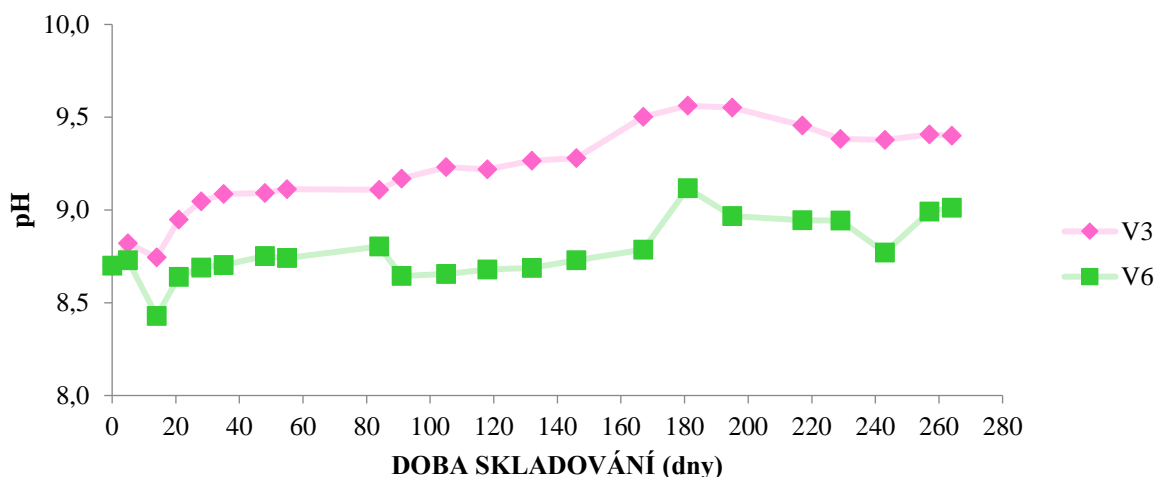
V průběhu experimentu došlo k pozvolnému nárůstu hodnoty pH u všech vzorků z 8,7 až na hodnoty okolo 9. Porovnáním analogických variant realizovaných při různých teplotách byl zjištěn velmi podobný trend. Vzájemné srovnání zobrazuje Obrázek 14 pro V1 a V4, Obrázek 15 pro V2 a V5 a Obrázek 16 pro V3 a V6.



Obrázek 14: Porovnání změn pH během skladování V1 a V4



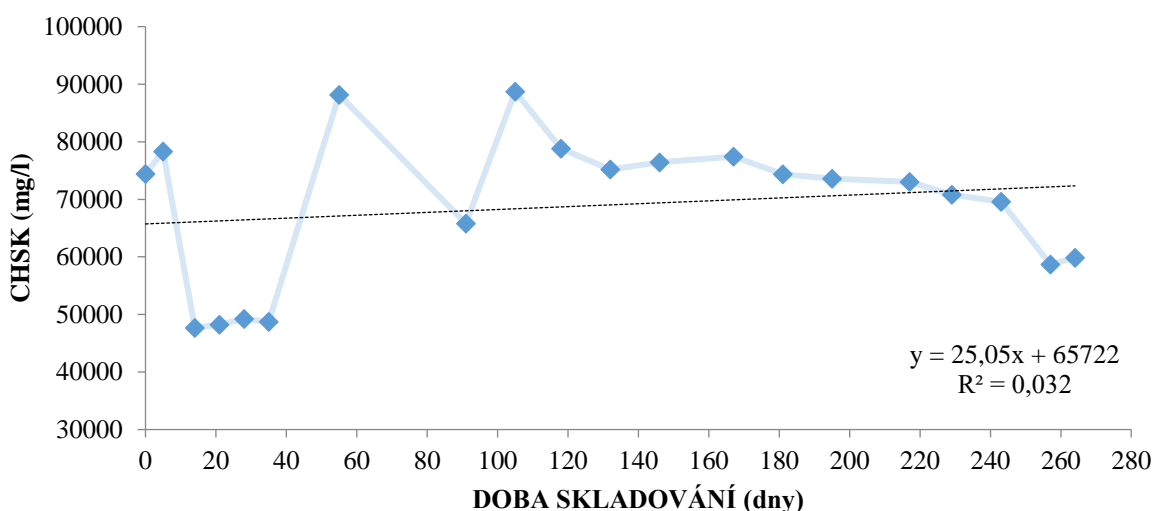
Obrázek 15: Porovnání změn pH během skladování V2 a V5



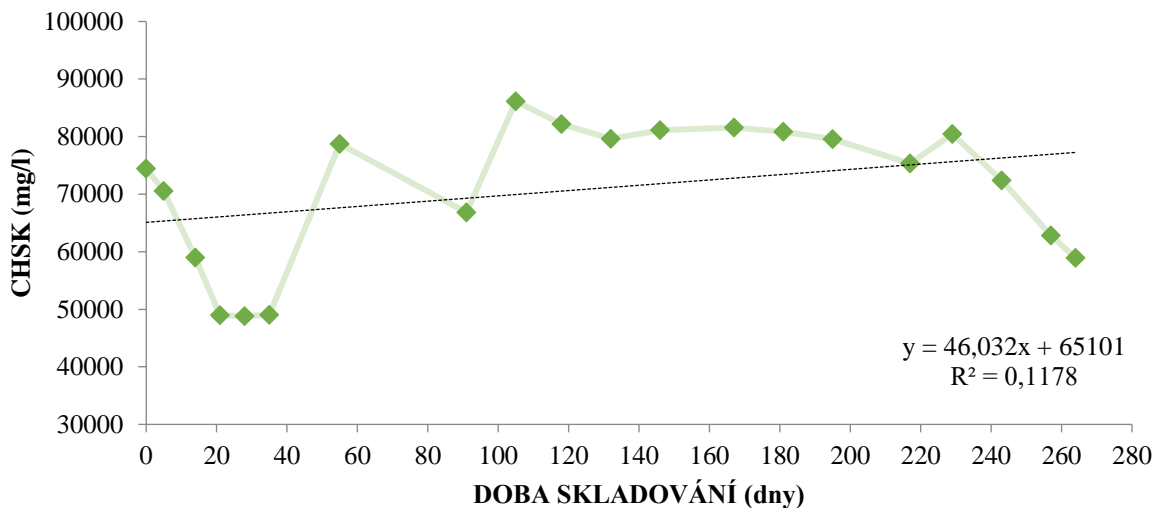
Obrázek 16: Porovnání změn pH během skladování V3 a V6

5.1.4 Chemická spotřeba kyslíku

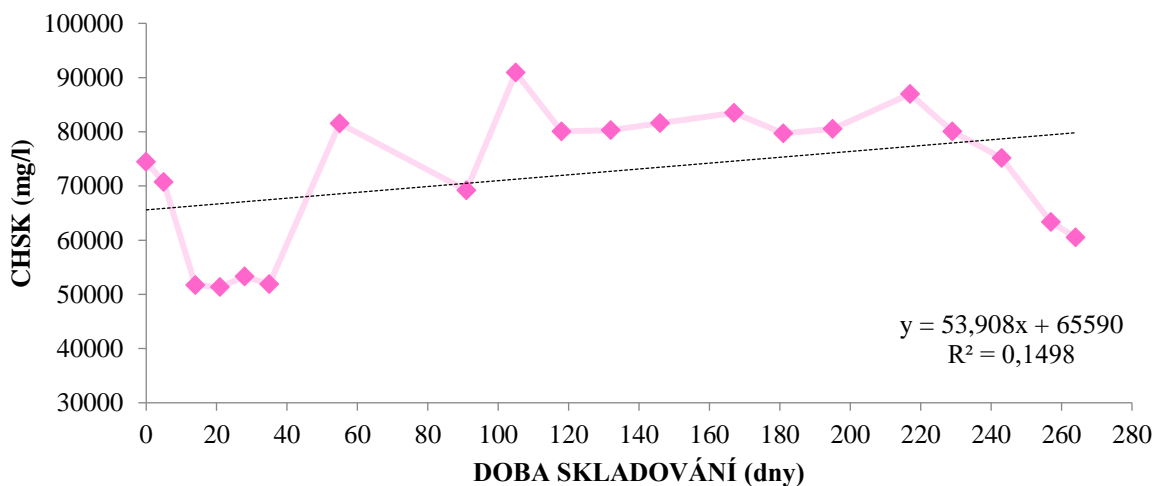
Výsledné hodnoty CHSK u všech vzorků během prvních měření poklesly až na hodnoty okolo 50 000 mg/l. Okolo 105. dne došlo k nárůstu hodnot CHSK až na koncentrace okolo 90 000 mg/l. V následujících dnech hodnoty pomalu klesaly u všech sledovaných vzorků. Nejnižší koncentrace (cca 59 000 mg/l) vykazovaly vzorky V1-V3. Vyšší koncentrace (okolo 69 000 mg/l) byla zaznamenána u vzorku V4 a V5. Nejvyšší koncentrace CHSK o hodnotě cca 79 000 mg/l byla naměřena u vzorku V6. Vývoj hodnot CHSK znázorňuje Obrázek 17 pro V1, Obrázek 18 pro V2, Obrázek 19 pro V3, Obrázek 20 pro V4, Obrázek 21 pro V5 a Obrázek 22 pro V6. Obrázky jsou doplněny o lineární regresi vztahu mezi dobou skladování a hodnotou CHSK.



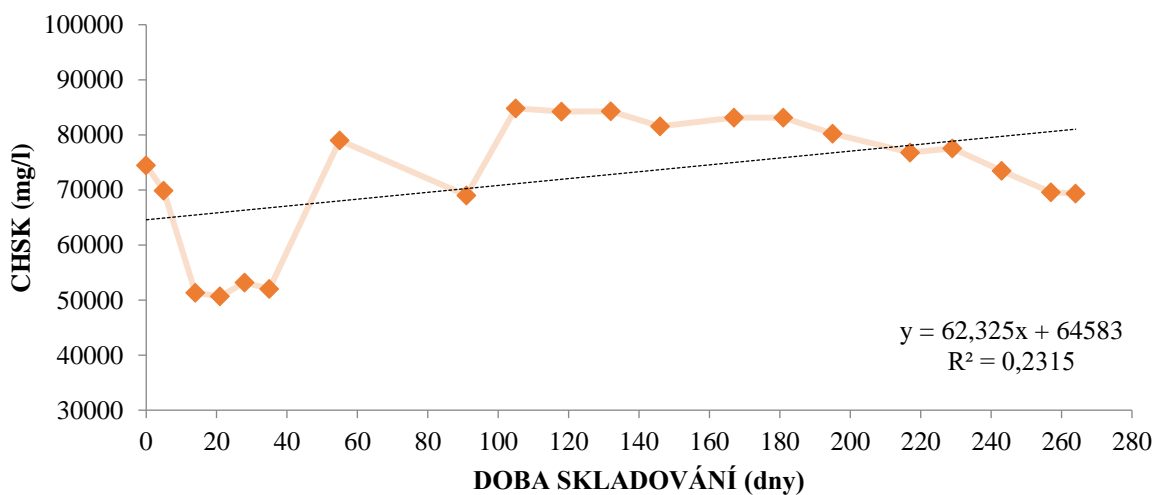
Obrázek 17: Vztah mezi hodnotou CHSK a dobou skladování u V1



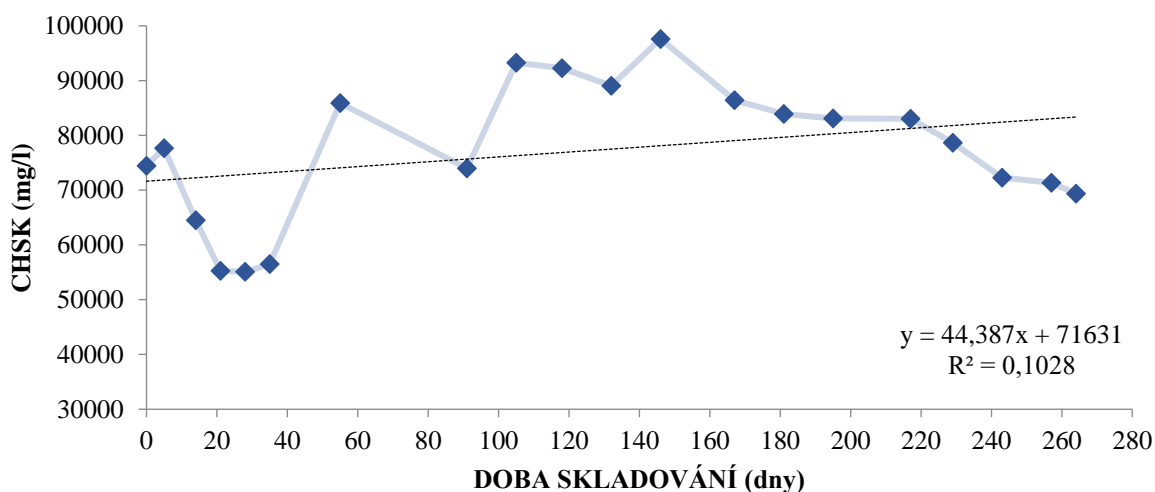
Obrázek 18: Vztah mezi hodnotou CHSK a dobou skladování u V2



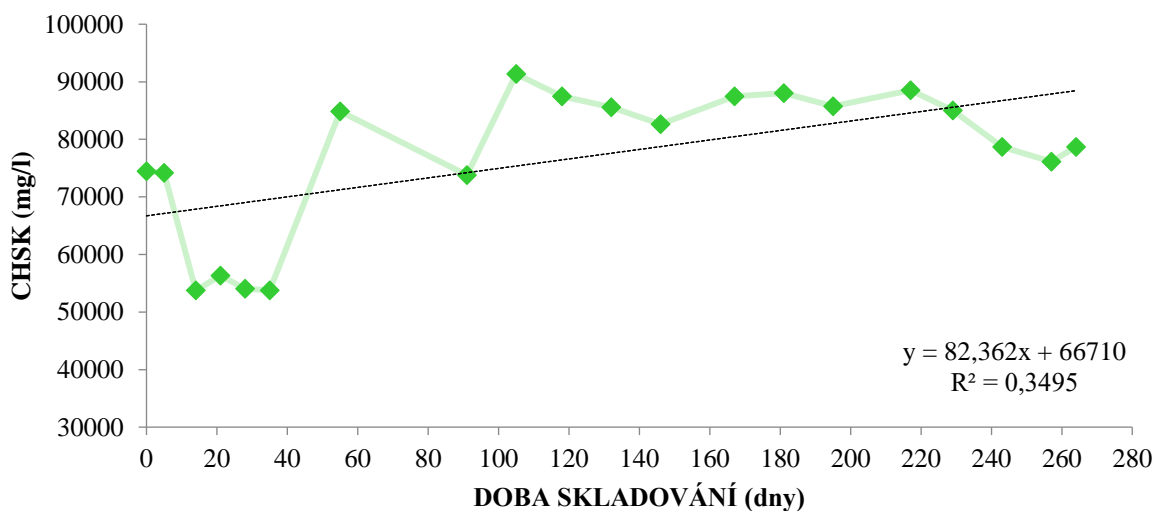
Obrázek 19: Vztah mezi hodnotou CHSK a dobou skladování u V3



Obrázek 20: Vztah mezi hodnotou CHSK a dobou skladování u V4



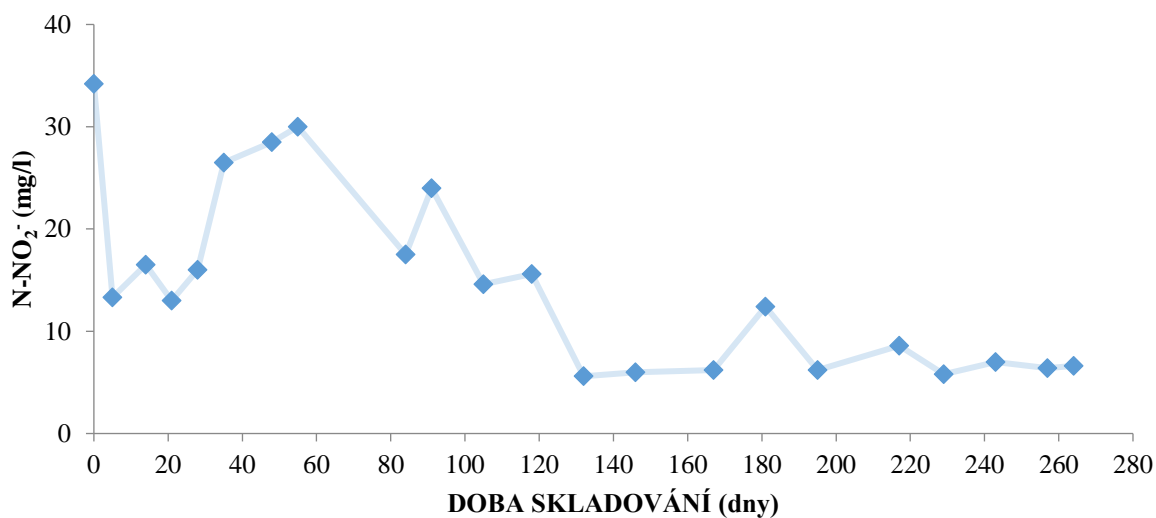
Obrázek 21: Vztah mezi hodnotou CHSK a dobou skladování u V5



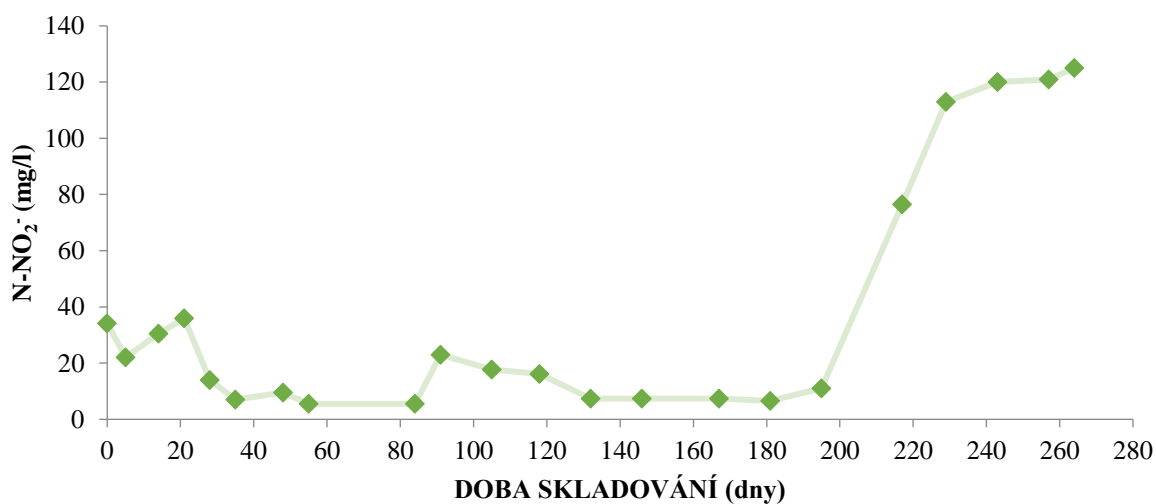
Obrázek 22: Vztah mezi hodnotou CHSK a dobou skladování u V6

5.1.5 Dusitany

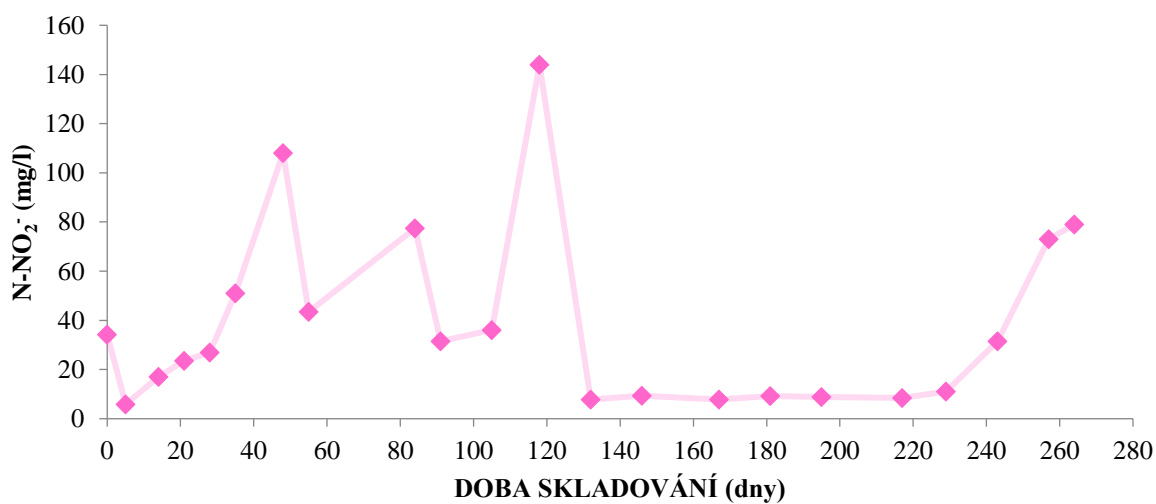
Koncentrace obsaženého N-NO_2^- (mg/l) byla sledována z důvodu monitoringu nitrifikace a denitrifikace. Koncentrace N-NO_2^- v průběhu experimentu kolísala. Zpočátku koncentrace poklesla u všech vzorků. Počáteční hodnoty se pohybovaly ve velmi nízkých koncentracích, přibližně okolo 15 mg/l. Výjimku tvořil vzorek V1, kdy koncentrace na počátku měření byla nejvyšší. Nejvýraznější nárůst byl zaznamenán u vzorku V2 po 195. dni měření. Koncentrace N-NO_2^- vzrůstala až do posledního dne měření, kdy dosáhla 125 mg/l. Podobný trend se objevil ke konci experimentu i u V3, kde koncentrace vzrostla na 79 mg/l. Náznaky nárůstu se začaly objevovat později v dalších vzorcích (V4, V5 a V6). Vývoj koncentrace N-NO_2^- zobrazuje Obrázek 23 pro V1, Obrázek 24 pro V2, Obrázek 25 pro V3, Obrázek 26 pro V4, Obrázek 27 pro V5 a Obrázek 28 pro V6.



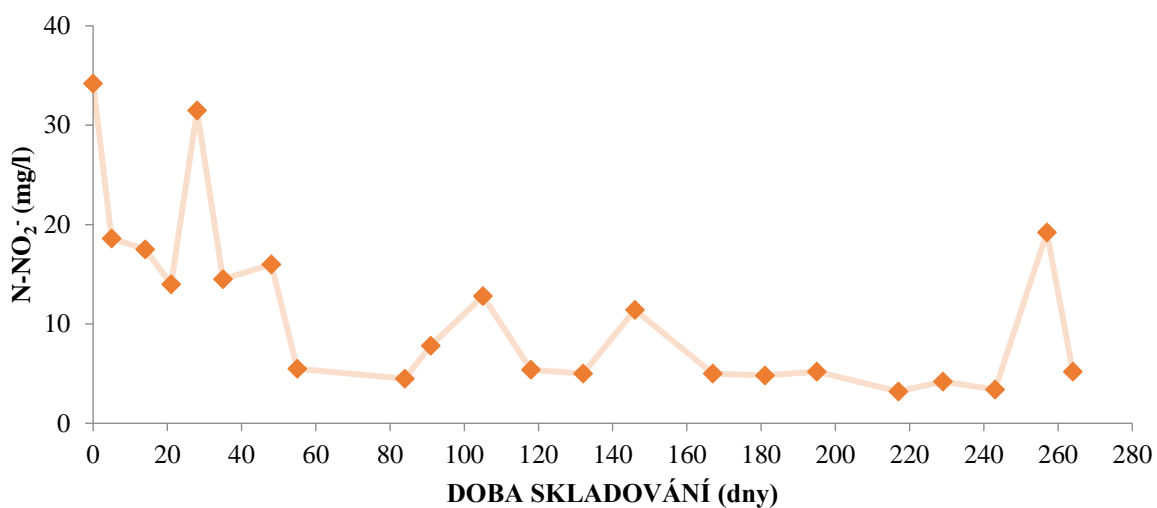
Obrázek 23: Vztah mezi koncentrací N-NO₂⁻ a dobou skladování u V1



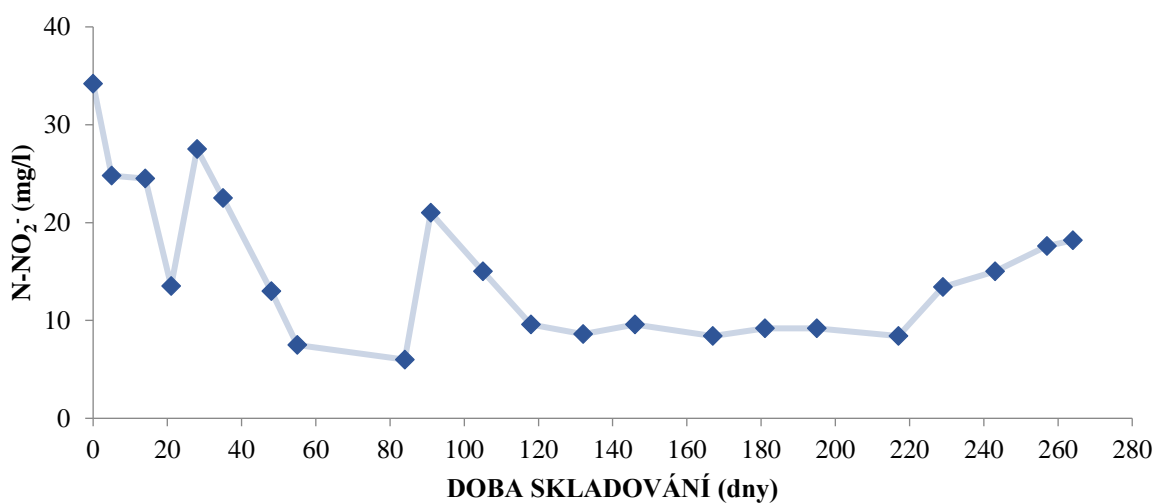
Obrázek 24: Vztah mezi koncentrací N-NO₂⁻ a dobou skladování u V2



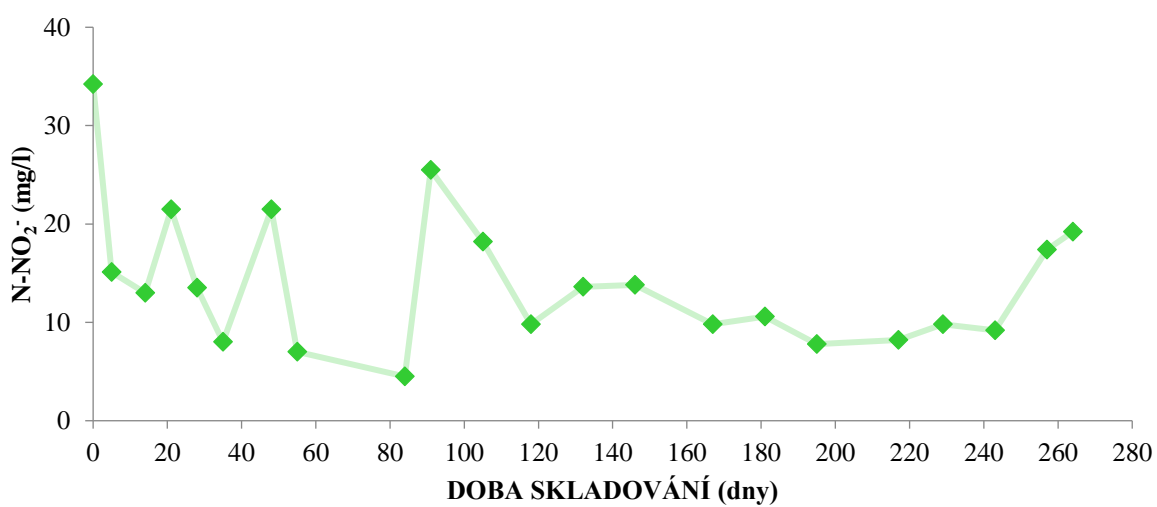
Obrázek 25: Vztah mezi koncentrací N-NO₂⁻ a dobou skladování u V3



Obrázek 26: Vztah mezi koncentrací N-NO₂⁻ a dobou skladování u V4



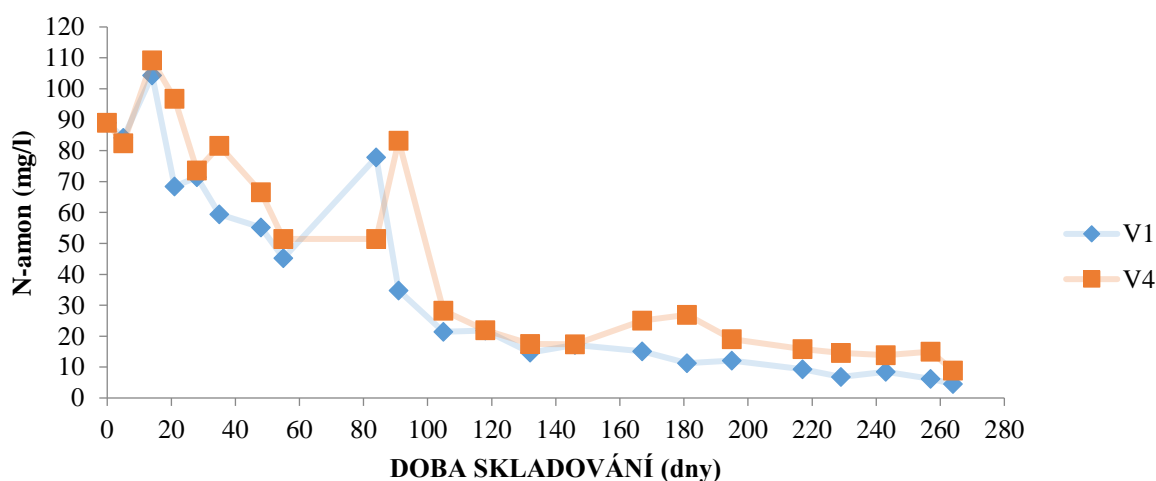
Obrázek 27: Vztah mezi koncentrací N-NO₂⁻ a dobou skladování u V5



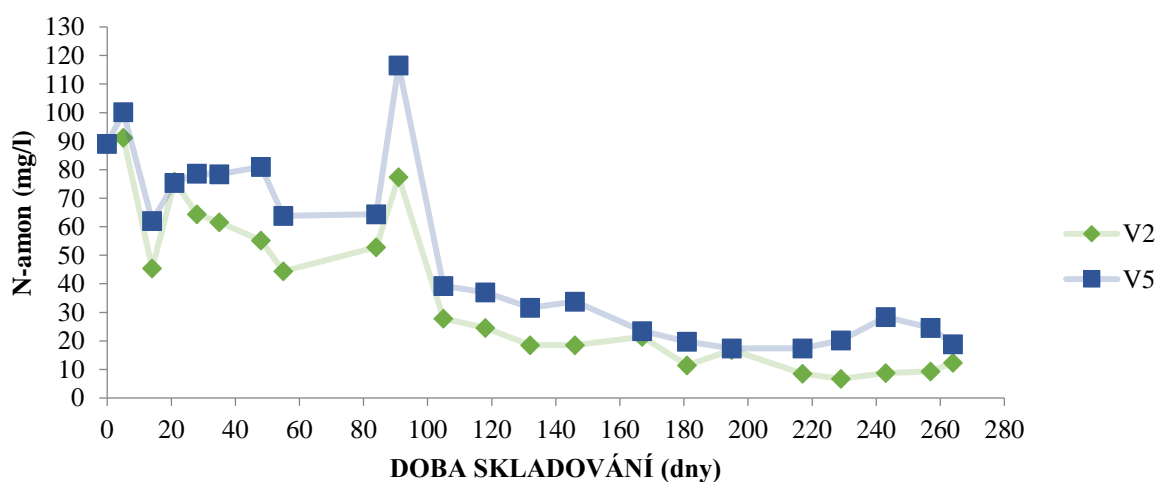
Obrázek 28: Vztah mezi koncentrací N-NO₂⁻ a dobou skladování u V6

5.1.6 N-amon

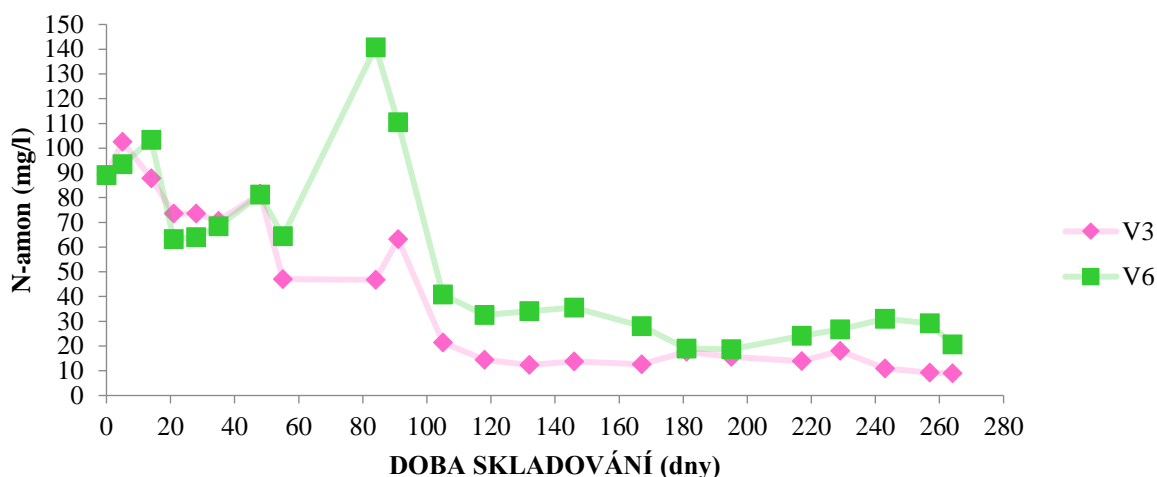
Počáteční koncentrace N-amon byla ve všech vzorcích nízká, pohybovala se okolo 90 mg/l. Jednotlivé vzorky byly skladovány za odlišných podmínek (teplota, inokulace, míchání), navzdory tomu byl u všech vzorků zaznamenán stejný trend poklesu koncentrace N-amon. Tendenci ukazuje Obrázek 29, který srovnává vzorek V1 a V4, kde došlo k poklesu až na hodnoty 4,5 mg/l, tj. pokles o 95 % (V1) a 8,9 mg/l, tj. pokles o 90 % (V4). Koncentrace N-amon se snížila i v případě V2 a V5 (Obrázek 30), na 12,3 mg/l (V2) a 18,9 mg/l (V5), což znamená pokles zhruba 86 % a 79 %. Podobný výsledek byl zaznamenán u srovnání V3 a V6 (Obrázek 31), kde byla konečná koncentrace 9,0 mg/l (V3) a 20,7 mg/l (V6). Pokles koncentrace byl přibližně 90 % a 77 %. Z výsledků je patrné, že k poklesu více než 50 % původní koncentrace došlo během prvních 100 dní skladování. Zároveň je možné pozorovat pokles koncentrace N-amon u analogických variant skladovaných při laboratorní teplotě a v termostátované skříni. Vliv nepřetržitého míchání jednotlivých vzorků na ztráty N-amon není z výsledků jednoznačný.



Obrázek 29: Porovnání poklesu koncentrace N-amon během skladování V1 a V4



Obrázek 30: Porovnání poklesu koncentrace N-amon během skladování V2 a V5



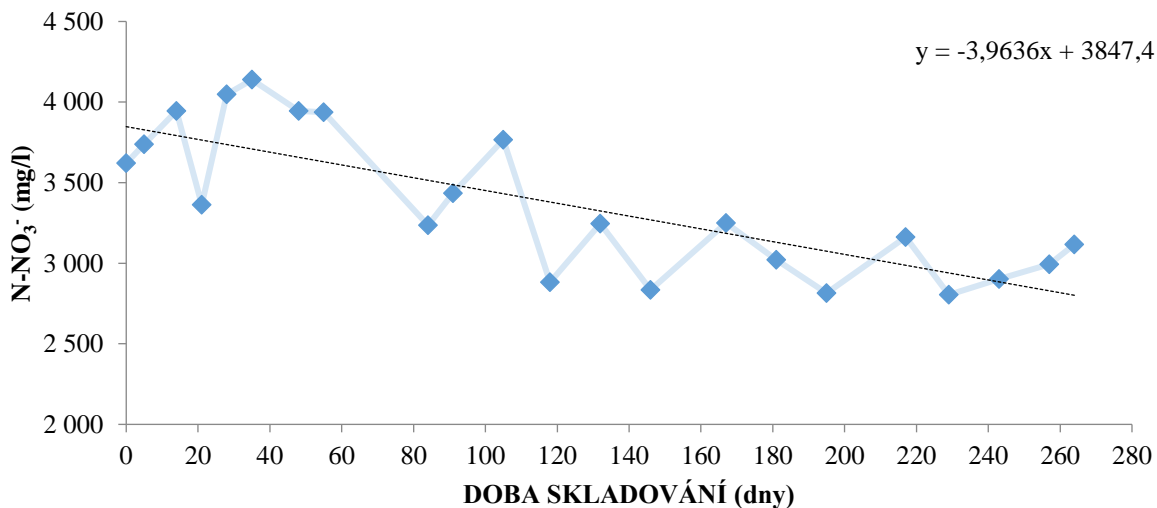
Obrázek 31: Porovnání poklesu koncentrace N-amon během skladování V3 a V6

5.1.7 Dusičnany

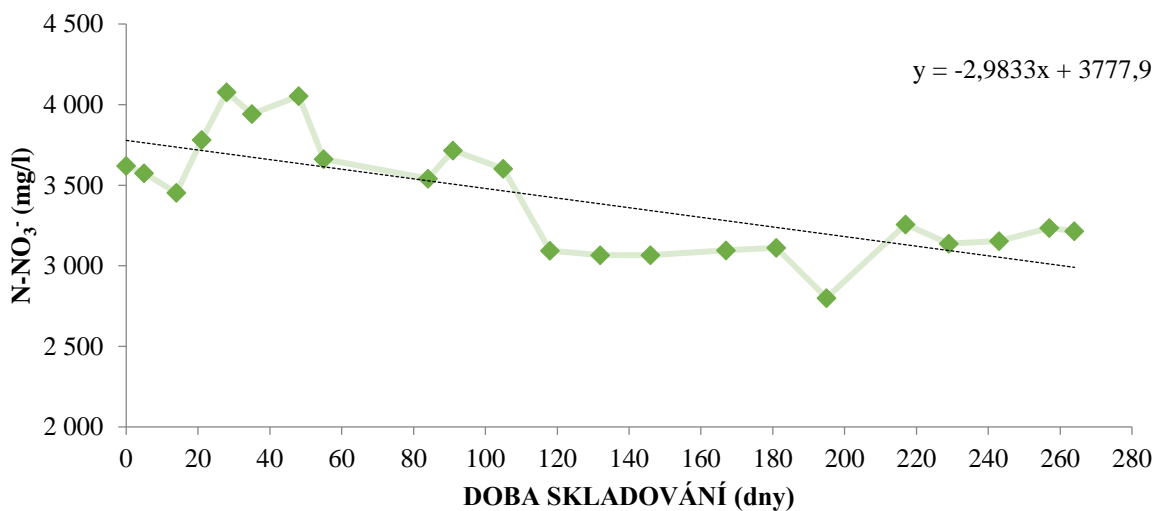
Na počátku experimentu se koncentrace $N-NO_3^-$ pohybovala okolo 3 600 mg/l. V průběhu skladování došlo u všech vzorků k jejímu snížení. Průběh poklesu zobrazuje Obrázek 32 pro V1, Obrázek 33 pro V2, Obrázek 34 pro V3, Obrázek 35 pro V4, Obrázek 36 pro V5 a Obrázek 37 pro V6. Na základě získaných výsledků byly vypočítány procentuální ztráty $N-NO_3^-$ v průběhu testu, které zobrazuje Tabulka 8. Pro výpočet parametru ztráty dle počáteční a koncové hodnoty byly použity počáteční a koncové hodnoty koncentrace $N-NO_3^-$, dle kterých byla následně vypočtena procentuální ztráta koncentrace $N-NO_3^-$. K výpočtu parametru ztráty dle rovnice přímky byly použity rovnice přímky získané z lineární regresní analýzy. Rovnice jsou uvedeny u každého z výsledných obrázků.

Tabulka 8: Porovnání vypočítaných ztrát $N-NO_3^-$ na základě dvou parametrů

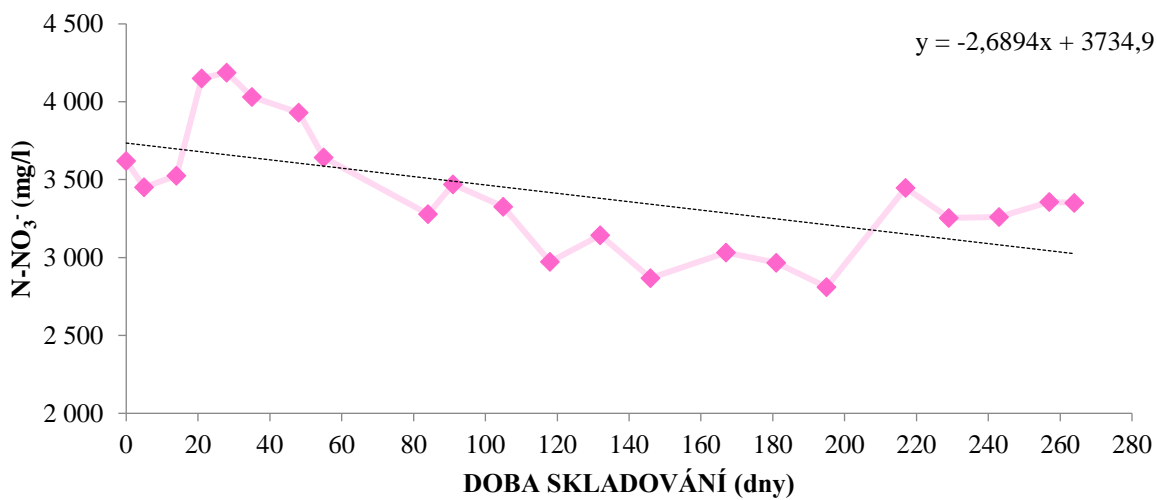
Vzorek	Parametr	
	Ztráty dle počáteční a koncové hodnoty	Ztráty dle rovnice přímky
V1	13,90 %	27,20 %
V2	11,20 %	20,85 %
V3	7,46 %	19,01 %
V4	7,90 %	11,25 %
V5	4,03 %	3,98 %
V6	2,17 %	9,65 %



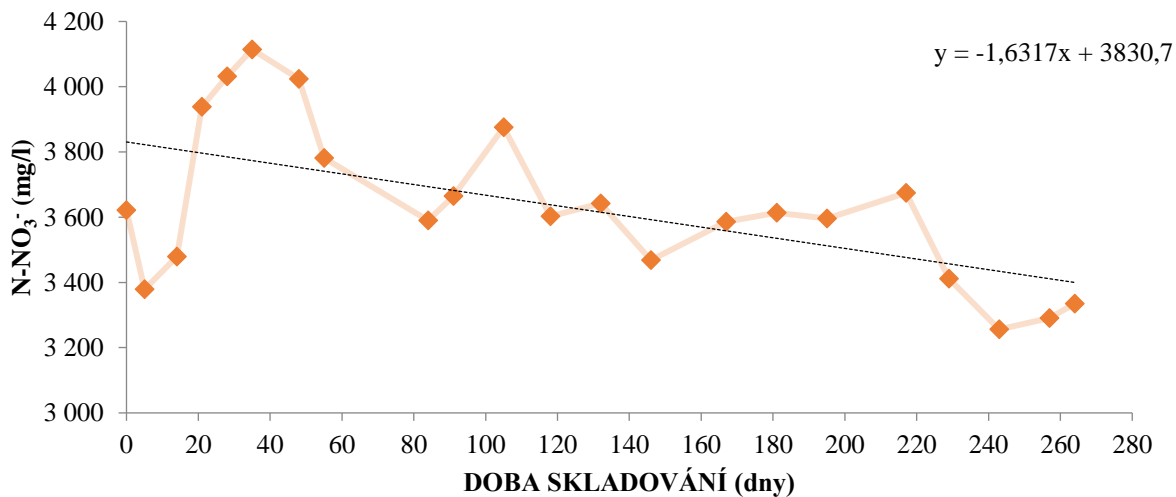
Obrázek 32: Vztah mezi koncentrací N-NO₃⁻ a délkou skladování u V1



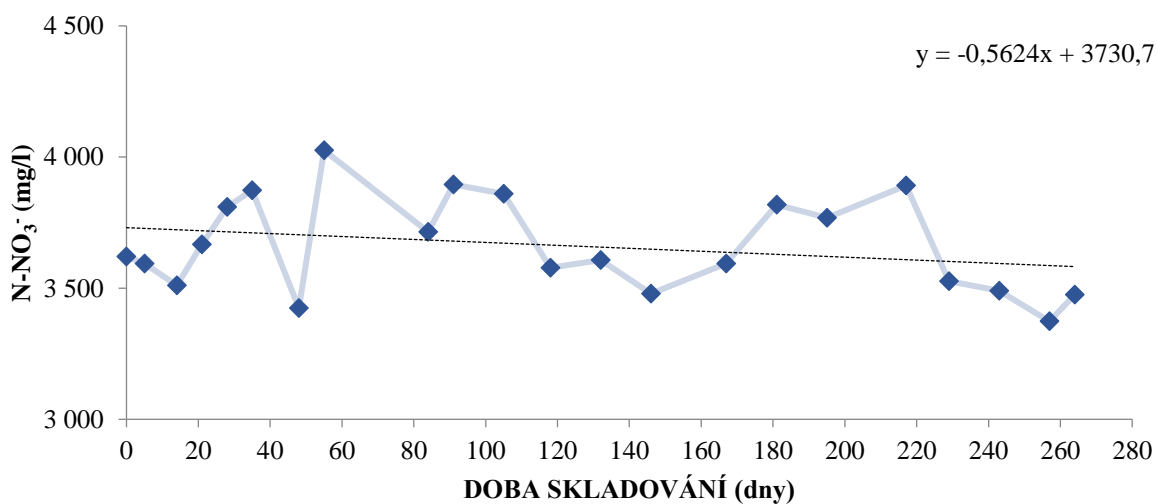
Obrázek 33: Vztah mezi koncentrací N-NO₃⁻ a délkou skladování u V2



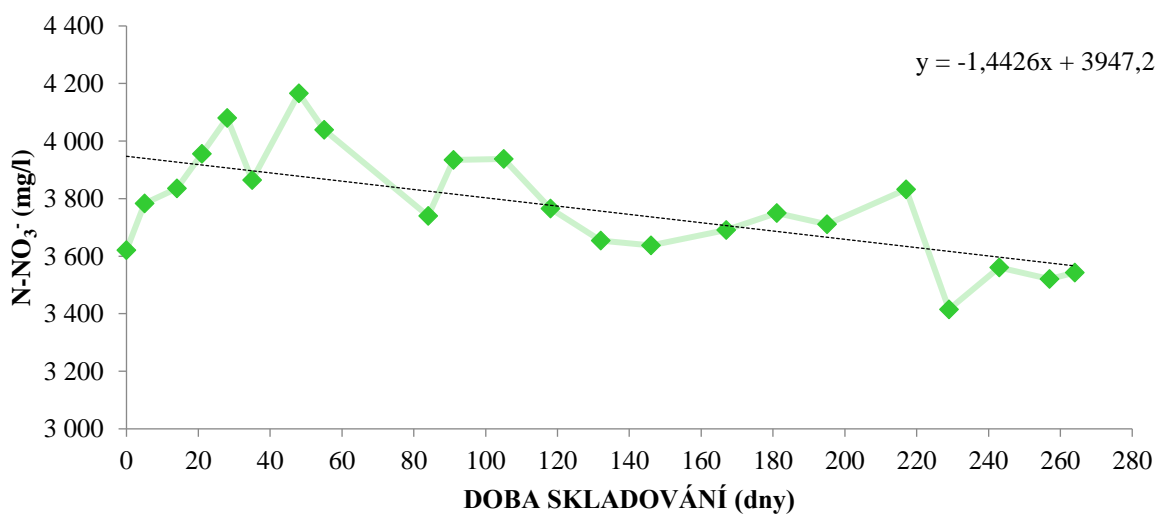
Obrázek 34: Vztah mezi koncentrací N-NO₃⁻ a délkou skladování u V3



Obrázek 35: Vztah mezi koncentrací $N-NO_3^-$ a délkou skladování u V4



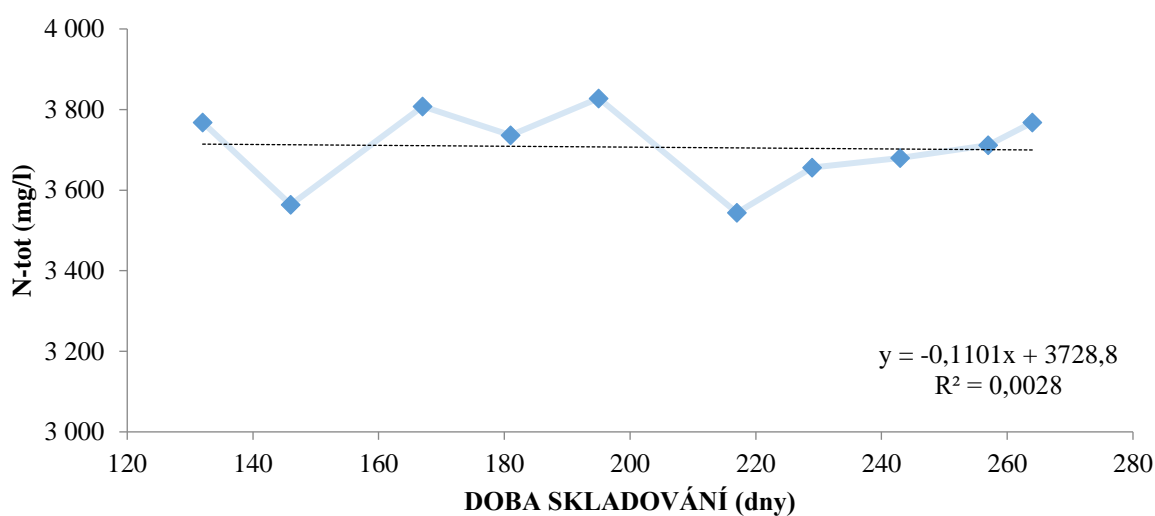
Obrázek 36: Vztah mezi koncentrací $N-NO_3^-$ a délkou skladování u V5



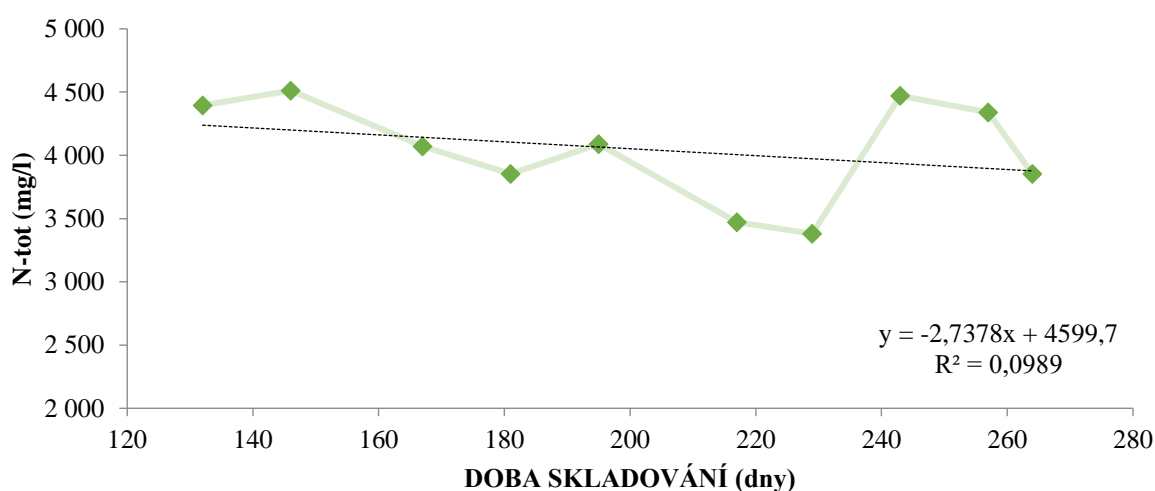
Obrázek 37: Vztah mezi koncentrací $N-NO_3^-$ a délkou skladování u V6

5.1.8 Celkový dusík

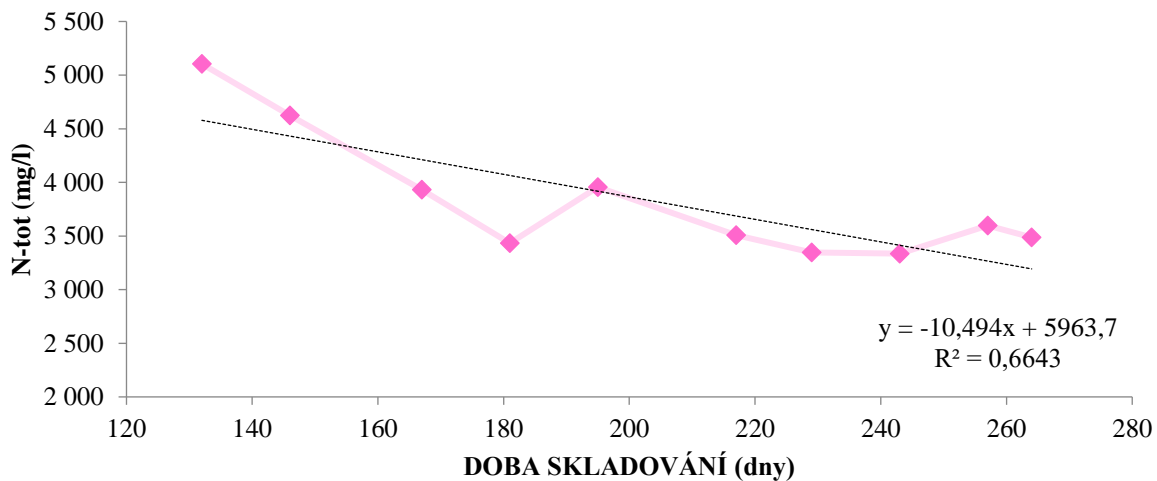
Koncentrace veškerých forem dusíku (anorganických i organických) byla měřena od 132. dne až do konce experimentu. Klesající trend koncentrace byl zaznamenán u všech vzorků, jak zobrazuje Obrázek 38 pro V1, Obrázek 39 pro V2, Obrázek 40 pro V3, Obrázek 41 pro V4, Obrázek 42 pro V5 a Obrázek 43 pro V6. U vzorků V3-V6 byl pozorován významnější pokles než u vzorků V1 a V2. Procentuální rozdíl byl vypočítán na základě počáteční a koncové hodnoty. Ztráta koncentrace N-tot od 132. do 264. dne testu činila zhruba 31,7 % (V3), 29,4 % (V4), 18,8 % (V5) a 25,7 % (V6). U vzorku V2 byl pozorován méně výrazný pokles koncentrace, přibližně o 12,4 %. U vzorku V1 byla koncentrace N-tot konstantní. Průměrná hodnota se pohybovala okolo $3706,4 \pm 76,3$ mg/l. U vzorku V1 nebyl zaznamenán významnější pokles koncentrace.



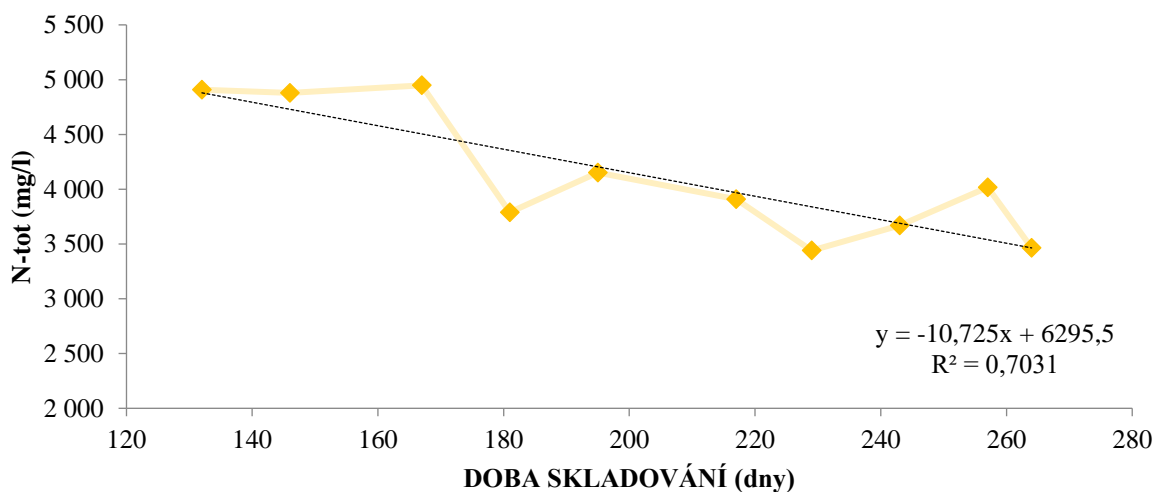
Obrázek 38: Vztah mezi koncentrací N-tot a délkou skladování u V1



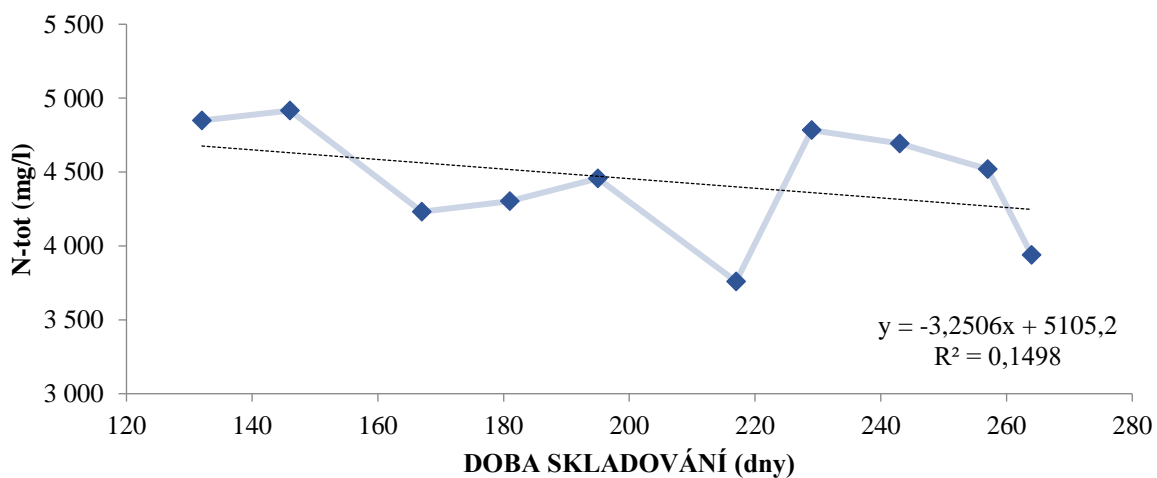
Obrázek 39: Vztah mezi koncentrací N-tot a délkou skladování u V2



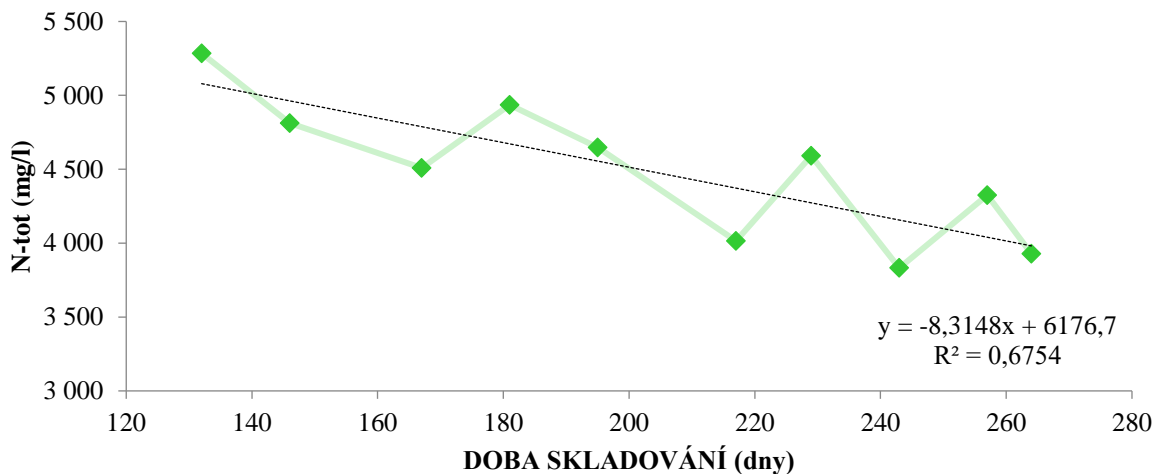
Obrázek 40: Vztah mezi koncentrací N-tot a délkou skladování u V3



Obrázek 41: Vztah mezi koncentrací N-tot a délkou skladování u V4



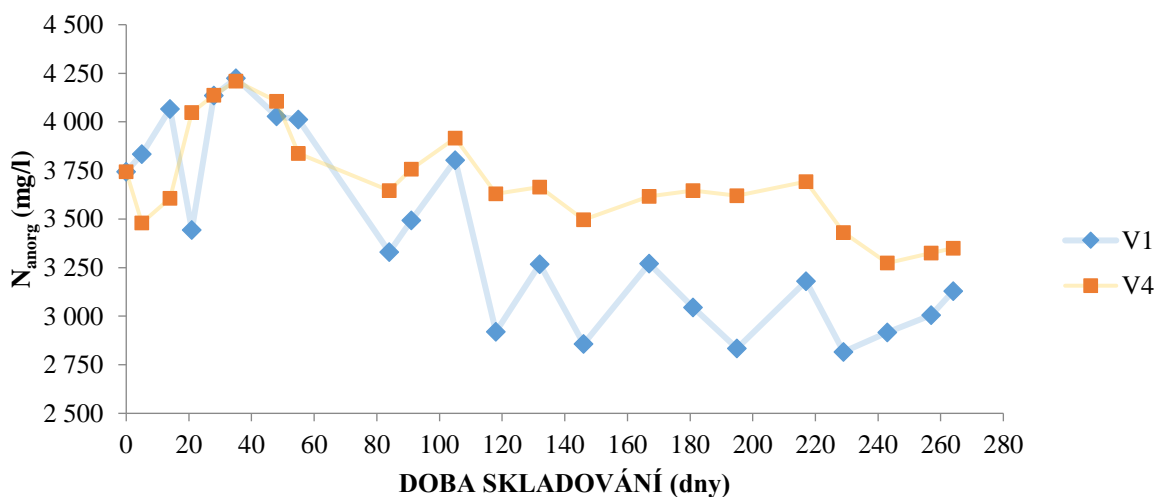
Obrázek 42: Vztah mezi koncentrací N-tot a délkou skladování u V5



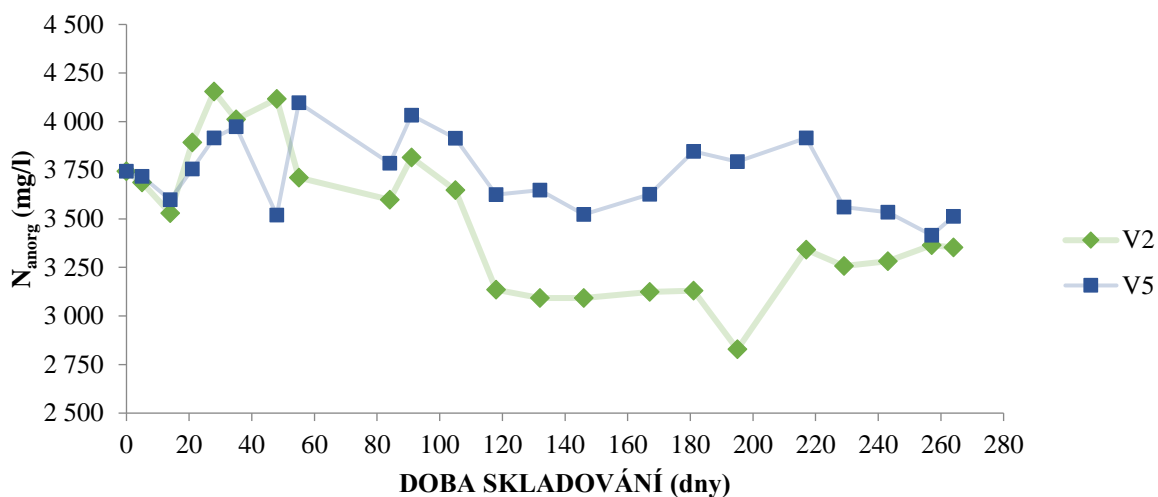
Obrázek 43: Vztah mezi koncentrací N-tot a délkou skladování u V6

5.1.9 Anorganický dusík

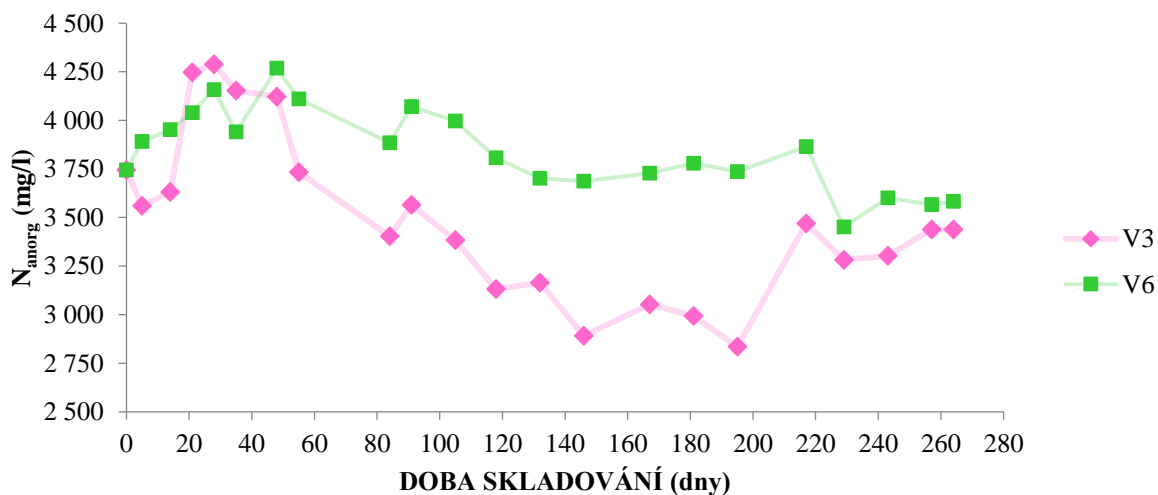
Koncentrace anorganických forem dusíku (N_{anorg}) byla vypočtena jako součet koncentrací N-amon, $N\text{-NO}_2^-$ a $N\text{-NO}_3^-$. Porovnání koncentrací v průběhu experimentu ukazuje Obrázek 44 pro V1 a V4, Obrázek 45 pro V2 a V5 a Obrázek 46 pro V3 a V6. U všech vzorků byl zaznamenán pokles v koncentraci N_{anorg} . Z výsledků je parné, že k vyšším ztrátám došlo u vzorků, které byly skladovány za laboratorní teploty (V1-V3). Naopak vzorky skladované v termostátované skříni za nižších teplotních podmínek (V4-V6) vykazují nižší ztráty. Na základě získaných výsledků byly vypočítány procentuální ztráty, které zobrazuje Tabulka 9. Výpočet jednotlivých parametrů byl totožný jako v kapitole 5.1.7.



Obrázek 44: Porovnání koncentrací N_{anorg} během skladování u V1 a V4



Obrázek 45: Porovnání koncentrací N_{anorg} během skladování u V2 a V5



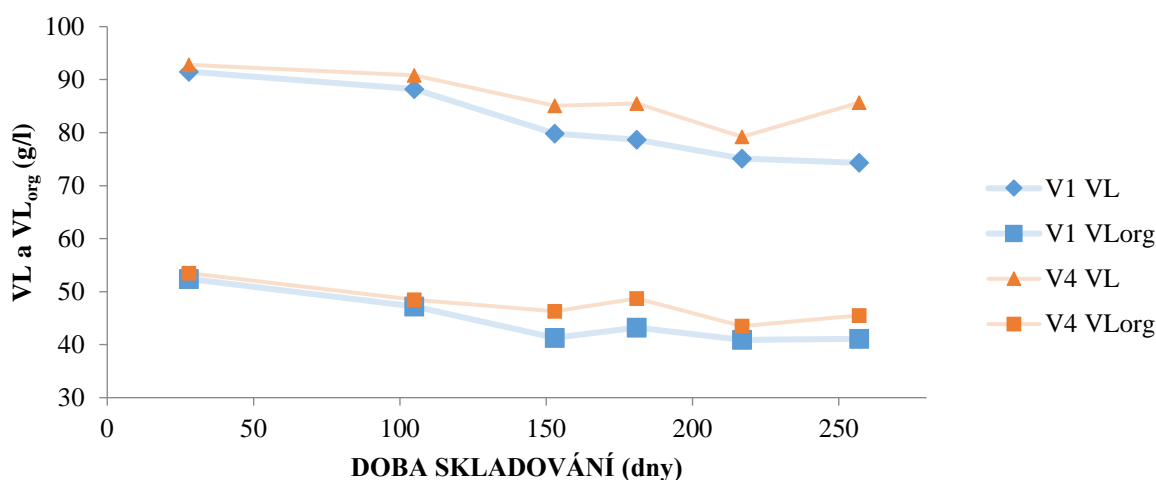
Obrázek 46: Porovnání koncentrací N_{anorg} během skladování u V3 a V6

Tabulka 9: Porovnání vypočítaných ztrát N_{anorg} na základě dvou parametrů

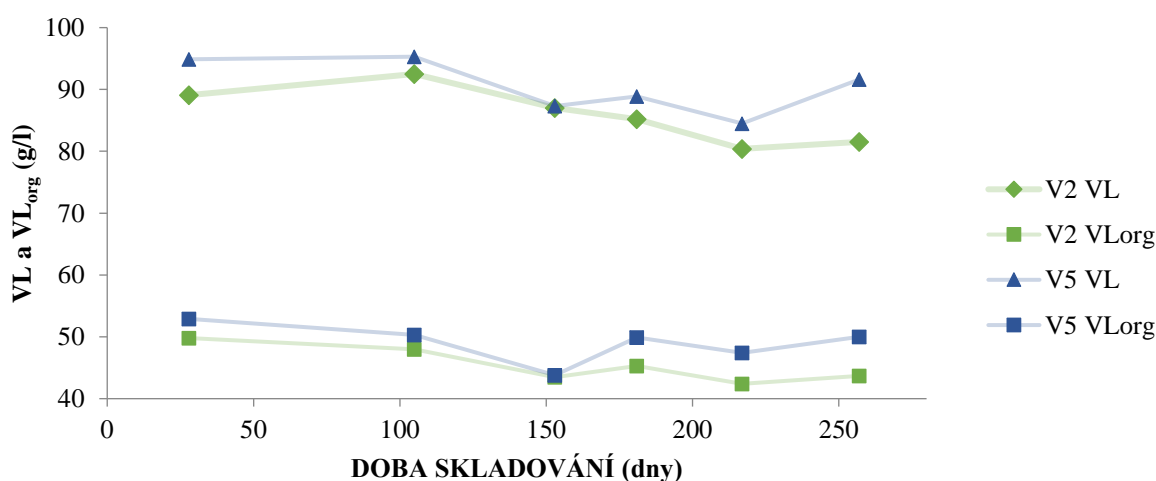
Vzorek	Parametr	
	Ztráty dle počáteční a koncové hodnoty	Ztráty dle rovnice přímky
V1	16,44 %	29,17 %
V2	10,46 %	20,17 %
V3	8,15 %	20,72 %
V4	10,55 %	13,58 %
V5	6,20 %	6,15 %
V6	4,32 %	11,45 %

5.1.10 Veškeré látky a veškeré organické látky

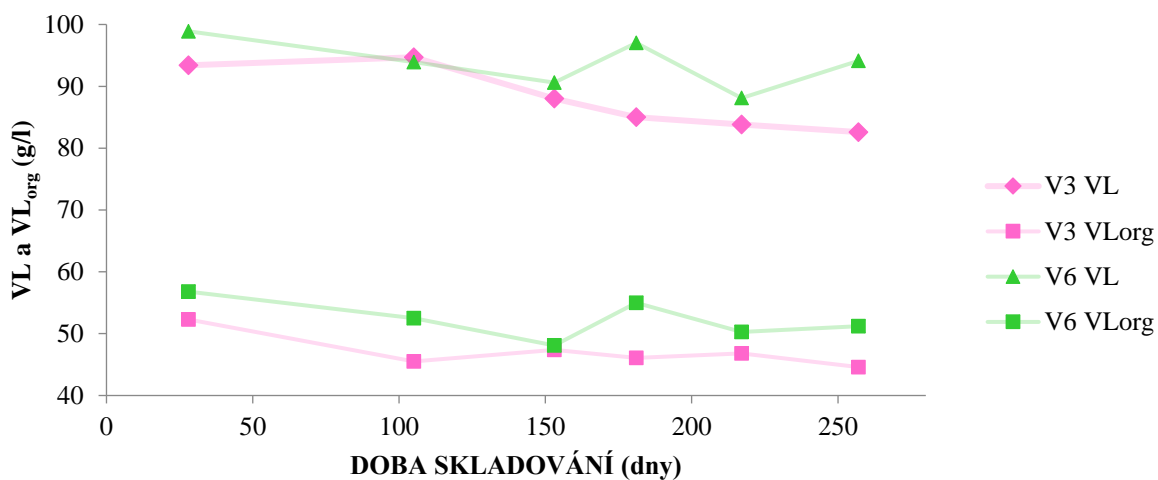
Sledování obsahu VL a VL_{org} začalo 28. den experimentu. Průměrná koncentrace pro VL a VL_{org} v den 0 byla stanovena na základě hodnot, které vycházely z naměřených dat a rovnice přímkou pro dané vzorky. Pro VL byla průměrná počáteční hodnota $95,29 \pm 1,47$ g/l a pro VL_{org} přibližně $52,46 \pm 1,43$ g/l. Počáteční hodnoty odpovídají 50% naředění získaného zahuštěného fugátu (viz 4.1.3). Porovnání koncentrací během skladování vzorků při rozdílných teplotách znázorňuje Obrázek 47 pro V1 a V4, Obrázek 48 pro V2 a V5 a Obrázek 49 pro V3 a V6. Procentuální ztráty zobrazuje Tabulka 10. Ztráty byly vypočítány stejným způsobem jako v kapitole 5.1.7.



Obrázek 47: Porovnání koncentrací VL a VL_{org} během skladování u V1 a V4



Obrázek 48: Porovnání koncentrací VL a VL_{org} během skladování u V2 a V5



Obrázek 49: Porovnání koncentrací VL a VL_{org} během skladování u V3 a V6

Tabulka 10: Porovnání vypočítaných ztrát VL a VL_{org} na základě dvou parametrů

Vzorek	Parametr			
	Ztráty VL ^a	Ztráty VL ^b	Ztráty VL _{org} ^a	Ztráty VL _{org} ^b
V1	18,80 %	22,77 %	21,56 %	25,33 %
V2	8,53 %	12,71 %	12,25 %	15,93 %
V3	11,56 %	15,10 %	14,72 %	13,19 %
V4	7,65 %	12,84 %	14,95 %	17,65 %
V5	3,48 %	8,77 %	5,48 %	7,78 %
V6	4,85 %	6,93 %	9,86 %	10,14 %

a = Ztráty dle počáteční a koncové hodnoty; b = Ztráty dle rovnice přímky

6 Diskuze

6.1 Vliv kombinace nitrifikace a tepelného zahušťování na ztráty dusíku

Jak již bylo zmíněno v literární rešerši, aplikace tepelného zahuštění fugátu vakuovým odpařováním vede nejen ke snížení celkového objemu fugátu, ale také ke vzniku zahuštěného fugátu, který obsahuje vyšší koncentrace živin v porovnání se surovým fugátem a destilátem. Experimentu s tepelným zahušťováním pomocí vakuového odpařování se věnovali například Chiumenti et al. (2013), kteří metodu aplikovali přímo na provoz bioplynové stanice.

Na možnost kombinace nitrifikace a tepelného zahuštění fugátu upozornili již dříve například Botheju et al. (2010) a Svehla et al. (2017). Předpokládali, že nitrifikací vznikne produkt, který bude mít nižší pH a tím se zamezí nadměrnému přechodu NH_3 do destilátu během tepelného zahušťování. V rámci této diplomové práce však nedošlo k potvrzení předpokladu.

Dle Svehla et al. (2017) se průměrné hodnoty pH během nitrifikace pohybovaly okolo pH 6-6,5, nicméně během následného skladování nitrifikovaného fugátu došlo k nárůstu hodnoty pH. Nitrifikovaný fugát použitý pro tento experiment měl v době zahušťování průměrnou hodnotu pH 7,6 a koncentraci N-amon v průměru 99,9 mg/l. Výsledky měření ukázaly, že koncentrace N-amon po tepelném zahuštění činila v průměru 134 mg/l. To ukazuje na ztrátu koncentrace N-amon okolo 34 %, při předpokladu 50% zahuštění původního vzorku. Výsledky této práce jsou v rozporu s těmi dle Chiumenti et al. (2013), kteří zaznamenali ztráty 78 % při tepelném zahuštění surového fugátu s hodnotou pH v rozmezí 7,5-7,9. Důvodem ztrát byla vysoká hodnota pH, která vedla k těkání NH_3 , jež byl následně zachycen do kondenzátu. Na základě výše zmíněného lze říct, že použitím čerstvě nitrifikovaného fugátu s hodnotou pH okolo 6, by došlo k výraznějšímu omezení ztrát N vlivem těkání NH_3 . Dané tvrzení je v souladu s Chiumenti et al. (2013), kteří zabránili výraznějšímu těkání NH_3 okyselením fugátu na pH 3,5 pomocí H_2SO_4 . Během jejich pokusu bylo ve výsledném zahuštěném fugátu obsaženo 99,2 % celkového dusíku z jeho počátečního množství.

6.2 Změny v průběhu skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu

Na základě jednotlivých měření je možné konstatovat, že při hodnocení N_{anorg} byl v zahuštěném nitrifikovaném fugátu dominantní chemickou formou dusík ve formě N-NO_3^- , který reprezentoval průměrně 98,2 % celkové koncentrace N_{anorg} . Ke srovnatelným výsledkům dospěli i Svehla et al. (2020), kteří zjistili, že nitrifikovaný fugát byl z více než 99 % tvořen N ve formě N-NO_3^- . Zbylou část tvořil N ve formě N-amon a N-NO_2^- . Důvodem bylo použití fugátu, který prošel předúpravou v nitrifikačním reaktoru.

6.2.1 Koncentrace rozpuštěného kyslíku

Na začátku období skladování byla koncentrace rozpuštěného kyslíku vyšší, až 2,8 mg/l v důsledku předúpravy fugátu (ředění). Následně klesla na nízkou úroveň až došlo k vytvoření anoxického prostředí. Během prvních 167 dní skladování se hodnoty koncentrace pohybovaly

v rozmezí 0-0,5 mg/l u všech sledovaných variant. Podobné výsledky prezentovali Svehla et al. (2020), kteří zaznamenali hodnoty nepřesahující 0,1 mg/l během skladování surového fugátu bez nepřetržitého promíchávání.

Zároveň byla pozorována vyšší koncentrace rozpuštěného kyslíku u variant, které byly skladovány při nižších teplotách (V4-V6), což bylo zapříčiněno vyšší rozpustností kyslíku za nižších teplot (Wetzel 2001). Výraznější rozdíly mezi jednotlivými variantami se neprokázaly.

Významnější nárůst koncentrace byl zaznamenán od 181. dne. Nejvíce patrný byl ve všech míchaných variantách (V2, V3, V5 a V6). Nejvyšší zaznamenané koncentrace byly 181. den (V3 a V6) a 195. den (V2 a V5), konkrétně v případě V2 5,89 mg/l, V3 5,76 mg/l, V5 7,31 mg/l a V6 6,91 mg/l. Svehla et al. (2020) zaznamenali podobný nárůst koncentrace až na 2,5 mg/l během skladování za letních podmínek u míchané varianty a 9,5 mg/l při zimních podmínkách u míchané varianty.

Možným vysvětlením výsledků této diplomové práce bylo příliš intenzivní promíchávání ve spojení se snižujícím se objemem skladovaných vzorků. Na možnost narušení anaerobních podmínek během skladování vlivem nepřetržitého míchání upozorňují také Perazzolo et al. (2017). Dalším důvodem mohlo být vyčerpání biologicky rozložitelných OL, případně i N-amon (koncentrace v tomto období pod 20 mg/l). Zabránilo se rozkladu OL aerobními organismy, nitrifikaci a s ní spojené spotřebě kyslíku (Botheju et al. 2010, Svehla et al. 2017).

Mírný nárůst koncentrace rozpuštěného kyslíku byl pozorován také u nemíchaných variant (V1 a V4). Důvodem mohl být nižší objem skladovaného vzorku a nízká intenzita promíchávání (ruční promíchání před každým měřením). Daný předpoklad je v souladu s možností, kterou zmiňují Svehla et al. (2020), kde změna poměru mezi plochou skladovaného materiálu a hloubkou skladovací nádrže vedla k proměnlivé intenzitě kontaktu skladovaného materiálu s atmosférou.

6.2.2 Ztráty N-amon během skladování

Pokles koncentrace N-amon zaznamenaný v průběhu pokusu byl nejvýraznější v prvních 100 dnech. Došlo k poklesu koncentrace u všech sledovaných vzorků. Obdobnou tendenci pozorovali během skladování surového fugátu Svehla et al. (2020). Zjistili výraznější ztráty u vzorků, které byly skladovány při vyšší teplotě oproti vzorkům, které byly uloženy v chladu. Na problematiku výraznějších ztrát během skladování při vyšších teplotách v porovnání se skladováním v chladu již dříve upozornil Sommer (1997).

Počáteční koncentrace N-amon v zahuštěném fugátu byla 2,4 % z celkové koncentrace N_{anorg} . Dle Svehla et al. (2020) je koncentrace N-amon v surovém fugátu více než 99 % z celkové koncentrace N_{anorg} .

Ztráty N-amon za prvních 100 dní v rámci této diplomové práce tvořily 76 % (V1), 69 % (V2) a 76 % (V3) pro varianty v letních podmínkách a 68 % (V4), 56 % (V5) a 54 % (V6) pro varianty skladované v zimních podmínkách. Svehla et al. (2020) zaznamenali během skladování surového fugátu za stejné období ztráty v koncentraci N-amon 87 % pro nemíchané varianty během letních i zimních podmínek, 91 % u míchané varianty v letních podmínkách a 96 % u míchané varianty v zimních podmínkách. Procentuální ztráty koncentrace N-amon

byly srovnatelné s výsledky skladovaného surového fugátu. Pokles pozorovaný od 105. dne skladování během tohoto pokusu byl pozvolný a stabilní u všech sledovaných vzorků.

Z výsledků této diplomové práce nebyl patrný výraznější vliv nepřetržitého míchání na pokles koncentrace N-amon. Je to v rozporu se závěry Perazzolo et al. (2017), kteří zjistili vyšší ztráty u míchaných variant v zimních podmínkách v porovnání s nemíchanými.

Hodnota pH zahuštěného nitrifikovaného fugátu během prvních 100 dní skladování za letních podmínek (V1-V3) vzrostla z počáteční hodnoty pH 8,7 na hodnoty pH okolo 9,0-9,2. U hodnot pH vzorků skladovaných za zimních podmínek (V4-V6) nedošlo k výraznější změně. Výsledky této práce jsou v souladu s pozorováním Li et al. (2018), kteří během prvních 60 dní zjistili nárůst hodnoty pH za letních podmínek z 8 na hodnotu okolo 9. Svehla et al. (2020) zaznamenali během skladování surového fugátu za stejnou dobu skladování nárůst na 9,0-9,3. V jejich experimentu během skladování nitrifikovaného fugátu došlo k nárůstu pH pouze u nemíchaných variant, míchané varianty vykazovaly pokles hodnoty pH až na 6,3. Dle Hafner et al. (2013), Li et al. (2018) a Svehla et al. (2020) je nárůst pH vysvětlen vlivem spotřeby těkavých kyselin a emisím CO₂. Na základě výše zmíněného je pravděpodobné, že ztráty N-amon zjištěné v této diplomové práci během prvních 100 dní byly způsobeny těkáním N ve formě plynného NH₃. Předpoklad je v souladu se závěry, ke kterým došli Perazzolo et al. (2015), Li et al. (2018) a Svehla et al. (2020).

Z důvodu nízké koncentrace rozpuštěného kyslíku (0-0,5 mg/l) se nepředpokládalo, že došlo k výraznému průběhu nitrifikace. Nebylo ji však možné zcela vyloučit. Dostatečné množství kyslíku je pro proces nitrifikace nezbytné (Botheju et al. 2010; Svehla et al. 2017). Svehla et al. (2020) nitrifikaci ve svém pokusu nezaznamenali i přesto, že ve skladovaných variantách bylo dostatečné množství kyslíku (2,5 mg/l a 9,5 mg/l), což jsou vhodné podmínky pro její průběh, jak uvedl Painter (1970). V tomto případě nitrifikace neprobíhala z důvodu toxického vlivu volného amoniaku.

V rámci této diplomové práce nemohla být na konci sledování nitrifikace zcela vyloučena z důvodu přeměny anoxického prostředí v aerobní. Výsledky naznačily, že k procesu nitrifikace dochází především v případě nepřetržitě míchaných variant, kde byl zaznamenán pokles koncentrace N-amon a zároveň nárůst koncentrace N-NO₂⁻. U vzorků skladovaných při vyšší teplotě byl současně pozorován nárůst v koncentraci N-NO₃⁻. Naznačuje to úplný průběh nitrifikace. Od 180. dne byl také zaznamenán pokles hodnoty pH u všech variant, který je typický pro průběh nitrifikace a okyselování v důsledku produkce H⁺ a NMK (Painter 1970; Hafner et al. 2013).

6.2.3 Vývoj koncentrace N-NO₂⁻

Sledování vývoje koncentrace N-NO₂⁻ v průběhu skladování bylo důležité, jelikož se jedná o meziprodukt nitrifikace i denitrifikace. Koncentrace N-NO₂⁻ se u většiny vzorků (V1, V4, V5, V6) pohybovaly ve velmi nízkých koncentracích po celou dobu trvání pokusu (přibližně okolo 15 mg/l). Svehla et al. (2020) zaznamenali v průběhu skladování surového fugátu koncentrace do 2 mg/l a během skladování nitrifikovaného fugátu koncentrace nepřesahující 13 mg/l. Při spojení anoxického prostředí a vzrůstající hodnoty pH lze na základě výše zmíněného říct, že probíhal kompletní proces denitrifikace bez hromadění meziproduktu.

U vzorku V3 byl zaznamenán nárůst koncentrace N-NO_2^- mezi 35. a 118. dnem skladování při porovnání s ostatními sledovanými variantami. Nízké množství rozpuštěného kyslíku a rostoucí hodnota pH ukazovaly na aktivní průběh denitrifikace (Al Seadi et al. 2013; Albina et al. 2019; Zubair et al. 2020). Během stejného období se koncentrace N-NO_2^- pohybovala mezi 1,3 a 4,6 % celkové koncentrace N_{anorg} . Hromadění N-NO_2^- značilo nekompletní denitrifikaci. Pokud by probíhala kompletní denitrifikace došlo by k následné přeměně N-NO_2^- na plynný dusík (Al Seadi et al. 2013; Albina et al. 2019).

U vzorku V2 se koncentrace N-NO_2^- pohybovaly až do 180. dne skladování okolo hodnoty 10 mg/l. Množství rozpuštěného kyslíku dosahovalo rozmezí cca 0-0,5 mg/l. Výsledky ukázaly na kompletní průběh denitrifikace bez hromadění N-NO_2^- . Změna nastala od 195. dne měření. Koncentrace N-NO_2^- u vzorku V2 prudce narostla na hodnotu 125 mg/l. Koncentrace rozpuštěného kyslíku kolísala okolo 4 mg/l. Byl zaznamenán pozvolný pokles hodnoty pH po 195. dni měření, ale také mírný nárůst koncentrace N-NO_3^- . Předpokládá se, že nárůst v koncentraci N-NO_2^- byl způsoben probíhající nitrifikací, která běžela ve zvýšené míře jen do prvního stupně (Painter 1970; Svehla et al. 2017).

6.2.4 Ztráty N-NO_3^- během skladování

Pokles koncentrace N-NO_3^- v průběhu trvání pokusu byl pozvolný a stabilní u všech vzorků. Pozvolný pokles koncentrace N-NO_3^- během skladování nitrifikovaného fugátu prezentovali také Svehla et al. (2020). Výraznější ztráty byly zjištěny u vzorků V1, V2 a V3 (u simulovaných letních podmínek). Vliv teploty na ztráty N potvrdili Perazzolo et al. (2017), kteří zaznamenali zvýšené emise N_2O během skladování surového fugátu v letním období při porovnání se skladováním v období zimním. Naopak Svehla et al. (2020) nezaznamenali významný vliv teplotních podmínek na ztráty N-NO_3^- během skladování nitrifikovaného fugátu.

Koncentrace N-NO_3^- v rámci této práce během prvních 100 dní poklesla u V1 o 10,3 %, V2 o 7,9 % a v případě V3 o 7,2 % na základě výpočtu z lineární regrese. Podobně tomu bylo u vzorků, které simulovaly zimní podmínky, pokles u V4 o 4,3 %, V5 o 1,5 % a V6 o 3,7 %. Zmíněné ztráty představovaly pokles v koncentraci N_{anorg} o 11,0 % (V1), 7,6 % (V2), 7,9 % (V3), 5,1 % (V4), 2,3 % (V5) a 4,3 % (V6) na základě výpočtu z lineární regrese. Naproti tomu Svehla et al. (2020) zaznamenali za stejnou dobu skladování nitrifikovaného fugátu ztráty v koncentraci N-NO_3^- , respektive N_{anorg} během letních podmínek u nemíchané varianty 3,6 %, u míchané 4,8 % a během zimních podmínek byly ztráty u nemíchané varianty 5,8 %, u míchané 3,7 %.

Byly zaznamenány rozdíly mezi vzorky, které nebyly míchány (V1 a V4) a vzorky, které byly nepřetržitě míchány (V2, V3, V5 a V6). Vyšší ztráty N-NO_3^- se projevily u nemíchaných variant. Svehla et al. (2020) pozorovali stejný trend pouze pro vzorky skladované během zimních podmínek. Perazzolo et al. (2017) uvedli, že u nemíchaných variant v porovnání s míchanými nedocházelo k narušení anoxických podmínek, což mohlo vést k vyšší činnosti denitrifikačních organismů (Painter 1970; Zubair et al. 2020) a tím k intenzivnějším ztrátám. Jak bylo zmíněno výše, následoval nárůst koncentrace rozpuštěného kyslíku, a tedy narušení vhodných podmínek pro denitrifikační organismy.

Ztráty N-NO_3^- se dají považovat za důsledek denitrifikačních procesů. Důkazem je nárůst hodnoty pH způsobený uvolňováním OH^- (Albina et al. 2019). Během 100 dnů skladování při zimních podmínkách nebyly prokázány význanější rozdíly ztrát koncentrace N_{anorg} mezi zahuštěným a nitrifikovaným fugátem. Během 100 dnů skladování při letních podmínkách byly zjištěny významnější rozdíly. Ztráty koncentrace N_{anorg} u zahuštěného fugátu v porovnání s výsledky nitrifikovaného fugátu byly 3krát vyšší u nemíchaného vzorku a 1,6krát vyšší u míchaného. Důvodem je rychlejší biodegradace OL za vyšších teplot (Al Seadi et al. 2013, Zhang et al. 2019). Tepelné zahuštění vakuovým odpařováním vedlo k vyššímu obsahu snadno rozložitelných látek (Bjerg-Nielsen et al. 2018; Yang et al. 2019). Proces denitrifikace byl tak intenzivnější.

K tvrzení přispělo i sledování vývoje koncentrace VL a VL_{org} . V souladu s faktorem teploty a míchání vzorku byl pozorován pozvolný pokles koncentrace VL_{org} . Klesající trend sledovaný ve vývoji koncentrací VL a VL_{org} , potvrdil průběh denitrifikace a s ní spojenou spotřebu OL. Organické látky slouží jako substrát pro denitrifikační organismy (Bjerg-Nielsen et al. 2018). Na základě výsledků je možné potvrdit, že větší ztráty dusíku jsou v souladu s vyšším poklesem koncentrace VL_{org} . Dle výsledků je možné potvrdit, že vystavení nitrifikovaného fugátu procesu tepelného zahuštění vede k rozkladu složitějších OL na jednodušší biologicky rozložitelné látky. Ke stejným závěrům došli Bjerg-Nielsen et al. (2018), Yang et al. (2019) a Zhang et al. (2019), kteří zaznamenali nárůst koncentrací NMK poté, co vystavili materiál termické hydrolýze.

7 Závěr

- Bylo provedeno tepelné zahuštění nitrifikovaného fugátu v laboratorních podmínkách. Byly sledovány ztráty dusíku během dlouhodobého skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu.
- Bylo potvrzeno, že během dlouhodobého skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu byla intenzita ztrát dusíku výrazně nižší než při skladování surového fugátu. Intenzita ztrát dusíku tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu nepřekročila 0,8 % koncentrace N_{anorg} ($N\text{-amon} + N\text{-NO}_2^- + N\text{-NO}_3^-$) za týden. Během dlouhodobého skladování surového fugátu tvořily ztráty průměrně 7 % koncentrace N_{anorg} týdně. Jedná se o 9krát vyšší ztráty v porovnání s tepelně zahuštěným nitrifikovaným fugátem.
- Bylo potvrzeno, že v průběhu dlouhodobého skladování tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu dosahovaly ztráty dusíku ve formě $N\text{-NO}_3^-$ až 0,7 % týdně oproti dlouhodobému skladování nitrifikovaného fugátu bez předchozího tepelného zahuštění, kde ztráty dusíku ve formě $N\text{-NO}_3^-$ nepřesáhly 0,4 % týdně, což znamená téměř 2krát vyšší ztráty.
- Tepelným zahuštěním nitrifikovaného fugátu se zlepšily podmínky pro průběh denitrifikace. Tepelné zahuštění nitrifikovaného fugátu však vedlo k významnějším ztrátám dusíku. Výsledky dále ukázaly, že ztráty N_{anorg} u tepelně zahuštěného nitrifikovaného fugátu jsou v porovnání se skladováním nitrifikovaného fugátu až 3krát vyšší, ale v porovnání se skladováním surového fugátu až 29krát nižší. Současně zde byla stále nesporná výhoda ve snížení celkového objemu fugátu v důsledku tepelného zahuštění a z toho plynoucí nižší náklady na přepravu a skladování v porovnání se surovým i nitrifikovaným fugátem.
- Produkty vzniklé tepelným zahuštěním jsou vhodné pro další použití. Zahuštěný fugát představuje koncentrovanou formu kapalného hnojiva a kondenzát je možné používat jako technologickou vodu pro ředění materiálu ve fermentačním reaktoru.
- Ze závěrů této práce vyplývá, že kombinace nitrifikace a tepelného zahuštění surového fugátu by mohla být do budoucna efektivní metodou. Zajišťuje konzervaci živin a zároveň snížení objemu skladovaného fugátu. Pro získání přesnějších výsledků bude však nutné provést navazující výzkum přímo v provozu bioplynové stanice.

8 Literatura

- Al Seadi T, Drosch B, Fuchs W, Rutz D, Janssen R. 2013. The biogas handbook – Science, production and applications. Woodhead Publishing Limited, Cambridge.
- Al Seadi T, Lukehurst C. 2012. Quality management of digestate from biogas plants used as fertiliser. *IEA Bioenergy*, 2012, **37**:40.
- Al Seadi T, Rutz D, Prassl H, Köttner M, Finsterwalder T, Volk S, Janssen R. 2008. Biogas handbook, 1st. University of Southern Denmark Esbjerg, Denmark.
- Albina P, Durban N, Bertron A, Albrecht A, Robinet J-C, Erable B. 2019. Influence of Hydrogen Electron Donor, Alkaline pH, and High Nitrate Concentrations on Microbial Denitrification: A Review. *International Journal of Molecular Sciences* **20**. Available at <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/20/5163>.
- Albuquerque JA, de la Fuente C, Ferrer-Costa A, Carrasco L, Cegarra J, Abad M, Bernal MP. 2012. Assessment of the fertiliser potential of digestates from farm and agroindustrial residues. *Biomass and Bioenergy* **40**:181-189. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0961953412001110>.
- Avery LM, Booth P, Campbell C, Tompkins D, Hough RL. 2012. Prevalence and survival of potential pathogens in source-segregated green waste compost. *Science of The Total Environment* **431**:128-138. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969712006675>.
- Beggio G, Schievano A, Bonato T, Hennebert P, Pivato A. 2019. Statistical analysis for the quality assessment of digestates from separately collected organic fraction of municipal solid waste (OFMSW) and agro-industrial feedstock. Should input feedstock to anaerobic digestion determine the legal status of digestate? *Waste Management* **87**:546-558. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X19301114>.
- Bjerg-Nielsen M, Ward AJ, Møller HB, Ottosen LDM. 2018. Influence on anaerobic digestion by intermediate thermal hydrolysis of waste activated sludge and co-digested wheat straw. *Waste Management* **72**:186-192. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X17308206>.
- Botheju D, Svalheim O, Bakke R. 2010. Digestate Nitrification for Nutrient Recovery. *The Open Waste Management Journal* **3**:1-12. Available at <http://benthamopen.com/ABSTRACT/TOWMJ-3-1>.
- Bousek J, Scroccaro D, Sima J, Weissenbacher N, Fuchs W. 2016. Influence of the gas composition on the efficiency of ammonia stripping of biogas digestate. *Bioresource Technology* **203**:259-266. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852415016764>.
- BSI. 2014. Specification for whole digestate, separated liquor and separated fibre derived from the anaerobic digestion of source-segregated biodegradable materials, 2nd. The British Standards Institution.

- Costamagna P, Giordano A, Lazzarini Y, Delucchi M, Busca G. 2020. Process of ammonia removal from anaerobic digestion and associated ammonium sulphate production: Pilot plant demonstration. *Journal of Environmental Management* **259**. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301479719315592>.
- Česká bioplynová asociace. 2019. Available at <https://www.czba.cz/> (accessed November 15, 2019).
- Drosg B, Fuchs W, Al Seadi T, Madsen M, Linke B. 2015. Nutrient Recovery by Biogas Digestate Processing, 1st. IEA Bioenergy. Available at https://www.iea-biogas.net/files/daten-redaktion/download/Technical%20Brochures/NUTRIENT_RECOVERY_RZ_web2.pdf. (accessed January 10, 2020).
- Dumitru M. 2014. STUDIES CONCERNING THE UTILISATION OF DIGESTATE IN BIOGAS PLANTS. *Scientific Papers Series Management, Economic Engineering in Agriculture and Rural Development* **14**:115-120. Available at http://managementjournal.usamv.ro/pdf/vol4_1/Art18.pdf.
- Evropský parlament a Rada. 2019. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2019/1009 ze dne 5. června 2019, kterým se stanoví pravidla pro dodávání hnojivých výrobků EU na trh a kterým se mění nařízení (ES) č. 1069/2009 a (ES) č. 1107/2009 a zrušuje nařízení (ES) č. 2003/2003. Available at <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX:32019R1009>. (accessed January 15, 2020)
- Fechter M, Kraume M. 2016. Digestate treatment techniques. *Czasopismo Techniczne* **1-M**:95-106. Available at <http://dx.doi.org/10.4467/2353737XCT.16.010.4974>.
- Fuchs W, Drosg B. 2010. *Technologiebewertung von Gärrestbehandlungs- und Verwertungskonzepten*, 1st. Eigenverlag der Universität für Bodenkultur Wien, Tulln an der Donau.
- Fuchs W, Drosg B. 2013. Assessment of the state of the art of technologies for the processing of digestate residue from anaerobic digesters. *Water Science and Technology* **67**:1984-1993. IWA Publishing.
- Gerardo ML, Aljohani NHM, Oatley-Radcliffe DL, Lovitt RW. 2015. Moving towards sustainable resources: Recovery and fractionation of nutrients from dairy manure digestate using membranes. *Water Research* **80**:80-89. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135415300014>.
- Ghyselbrecht K, Monballiu A, Somers MH, Sigurnjak I, Meers E, Appels L, Meerschaert B. 2018. Stripping and scrubbing of ammonium using common fractionating columns to prove ammonium inhibition during anaerobic digestion. *International Journal of Energy and Environmental Engineering* **9**:447-455. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s40095-018-0283-7>.

- Gómez X, Cuetos MJ, García AI, Morán A. 2007. An evaluation of stability by thermogravimetric analysis of digestate obtained from different biowastes. *Journal of Hazardous Materials* **149**:97-105. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389407004219>.
- Griffin T, Honeycutt C, He Z. 2002. Effects of temperature, soil water status, and soil type on swine slurry nitrogen transformations. *Biology and Fertility of Soils* **36**:442-446. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s00374-002-0557-2>.
- Hafner SD, Montes F, Alan Rotz C. 2013. The role of carbon dioxide in emission of ammonia from manure. *Atmospheric Environment* **66**:63-71. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1352231012000477>.
- Heviánková S, Kyncl M, Kodymová J. 2014. Study and Research on Cleaning Procedures of Anaerobic Digestion Products / Studium A Výzkum Postupů Čištění Anaerobní Digesce. *GeoScience Engineering* **60**:39-50. Available at <http://gse.vsb.cz/ojs/index.php/GSE/article/view/62>.
- Horáková M. 2003. *Analytika vody*, 2. vydání. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha.
- Chiumenti A, da Borso F, Chiumenti R, Teri F, Segantin P. 2013. Treatment of digestate from a co-digestion biogas plant by means of vacuum evaporation: Tests for process optimization and environmental sustainability. *Waste Management* **33**:1339-1344. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X13001116>.
- Jeřábková J. 2019. Využití digestátu jako hnojiva. *Biom* **23**:3-5.
- Jiang A, Zhang T, Zhao Q-B, Li X, Chen S, Frear CS. 2014. Evaluation of an integrated ammonia stripping, recovery, and biogas scrubbing system for use with anaerobically digested dairy manure. *Biosystems Engineering* **119**:117-126. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1537511013001682>.
- Johansen A, Carter MS, Jensen ES, Hauggard-Nielsen H, Ambus P. 2013. Effects of digestate from anaerobically digested cattle slurry and plant materials on soil microbial community and emission of CO₂ and N₂O. *Applied Soil Ecology* **63**:36-44.
- Kathijotes N, Petrova V, Zlatareva E, Kolchakov V, Marinova S, Ivanov P. 2015. Impacts of biogas digestate on crop production and the environment: A bulgarian case study. *American Journal of Environmental Sciences* **11**:81–89.
- Koszel M, Lorencowicz E. 2015. Agricultural Use of Biogas Digestate as a Replacement Fertilizers. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* **7**:119-124. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2210784315300048>.
- Kupper T, Bürge D, Bachmann HJ, Güsewell S, Mayer J. 2014. Heavy metals in source-separated compost and digestates. *Waste Management* **34**:867-874. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X14000592>.

- Li Y, Liu H, Li G, Luo W, Sun Y. 2018. Manure digestate storage under different conditions: Chemical characteristics and contaminant residuals. *Science of The Total Environment* **639**:19-25. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969718317698>.
- Liu L, Pang C, Wu S, Dong R. 2015. Optimization and evaluation of an air-recirculated stripping for ammonia removal from the anaerobic digestate of pig manure. *Process Safety and Environmental Protection* **94**:350-357. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095758201400127X>.
- Lukehurst CT, Frost P, Al Seadi T. 2010. Utilisation of digestate from biogas plants as biofertiliser. *IEA bioenergy*, 2010, **2010**:1-36.
- Makádi M, Tomócsik A, Orosz V. 2012. Digestate: A New Nutrient Source – Review. 295-310 in *Biogas*. InTechOpen, Croatia.
- Maynaud G, Pourcher A-M, Ziebal C, Cuny A, Druilhe C, Steyer J-P, Wéry N. 2016. Persistence and Potential Viable but Non-culturable State of Pathogenic Bacteria during Storage of Digestates from Agricultural Biogas Plants. *Frontiers in Microbiology* **07**. Available at <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fmicb.2016.01469/abstract>.
- Megonigal JP, Neubauer SC. 2019. Biogeochemistry of Tidal Freshwater Wetlands. *Coastal Wetlands*:641-683. Elsevier. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444638939000198>.
- Ministerstvo zemědělství České republiky. 1998. Zákon č. 156/1998 Sb., o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd (zákon o hnojivech), ve znění pozdějších předpisů. Pages 6709-6715 in *Sbírka zákonů České republiky*, 1998, částka 54. Česká republika. Available at http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/Legislativa-MZe_uplna-zneni_zakon-1998-156-hnojiva.html. (accessed December 7, 2019)
- Ministerstvo zemědělství České republiky. 2000. Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 474/2000 Sb., o stanovení požadavků na hnojiva, ve znění pozdějších předpisů. Pages 7494-7564 in *Sbírka zákonů České republiky*, 2000, částka 137. Česká republika. Available at http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/Legislativa-MZe_uplna-zneni_Vyhlaska-2000-474-rostlinnekomodity.html. (accessed December 7, 2019)
- Ministerstvo zemědělství České republiky. 2012. Nařízení vlády č. 262/2012 Sb., o stanovení zranitelných oblastí a akčním programu, ve znění pozdějších předpisů. Pages 3370-3417 in *Sbírka zákonů České republiky*, 2012, částka 89. Česká republika. Available at http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/Legislativa-MZe_uplna-zneni_narizeni-vlady-2012-262.html. (accessed December 7, 2019)

- Ministerstvo zemědělství České republiky. 2013. Vyhláška č. 377/2013 Sb., o skladování a způsobu používání hnojiv, ve znění pozdějších předpisů. Pages 6694-6708 in Sběrka zákonů České republiky, 2013, částka 149. Česká republika. Available at http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/Legislativa-MZe_uplna-zneni_vyhlaska-2013-377.html. (accessed December 7, 2019)
- Ministerstvo zemědělství České republiky. 2014. Vyhláška č. 131/2014 Sb., vyhláška, kterou se mění vyhláška Ministerstva zemědělství č. 474/2000 Sb., o stanovení požadavků na hnojiva, ve znění pozdějších předpisů, a vyhláška č. 377/2013 Sb., o skladování a způsobu používání hnojiv. Pages 1314-1345 in Sběrka zákonů České republiky, 2014, částka 56. Česká republika. Available at <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2014-131>. (accessed January 15, 2020)
- Møller HB, Lund I, Sommer SG. 2000. Solid–liquid separation of livestock slurry: efficiency and cost. *Bioresource Technology* **74**:223-229. Denmark.
- Möller K, Müller T. 2012. Effects of anaerobic digestion on digestate nutrient availability and crop growth: A review. *Engineering in Life Sciences* **12**:242-257. Available at <http://doi.wiley.com/10.1002/elsc.201100085>.
- Möller K. 2015. Effects of anaerobic digestion on soil carbon and nitrogen turnover, N emissions, and soil biological activity. A review. *Agronomy for Sustainable Development* **35**:1021-1041. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s13593-015-0284-3>.
- Nkoa R. 2014. Agricultural benefits and environmental risks of soil fertilization with anaerobic digestates: a review. *Agronomy for Sustainable Development* **34**:473-492.
- Painter HA. 1970. A review of literature on inorganic nitrogen metabolism in microorganisms. *Water Research* **4**:393-450. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0043135470900515>.
- Parlament České republiky. 2012. Zákon č. 201/2012 Sb., o ochraně ovzduší, ve znění pozdějších předpisů. Pages 2786-2841 in Sběrka zákonů České republiky, 2012, částka 69. Česká republika. Available at http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/Legislativa-ostatni_uplna-zneni_zakon-2012-201.html. (accessed January 10, 2019)
- Perazzolo F, Mattachini G, Riva E, Provolo G. 2017. Nutrient Losses during Winter and Summer Storage of Separated and Unseparated Digested Cattle Slurry. *Journal of Environmental Quality* **46**:879-888. Available at <http://doi.wiley.com/10.2134/jeq2016.07.0274>.
- Perazzolo F, Mattachini G, Tambone F, Calcante A, Provolo G. 2016. Nutrient losses from cattle co-digestate slurry during storage. *Journal of Agricultural Engineering* **47**:94-99. Available at <http://www.agroengineering.org/index.php/jae/article/view/500>.

- Perazzolo F, Mattachini G, Tambone F, Misselbrook T, Provolo G. 2015. Effect of mechanical separation on emissions during storage of two anaerobically codigested animal slurries. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **207**:1-9. Available at <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.03.023>.
- Pivato A, Lavagnolo MC, Manachini B, Raga R, Beggio G, Vanin S. 2018. Acute toxicity tests using earthworms to estimate ecological quality of compost and digestate. *Journal of Material Cycles and Waste Management* **20**:552-560. Available at <http://link.springer.com/10.1007/s10163-017-0619-z>.
- Rada Evropského společenství. 1991. Směrnice Rady 91/676/EHS ze dne 12. prosince 1991 o ochraně vod před znečištěním dusičnany ze zemědělských zdrojů. Available at <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX:31991L0676>. (accessed December 7, 2019)
- Sahlström L. 2003. A review of survival of pathogenic bacteria in organic waste used in biogas plants. *Bioresource Technology* **87**:161-166. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852402001682>.
- Seuntjens D et al. 2018. Pinpointing wastewater and process parameters controlling the AOB to NOB activity ratio in sewage treatment plants. *Water Research* **138**:37-46. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135417309727>.
- Sommer SG. 1997. Ammonia volatilization from farm tanks containing anaerobically digested animal slurry. *Atmospheric Environment* **31**:863-868.
- Svehla P, Caceres LMV, Michal P, Tlustos P. 2020. Nitrification of the liquid phase of digestate can help with the reduction of nitrogen losses. *Environmental Technology & Innovation* **17**. Available at <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100514>.
- Svehla P, Radechovska H, Pacek L, Michal P, Hanc A, Tlustos P. 2017. Nitrification in a completely stirred tank reactor treating the liquid phase of digestate: The way towards rational use of nitrogen. *Waste Management* **64**:96-106. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X17301885>.
- Šimon T, Kunzová E, Friedlová M. 2015. The effect of digestate, cattle slurry and mineral fertilization on the winter wheat yield and soil quality parameters. *Plant Soil Environ* **61**:522-527.
- Tambone F, Genevini P, D'Imporzano G, Adani F. 2009. Assessing amendment properties of digestate by studying the organic matter composition and the degree of biological stability during the anaerobic digestion of the organic fraction of MSW. *Bioresource Technology* **100**:3140-3142. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852409001242>.
- Tambone F, Scaglia B, D'Imporzano G, Schievano A, Orzi V, Salati S, Adani F. 2010. Assessing amendment and fertilizing properties of digestates from anaerobic digestion through a comparative study with digested sludge and compost. *Chemosphere* **81**:577-583. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653510009422>.

- Tampio E, Salo T, Rintala J. 2016. Agronomic characteristics of five different urban waste digestates. *Journal of Environmental Management* **169**:293-302.
- Tlustoš P, Kaplan L, Dubský M, Bazalová M, Száková J. 2014. Stanovení fyzikálních a chemických vlastností pevných a kapalných složek digestátu bioplynových stanic, 1st. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Vondra M, Máša V, Bobák P. 2016. The Potential for Digestate Thickening in Biogas Plants and Evaluation of Possible Evaporation Methods. *Chemical Engineering Transactions* **52**:787-792. Available at <https://www.cetjournal.it/index.php/cet/article/view/CET1652132>.
- Vondra M, Máša V, Bobák P. 2018. The energy performance of vacuum evaporators for liquid digestate treatment in biogas plants. *Energy* **146**:141-155. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0360544217311337>.
- Wetzel RG. 2001. *Limnology: Lake and River Ecosystems*, 3rd. CA: Academic Press, San Diego.
- Whelan MJ, Everitt T, Villa R. 2010. A mass transfer model of ammonia volatilisation from anaerobic digestate. *Waste Management* **30**:1808-1812. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X09003444>.
- Yang D, Dai X, Song L, Dai L, Dong B. 2019. Effects of stepwise thermal hydrolysis and solid-liquid separation on three different sludge organic matter solubilization and biodegradability. *Bioresource Technology* **290**. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852419309836>.
- Zhang D, Jiang H, Chang J, Sun J, Tu W, Wang H. 2019. Effect of thermal hydrolysis pretreatment on volatile fatty acids production in sludge acidification and subsequent polyhydroxyalkanoates production. *Bioresource Technology* **279**:92-100. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852419300975>.
- Zubair M et al. 2020. Biological nutrient removal and recovery from solid and liquid livestock manure: Recent advance and perspective. *Bioresource Technology* **301**. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852420300924>.