

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



Realizace procesu ANAMMOX při nízkých teplotách

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Josef Schovánek

Obor studia: Odpady a jejich využití

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

Konzultant: Ing. Helena Radechovská

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci „Realizace procesu ANAMMOX při nízkých teplotách“ 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 12.4.2017 _____

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval Ing. Pavlu Švehlovi, Ph. D. za jeho ochotu, cenné rady, připomínky a vstřícnost při konzultacích a vypracování diplomové práce. Dále bych rád poděkoval konzultantce Ing. Heleně Radechovské za pomoc při praktické části této práce.

Realizace procesu ANAMMOX při nízkých teplotách

Souhrn

Aplikace anaerobní oxidace N-amon jsou obvykle zaměřeny na odstraňování dusíkatého znečištění ze silně znečištěných odpadních vod při teplotách 30 - 40 °C, které jsou pro tento proces optimální. Oproti tomu se tato práce zaměřuje na využití anaerobní oxidace N-amon (tzv. Anammox proces) při teplotách nižších než 20 °C a zkoumá vliv poklesu teplot na činnost anammox bakterií.

Pokus probíhal po dobu 361 dnů v kontinuálně průtokovém reaktoru (CSTR) se směšovací aktivací při nízkých koncentracích kyslíku, průměrně dosahujících 0,048 mg.l⁻¹. Průměrné koncentrace ve vstupní vodě činily u N-amon 129 mg.l⁻¹, N-NO₂⁻ 151 mg.l⁻¹ a N-celk. 286 mg.l⁻¹. Aplikace byla zaměřená pouze na anaerobní oxidaci N-amon, předchozí fáze nitritace byla simulována uměle přidávanými dusitany do vstupní vody, kterou byla zředěná kalová vody z ÚČOV v Praze. Reaktor byl provozován při teplotě od 17,25 do 28,5 °C. Po dvanáctitýdenní stabilizaci při teplotě 28 ± 0,5 °C následoval patnáctitýdenní pokles teplot na 17 ± 0,5 °C, během kterého nedošlo k inhibici procesu

Při této teplotě 17 ± 0,5 °C po dobu pěti týdnů nebyla pozorována akumulace N-NO₂⁻, N-NO₃⁻ ani inhibice činnosti anammox bakterií a bylo dosaženo rychlosti odstranění N-celk. 0,132 kg.m⁻³.d⁻¹ při účinnosti odstranění 88,4 %. Tomu pravděpodobně napomohl i rozvoj bakterií schopných heterotrofní denitrifikace. Účinnost odstranění N-NO₂⁻ byla po celou dobu pokusu velmi vysoká, dosáhla průměrně 99 %, účinnost odstranění N-amon dosáhla 94 %. Výsledky naznačují, že kromě anammox procesu probíhaly v reaktoru i další biochemické procesy přeměny sloučenin dusíku, jako je nitritace, nitratace či výše zmíněná denitrifikace, respektive denitritace. Byla tedy potvrzena hypotéza, že je možné uspokojivě provozovat anaerobní oxidaci N-amon při teplotách nižších než 20 °C.

Klíčová slova: anaerobní oxidace amoniakálního dusíku; anammox; denitrifikace; teplota; odstraňování dusíku; čištění odpadních vod

Realization of ANAMMOX Process at Low Temperature

Summary

Applications of anaerobic ammonium oxidation usually focus on the removal of nitrogen pollution from heavily polluted waste water at temperatures of 30 - 40° C which is optimal for this process. In contrast, this thesis focuses on the use of anaerobic ammonium oxidation (so-called Anammox process) at temperatures below 20 °C and examines the effect of temperature decrease on activity of Anammox bacteria.

The experiment ran for 361 days in a continuous flow reactor (CSTR) with a mixing activation at low oxygen concentrations, reaching an average of 0.048 mg.l⁻¹. For ammonium the average concentration in the influent water was 129 mg.l⁻¹, N-NO₂⁻ 151 mg.l⁻¹ and total nitrogen 286 mg.l⁻¹. The application was focused on the anaerobic ammonium oxidation only; the previous phase of nitrification was simulated by artificially added nitrites into the influent water – diluted sludge water from the wastewater treatment plant in Prague. The reactor was operated at temperatures between 17.25 and 28.5° C. After twelve weeks of stabilization at temperature of 28 ± 0.5° C, a fifteen-week temperature drop to 17 ± 0.5 °C followed, during which there was no inhibition of the process.

At the temperature of 17 ± 0.5 °C, for a period of five weeks there was neither accumulation of N-NO₂⁻, N-NO₃⁻ observed nor inhibition of activity of Anammox bacteria and removal rate of total nitrogen 0,132 kg.m⁻³.d⁻¹ at 88.4% removal efficiency was achieved. The result was probably supported also by the development of bacteria capable of heterotrophic denitrification. N-NO₂⁻ removal efficiency was very high throughout the whole experiment and reached an average of 99%, while ammonium removal efficiency reached 94%. The results suggest that except for the Anammox process also further biochemical conversion processes of nitrogen compounds such as nitrification, or nitrification or aforementioned denitrification respectively denitrification were conducted in the reactor.

The hypothesis that it is possible to satisfactorily operate the anaerobic ammonium oxidation at temperatures below 20° C was thus confirmed.

Keywords: anaerobic oxidation of ammonium; anammox; deamination; temperature; wastewater treatment; nitrogen removal

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Cíl práce.....	2
3. Literární rešerše	3
3.1 Dusík v odpadních vodách.....	3
3.1.1 Formy výskytu dusíku v odpadních vodách	3
3.1.1.1 Amoniakální dusík.....	3
3.1.1.2 Dusitany	3
3.1.1.3 Dusičnany	3
3.1.2 Význam sledování obsahu dusíku v odpadních vodách	4
3.1.3 Odstraňování anorganického dusíku z odpadních vod	4
3.1.3.1 Nitrifikace	4
3.1.3.2 Denitrifikace	5
3.1.3.3 Nitritace / denitritace	6
3.2. Anaerobní oxidace amoniakálního dusíku.....	6
3.2.1 Objev a princip procesu	6
3.2.2 Laboratorní a provozní aplikace	8
3.2.2.1 Technické provedení reaktorů	8
3.2.2.2 Aplikace procesu anaerobní oxidace N-amon ve světě	10
3.2.3 Vliv teploty na anaerobní oxidaci N-amon.....	11
3.2.4 Další faktory ovlivňující proces anaerobní oxidaci amonného dusíku.....	15
3.2.4.1 Koncentrace kyslíku	15
3.2.4.2 Hodnota pH.....	16
3.2.4.3 Hydraulická doba zdržení	17
3.2.4.4 Koncentrace dusitanového dusíku	17
3.2.4.5 Koncentrace N-amon a objemové zatížení	18
3.2.4.6 Volný amoniak a volná kyselina dusitá	19

3.2.4.7 Velikost vloček kalu	19
3.2.4.8 Druhy anammox bakterií	20
3.2.4.9 Vliv dalších látek na průběh anaerobní oxidace N-amon	20
4. Materiál a metody	22
4.1. Založení pokusu a popis aplikace	22
4.2 Charakteristika vstupní odpadní vody	24
4.3 Stanovení základních chemicko - fyzikálních vlastností	24
4.4 Analytické metody stanovení jednotlivých parametrů	25
4.4.1 Stanovení koncentrací N-amon	25
4.4.2 Stanovení koncentrací N-NO ₃ ⁻	25
4.4.3 Stanovení koncentrací N-NO ₂ ⁻	25
4.4.4 Stanovení koncentrací P	26
4.4.5 Stanovení chemické spotřeby kyslíku dichromanem draselným	26
4.4.6 Stanovení veškerých, rozpuštěných a nerozpuštěných látek, stanovení ztráty žiháním	26
4.5 Výpočty	26
4.6 Řízení změn teplot a rozdělení na jednotlivé etapy	28
5 Výsledky	29
5.1 Teplota	29
5.2 Hodnota pH	30
5.3 Hodnota O ₂	30
5.4 Hydraulická doba zdržení	30
5.5 Koncentrace N-amon	31
5.6 Koncentrace N-NO ₂ ⁻	32
5.7 Koncentrace N-NO ₃ ⁻	33
5.8 Koncentrace celkového dusíku	34
5.9 Účinnost odstranění forem dusíku	36

5.10 Objemové zatížení	37
5.11 Objemová rychlost odstranění	38
5.12 Poměr N-NO_2^- a N-amon	39
5.13 Poměr odstraněného N-NO_2^- a vzniklého N-NO_3^-	40
5.14 Volný amoniak a volná kyselina dusitá	41
5.15 Chemická spotřeba kyslíku	42
5.16 Rozpuštěné a nerozpuštěné látky	42
6. Diskuze	43
6.1 Vliv koncentrace O_2	43
6.2 Vliv hodnoty pH	43
6.3 Průběh odstranění N-amon	44
6.4 Průběh odstranění N-NO_2^- a produkce N-NO_3^-	46
6.5 Průběh odstranění N-celk	47
6.6 Vliv volného amoniaku a kyseliny dusité	48
6.7 Vliv změn teplot	48
6.8 Souhrnné hodnocení průběhu pokusu	51
7. Závěr	52
8. Seznam literatury	53

1. Úvod

Čištění odpadních vod se stalo v minulém století nedílnou součástí snižování obsahu znečišťujících látek a tím i ochranou našich toků. S postupným vědeckotechnologickým rozvojem bylo možné zavádět nové technologie a zlepšovat stávající procesy, aby vyhovovaly stále přísnějším legislativním normám. Nicméně plnit stávající či plánované legislativní normy je finančně velmi náročné, proto se hledají takové postupy, které by snížily náklady na čištění odpadních vod. Jednou z možných cest je využití procesu anaerobní oxidace amoniakálního dusíku (tzv. anammox proces), který byl objeven a popsán teprve až na konci 20. století. Díky jeho aplikaci by bylo možné snížit náklady oproti klasickému systému kombinující nitrifikaci a denitrifikaci, protože jeho předcházející fáze nitrifikační snižuje náklady na provzdušňování a dále odpadá nutnost dodatečně přidávat organický substrát pro denitrifikaci.

Nicméně zvláště pro provozní aplikace anaerobní oxidace amoniakálního dusíku při čištění městských odpadních vod je zatím největší překážkou teplota, protože optimální teplotní rozmezí je přibližně od 30 do 40 °C. V současné době je ve světě přes sto provozních aplikací tohoto procesu probíhajících při optimálních teplotách a dále existují různé laboratorní aplikace a výzkumy zaměřené na provoz při snížených teplotách. Tyto výzkumy se zaměřují i na další faktory ovlivňující průběh procesu anaerobní oxidace amoniakálního dusíku, jako je například technické provedení reaktorů, hodnota pH; koncentrace O₂, amoniakálního dusíku, dusitanů; objemové zatížení a další. Výsledkem vědeckého zkoumání by proto do budoucna měl být i návrh technologického řešení pro provozní aplikaci tohoto procesu probíhajícího při teplotách pod 20 °C k čištění slabě znečištěných odpadních vod. Proto je i cílem této práce lepší pochopení vlivu teploty a dalších faktorů na průběh procesu a na činnost tzv. anammox bakterií, které jsou schopny anaerobní oxidace amoniakálního dusíku.

2. Cíl práce

Cílem práce je vyhodnotit možnost aplikace ANAMMOX procesu pro odstraňování sloučenin dusíku z odpadních vod při teplotách nižších než 20 °C. Zároveň bude posuzován vliv intenzity teplotních změn na průběh procesu, zejména na efektivitu odstranění celkového dusíkatého znečištění.

Základní hypotézou práce je předpoklad, že ANAMMOX proces je při vysokých rychlostech odstraňování sloučenin dusíku možno efektivně provozovat i při teplotách výrazně nižších než 30 - 40 °C, což jsou hodnoty představující teplotní optimum mikroorganismů ANAMMOX procesu. Předpokládá se též, že nejnižší teplota umožňující úspěšnou realizaci procesu bude ovlivněna mírou intenzity teplotních výkyvů, přičemž při postupném snižování teploty bude systém plně funkční i při nižší teplotě než v případě razantnějších teplotních výkyvů.

3. Literární rešerše

3.1 Dusík v odpadních vodách

3.1.1 Formy výskytu dusíku v odpadních vodách

V odpadních vodách se mohou vyskytovat sloučeniny dusíku organického a anorganického původu v různých oxidačních stupních. Tyto sloučeniny jsou v iontové i neiontové formě. V případě anorganického dusíku a seřazení podle klesajícího oxidačního stupně se jedná zvláště o dusičnanový dusík (N-NO_3^-) dusitanový dusík (N-NO_2^-) a amoniakální dusík (N-NH_4^+ a N-NH_3). Z organických dusíkatých látek jsou to především bílkoviny a látky vznikající z jejich rozkladu: peptidy a aminokyseliny. Mezi další látky patří močovina, alifatické a aromatické aminy, aminosacharidy, heterocyklické dusíkaté sloučeniny a dusíkaté látky vznikající rozkladem biomasy mikroorganismy. Součet anorganického (N_{anorg}) a organického (N_{org}) dusíku tvoří celkový obsah dusíku (N_{celk}) (Pitter, 2015).

3.1.1.1 Amoniakální dusík

Amoniakální dusík ve vodě tvoří hydrát $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, který disociuje na kationt NH_4^+ a aniont OH^- . Na hodnotách pH a teplotě, které podporují následnou disociaci na neiontovou formu NH_3 , závisí podíl výskytu těchto dvou forem. Používanými analytickými metodami se stanoví obě tyto formy, které označujeme za celkový amoniakální dusík (N-amon). Vyjadřujeme ho jako hmotnostní koncentraci (N-NH_4^+ a N-NH_3) v mg.l^{-1} (Pitter, 2015).

3.1.1.2 Dusitany

Dusitany jsou přítomny ve vodách jako mezistupeň v cyklu dusíku, vznikají při nitrifikaci biochemickou oxidací amoniakálního dusíku nebo při biologické redukci dusičnanů. Díky tomu se vyskytují společně s dusičnany a amoniakálním dusíkem, ale kvůli své nestabilitě pouze v malých koncentracích. V přírodně znečištěných vodách dosahuje jejich koncentrace desetin mg.l^{-1} a ve splaškových odpadních vodách je v řádech jednotek mg.l^{-1} . Dusitany tedy patří mezi indikátory fekálního znečištění vod (Pitter, 2015). Jejich obsah se uvádí jako hmotnostní koncentrace NO_2^- nebo N-NO_2^- v mg.l^{-1} .

3.1.1.3 Dusičnany

Dusičnany jsou konečným produktem mineralizace organicky vázaného dusíku a vznikají především při aerobní oxidaci amoniakálního dusíku. Jejich koncentraci ve vodě uvádíme jako hmotnostní koncentraci NO_3^- nebo N-NO_3^- v mg.l^{-1} (Pitter, 2015). Vyšší

koncentrace dusičnanů jsou nebezpečné pro děti v prvním roce jejich života, při vypití takové vody hrozí dusičnanová alimentární methemoglobinaemii (DAM) (Chudoba a kol., 1991).

3.1.2 Význam sledování obsahu dusíku v odpadních vodách

Mezi emisními standardy ukazatelů znečištění se v případě sloučenin dusíku u vypouštěných splaškových a městských odpadních vod zpracovávaných v čistírnách odpadních vod sleduje celkový obsah dusíku (N_{celk}) a dusík v podobě $N\text{-NH}_4^+$. U průmyslových odpadních vod se dále navíc sleduje koncentrace dusičnanů ($N\text{-NO}_3^-$) ve vodách z výroby hnojiv a koncentrace dusitanů ($N\text{-NO}_2^-$) ve vodách z úpraven kovů a výroby elektrických zařízení. Vstup sloučenin dusíku z odpadních vod do recipientu zvyšuje eutrofizaci vod a je nežádoucí z několika důvodů.

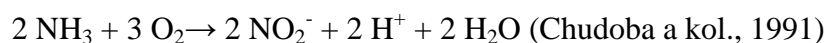
Při biochemické oxidaci amoniakálního dusíku dochází k vysoké spotřebě kyslíku a tím i ke snížení koncentrace kyslíku ve vodě. Zvyšuje se růst fytoplanktonu, který může narušovat uhlíčanovou rovnováhu dodáváním kyslíku a odčerpávat oxid uhličitý z vody. To se projeví zvyšováním pH a i koncentrací amonných iontů a amoniaku (Ambrožová, 2003). Podle Pittra (2015) působí nedisociovaná molekula amoniakálního dusíku (NH_3) velmi toxicky na ryby a může dojít i k jejich úhynu.

3.1.3 Odstraňování anorganického dusíku z odpadních vod

Z výše zmíněných důvodů je žádoucí dosáhnout vysokého stupně odstranění sloučenin anorganického dusíku z odpadních vod. Jednou z možností je použít fyzikálně – chemické metody, mezi které řadíme například stripování vzduchem, zachycování na měničích iontů, oddestilování z alkalického prostředí, vysrážení ve formě fosforečnanu amonno hořečnatého (Sonune a Ghate, 2004). Ale tyto metody jsou finančně a technologicky náročné a jejich využití se uplatní především v čištění silně znečištěných průmyslových odpadních vod. Běžněji jsou tedy používány biologické metody odstraňování dusíku.

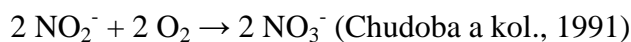
3.1.3.1 Nitrifikace

Nitrifikace probíhá ve dvou fázích, při první, nitritaci, probíhá biochemická oxidace amoniakálního dusíku nejprve díky bakteriím rodu *Nitrosomonas*, *Nitrosolobus*, *Nitrosouva*, *Streptomyces*, *Nocardia* (Ambrožová, 2003) a dalších na dusitany (NO_2^-):



Tyto bakterie se v odborné literatuře označují zkratkou AOB bakterie podle jejich anglického označení ammonia oxidizing bacteria.

Při druhé fázi, nitrataci, jsou následně dusitany oxidovány podle Ambrožové (2003) bakteriemi rodu *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira* na dusičnany (NO_2^-):



Bakterie účastníci se nitratace označujeme opět podle jejich anglického označení nitrite oxidizing bacteria zkratkou NOB bakterie. Obě skupiny výše zmíněných rodů bakterií jsou litotrofní organismy a jako zdroj uhlíku využívají CO_2 (Pitter, 2015). Z průběhu reakcí je patrné, že se jedná o aerobní bakterie. Chudoba a kol. (1991) uvádí, že pro optimální průběh nitrifikace se doporučuje udržovat koncentraci kyslíku alespoň 2 mg.l^{-1} .

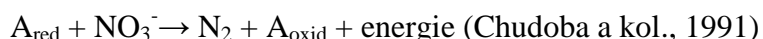
Sumární rovnici oxidace amoniakálního dusíku na dusičnanový můžeme zapsat dvěma tvary:



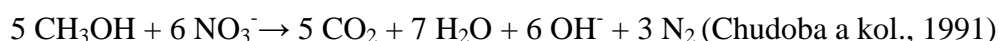
Teoreticky bychom na oxidaci 1 g molekuly N-NH_4^+ potřebovali 4,57 g kyslíku, ale během procesu se část energie uvolněné při nitrifikaci využije k syntéze nové biomasy, ve skutečnosti je tedy potřeba přibližně 4,33 g kyslík (Pitter, 2015).

3.1.3.2 Denitrifikace

Následným procesem nitrifikace je většinou denitrifikace, redukce dusičnanů a dusitanů na plynný N_2 nebo N_2O . Konečným akceptorem elektronů je místo kyslíku dusitanový dusík a dusičnanový dusík. Schematicky můžeme proces denitrifikace popsat touto rovnicí:



Pro methanol a redukující se dusičnany bude tato rovnice vypadat takto:



Dusičnanový dusík (N-NO_3^-) v množství 1 g je ekvivalentní 2,86 g O_2 (Chudoba a kol., 1991) a na jeho redukci je podle rovnice potřeba zhruba 0,7 g organického uhlíku (Pitter, 2015) Denitrifikace je způsobena anaerobními organotrofními bakteriemi rodů *Pseudomonas*,

Achromobacter, *Micrococcus* a dalších. Tento proces probíhá při anoxických podmínkách či limitních koncentracích rozpuštěného kyslíku, dle Pittra (2015) menších než $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$. Pro správný průběh denitrifikace je nutné dostatečné množství organického substrátu v odpadní vodě jako zdroje energie a obsah dusičnanového dusíku. Pokud není dostatek organického substrátu, je nutné přidávat snadno rozložitelné organické látky, například methanol, škrob, glukosu, kyselinu octovou (Pitter, 2015).

3.1.3.3 Nitritace / denitritace

Čištění odpadních vod je nákladným technologickým procesem, je tedy nasnadě snižovat finanční náročnost aplikací levnějších metod na základě znalostí těchto procesů. Při klasickém čištění odpadních vod je pro správný průběh nitrifikace potřeba zajistit dostatečné provzdušňování a při denitrifikaci je nutné v určitých případech dodávat organický substrát. Proto se při čištění odpadních vod začíná uplatňovat zkrácení klasického procesu na nitritaci a denitritaci (Pitter, 2015).

V prvním stupni je amoniakální dusík oxidován pouze na dusitany a ve druhém stupni dochází k redukci dusitanového dusíku na molekulový dusík N_2 . Při správném průběhu lze při tomto procesu nitritace / denitritace ušetřit 25 % potřebného kyslíku oproti nezkrácenému cyklu (Pitter, 2015). Je také menší spotřeba organického substrátu, což je vhodné pro vody s menším obsahem organických látek.

3.2. Anaerobní oxidace amoniakálního dusíku

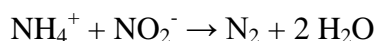
3.2.1 Objev a princip procesu

Amoniakální dusík (dále jen „N-amon“) nemusí být oxidován pouze v aerobním prostředí. V anoxických podmínkách za přítomnosti dusitanového dusíku a autotrofních bakterií schopných oxidovat dusík může dojít k anaerobní oxidaci N-amon. Jako akceptor elektronů slouží dusitany a konečným produktem je pouze molekulový dusík N_2 bez nutnosti přidávání organického substrátu (Strous et al., 1998; Mulder et al., 1995).

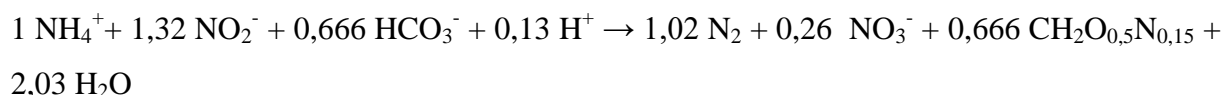
Tento proces anaerobní oxidace N-amon nebyl velmi dlouho znám, ale ještě před jeho objevem ho předpověděl Broda (1977), který předpokládal, že by potenciálně měly mít některé chemolitotrofní bakterie schopnost oxidovat N-amon na molekulární dusík s dusitany jako akceptorem elektronů.

Za objevitele anaerobní oxidace N-amon se považuje až Mulder et al. (1995), kteří v 90. letech 20. století zkonstruovali funkční pokusný reaktor, ve kterém při anoxických podmínkách pozorovali jak úbytek N-amon, tak i dusitanového a dusičnanového dusíku a nazvali tuto reakci jako anammox proces, podle anglického anaerobic ammonium oxidation. Podle tohoto názvu se označují bakterie podílející se na tomto procesu jako anammox bakterie (Van de Graaf et al., 1996). Dalším používaným označením tohoto procesu v odborné literatuře je deamonifikace. Nicméně oproti tomu, jak dnes známe proces anaerobní oxidace N-amon a jeho aplikace, použili Mulder et al. (1995) při svém objevu značné přídavky dusičnanu sodného (75 g.l^{-1}), přestože pro průběh procesu je nutné, aby byly ve vodě přítomny dusitany. Z tohoto pohledu je patrné, že neobjevili přímou podstatu procesu, ale pouze pozorovali a popsali jeho projevy. Také samotné anglické označení může být zavádějící, protože proces probíhá v anoxických podmínkách, ale autoři studie dali přednost obecnému anglickému termínu anaerobic. I v této práci používané označení anaerobní oxidace N-amon dle anglického originálu označuje oxidaci N-amon v anoxických podmínkách.

Spolu s tímto objevem bylo nutné tuto reakci vysvětlit pomocí chemických rovnic. Brodou (1977) navrhovanou jednoduchou rovnicí:



rozšířili Strous et al. (1998), kteří započítávají do rovnice také nárůst biomasy a upravují stechiometrický poměr amoniakálního dusíku vůči dusitanům na 1 : 1,32:



Z těchto výše uvedených rovnic je patrné, že pro průběh anaerobní oxidaci N-amon anammox bakteriemi je zapotřebí, aby byly ve vodě přítomné dusitany. Ty vznikají ve vodě především aerobní oxidací N-amon činností AOB bakterií během první fáze nitrifikace nitritace. Poté je potřeba zabránit, aby proběhla další fáze nitrifikace nitratice, při které by NOB bakterie oxidovaly dusitany. Proto je nutné, aby byly NOB bakterie inhibovány či se vůbec nevyskytovaly v reaktorech společně s AOB a anammox bakteriemi. Jejich inhibici ovlivňuje několik faktorů, jako jsou vyšší teploty, vyšší koncentrace amoniakálního dusíku a dusitanů, volná kyselina dusitá, vyšší salinita a nízké koncentrace kyslíku ve vodě. Hlavním technologickým řešením omezení aktivity NOB bakterií je střídání aerobních a anoxických

podmínek v reaktoru a také teplota odpadní vody nad 20 °C, tím dochází také ke zvýhodnění AOB bakterií, které při těchto podmínkách rostou rychleji než NOB bakterie (Ma et al., 2015).

3.2.2 Laboratorní a provozní aplikace

3.2.2.1 Technické provedení reaktorů

Na základě znalosti principu procesu anaerobní oxidaci N-amon bylo zkonstruováno několik různých technologických provedení reaktorů. Tyto reaktory mají mnoho označení, která mohou být matoucí. Van der Star et al. (2007) je rozřídili do tří skupin podle toho, jestli se jedná o proces probíhající v jednom reaktoru či o dvoufázový proces ve dvou za sebou jdoucích reaktorech. Dále je pak rozdělil podle probíhající reakce a zdroji dusitanů.

Původní systém anammox, ve kterém Mulder et al. (1997) popsali tento proces, patří do skupiny procesů probíhajících v jednom reaktoru. Zde probíhá proces denitrifikace a následně se vyvine mikrobiální kultura schopná anaerobní oxidaci N-amon. V jejich výzkumu se jednalo o 23 litrový reaktor s fluidním ložem při teplotě 36 °C a pH 7. Odpadní voda pocházela z produkce pekařského droždí s obsahem $N-NH_4^+$ v koncentraci 90 - 130 mg.l⁻¹ a s přidaným roztokem dusičnanu sodného. Voda z povrchu reaktoru byla recirkulována ke zvýšení průtočné rychlosti a přibližně po 420 dnech začal výrazně ubývat N-amon na výstupu a přibývat molekulární dusík N₂. Dalším systémem tohoto druhu je systém DEAMOX (Denitrifying Ammonium Oxidation), kde dochází simultánně k denitrifikaci a anaerobní oxidaci N-amon. Je ale nutné, aby byly v reaktoru přítomny dusitany, dusičnany a amoniakální dusík (Kalyuzhnyi et al. 2006). Tento systém je velmi náročný na optimální vyladění průběhu procesu a v současné době se používá velmi zřídka.

Další skupinou jsou procesy probíhající v jednom reaktoru, kde probíhá střídání procesů nitrifkace a anaerobní oxidace N-amon. Tento postup může mít několik technologických řešení. Jedná se například o systém OLAND (Oxygen – Limited Autotrophic Nitrification Denitrification) s přerušovaným provozem SBR (Sequencing Batch Reactor), který použili Strous et al. (1998) s dobrými výsledky pro kultivaci anammox bakterií a jež vyzdvihují pro svoji technickou nenáročnost. Vlaeminck et al. (2009) použili tento systém pro kultivaci granulované biomasy, která má na rozdíl od vloček kalu vyšší sedimentační rychlosti, tím i minimální ztráty v odtoku a lepší účinnost odstraňování N-amon. Další variantou je OLAND s rotačním kotoučem pokrytým biomasou (Rotating Biological Contactor RBC) (Li et al., 2008).

CANON (Completely Autotrophic Nitrogen removal Over Nitrite) (Van der Star et al., 2007) funguje při limitních koncentracích kyslíku a přeměně přibližně jedné poloviny N-amon v odpadní vodě na dusitany, čímž vytvoří substrát pro anammox bakterie. Aby tento proces probíhal, musí být AOB bakterie v symbióze s anammox bakteriemi, protože na vnější vrstvě vloček kalu je aerobní prostředí, kde probíhá pouze nitrifikační a až uvnitř je anaerobní prostředí vhodné pro anammox bakterie. Omezení tohoto procesu je ze strany optimální koncentrace kyslíku, na které závisí činnost AOB bakterií a produkce dusitanů. Další systémy, se kterými se můžeme setkat v odborné literatuře jsou SNAP (Single – stage Nitrogen removal using the Anammox and Partial nitrification), DEMON (Deammonification process in an SBR under pH - control) a DIB (Deammonification In Interval - aerated biofilm system) (Li et al., 2008).

Poslední skupinou jsou procesy probíhající ve dvou reaktorech, kdy v prvním probíhá nitrifikační a ve druhém pak anaerobní oxidace N-amon. Mezi ně patří SHARON (Sustainable High Rate Ammonium Removal Over Nitrate) – Anammox (Van der Star et al., 2007). V prvním reaktoru je při vyšších teplotách 30 - 40°C a přerušovaném provzdušňování vzduchem (Hellings et al., 1998) dosaženo koncentrace N-amon a dusitanů přibližně v poměru 1 : 1. Vysoká teplota a střídání aerobních a anoxických podmínek je výhodou, protože inhibuje činnost NOB (Van Hulle et. al., 2005; Corral et al., 2005). Druhý reaktor zajišťující anaerobní oxidaci N-amon může být konstruován jako SBR či MBR (Membrane - assisted Bioreactor) (Van Hulle et. al., 2005).

Také do této skupiny patří také technologické aplikace kontinuálních systémů s ideálním promícháváním (směšovací aktivací) označovaných jako CSTR (Continuously Stirred Tank Reactor) (Bagchi et al., 2010). Odpadní voda přichází do reaktoru odděleně od recirkulovaného kalu, následně dojde k promíchání a homogenizaci. V celém reaktoru je tedy čištěná voda se stejným složením a koncentrací substrátu (Chudoba et al., 1991). Jednou z výhod oproti ostatním systémům je poměrně rychlé nastartování anaerobní oxidace N - amon, Bagchi et al. (2010) uvádějí 82 dnů. Ariunbaatar et al. (2015) uvádějí jako další výhodu oproti jiným technickým aplikacím jejich spolehlivost, menší výkyvy pH a větší odolnost vůči nárazovému zvýšení organického dusíku.

Dalším ze dvou reaktorových systémů je dvoustupňový OLAND s membránovým reaktorem (Membrane - assisted Bioreactor MBR). Výhodou tohoto systému je jeho stabilita při nižších teplotách (20 - 30 °C) (Xing a Clark, 1997).

3.2.2.2 Aplikace procesu anaerobní oxidace N-amon ve světě

V roce 2014 fungovalo na světě na 100 průmyslových aplikací procesu nitrifikační - anaerobní oxidace N-amon, z těchto aplikací bylo více než 50 % s přerušovaným provozem (SBR), 20 % s granulovanou biomasou, 10 % MBBR (Moving Bed Biofilm Reactor) a přibližně 7 % ostatních v provedení s biofilmem. Přestože byly v počátcích více využívány aplikace s oddělenými procesy nitrifikační a anaerobní oxidace N-amon, kde bylo snazší proces řídit, nyní je 88 % aplikací provozováno v jednostupňovém procesu. Přibližně 75 % aplikací zpracovává kalovou vodu z čistíren odpadních vod, dalších 25 % zpracovává průmyslové odpadní vody. Nejčastěji se můžeme setkat s provedením DEMON[®]. Nicméně tyto aplikace pracují s vodami s vysokým obsahem dusíku o koncentracích přibližně od 500 mg N.l⁻¹ do 3500 mg N.l⁻¹ a s teplotami vyššími než 30 °C (Lackner et al., 2014; Gilbert et al., 2015)

Podle údajů z roku 2015 je nejvíce aplikací procesu anaerobní oxidace N-amon v Německu, kde je v provozu na 29 aplikací, dále je velmi významně zastoupeno Nizozemsko s 19 aplikacemi a Švýcarsko s 12 aplikacemi. Z dalších evropských zemí jsou to Velká Británie, Finsko a Španělsko, každá po 4 aplikacích. Z mimoevropských zemí je ještě významný podíl Číny, kde se nachází 13 aplikací a Spojené státy americké s 8 aplikacemi (Ali a Okabe, 2015).

Jako jedna z prvních provozních aplikací procesu anaerobní oxidaci N-amon byla uvedena do zkušebního provozu v roce 2002 v Rotterdamu, jednalo se o dvou reaktorový systém SHARON - Anammox. Anammox reaktor o velikosti 70 m³ byl rozdělený na horní a dolní část přepážkou, která zabraňovala úniku biomasy. Tento anammox reaktor byl provozován při teplotě 35 °C, zpracovával kalovou vodu z čistírny odpadních vod a byl projektován na zatížení 700 kg N.d⁻¹. Z důvodu velmi pomalého růstu anammox bakterií trval zkušební provoz 1 250 dnů, během kterého společně se zvyšujícím se množstvím biomasy stoupalo také zatížení reaktoru až k plánovaným hodnotám. Tuto dlouhou dobu zkušebního provozu je v současné době možné zkrátit pomocí inokula, kdy může nová aplikace procesu začít pracovat v plném zatížení do 6 měsíců (Van der Star et al., 2007).

Přestože měl první reaktor typu SHARON - Anammox v praxi pouze 70 m³ (Van der Star et al., 2007), současné plně provozní aplikace probíhající v jednom reaktoru v režimu SBR dosahují objemů přibližně od 134 m³ do 2 800 m³, aplikace s granulovanou biomasou či MBBR dosahují objemů od 70 m³ až do 8 000 m³ (Lackner et al., 2014). Tyto

aplikace nejčastěji zpracovávají kalovou vodu z čistíren odpadních vod, vody z jatek, koželužen, výroby bramborového škrobu, glutamátů a dalších (Lackner et al., 2014).

3.2.3 Vliv teploty na anaerobní oxidaci N-amon

Anaerobní oxidace N-amon je přirozený přírodní proces, kterému se v posledních letech přikládá stále větší význam. Je velmi významnou součástí přirozeného koloběhu dusíku v oceánech, zvláště pak v chladnějších oblastech (Rysgaard a Glud, 2004; Rysgaard et. al., 2004). Přesto skýtá jeho provozování v laboratorních a provozních podmínkách mnoho faktorů zásadně ovlivňující jeho správný průběh.

Teplota je jedním z nejdůležitějších faktorů, který ovlivňuje celkový průběh anaerobní oxidace N - amon a činnost anammox bakterií. Strous et al. (1999a) uvádí rozmezí teplot, které nemá inhibiční vliv na činnost anammox bakterií mezi 20 - 43 °C. Jetten et al. (1999) uvádí užší rozmezí ideální teploty 30 - 37 °C, Strous et al. (1998) teplotu okolo 32 - 33 °C, Dosta et al. (2008) rozmezí 35 - 40 °C a jako úplnou horní mez uvádí 45 °C, kdy už dochází k nevratné inhibici anammox bakterií a lýze buněk. Bagchi et al. (2010) při provozování CSTR udržovali teplotu od 25 °C v zimě do 38 °C v létě.

Některé druhy anammox bakterií vyskytující se v mořských sedimentech jsou známy pro svoji zvýšenou odolnost vůči nízkým teplotám. Rysgaard et al. (2004) uvádějí jako optimální teplotu 12 °C u anammox bakterií, které byly odebrány ze sedimentu v Arktidě, kde jsou teploty stále kolem 0 °C. To je ve schodě s Dalsgaard a Thamdrup (2002), kteří u anammox bakterií z mořského sedimentu v úžině Skagerrak v Baltském moři pozorovali největší aktivitu anammox bakterií při 15 °C a jejich inhibici při teplotách vyšších než 37 °C. Tyto nízké teploty se výrazně odlišují od teplot uváděných většinou autorů jako ideálních pro anammox bakterie, ale protože se jedná se o druhy vyskytující se v mořích s nízkou rychlostí odstranění dusíku, není pravděpodobné jejich uplatnění v provozních aplikacích. Nižší optimální teploty jsou typické hlavně pro bakterie rodu *Candidatus Scalindua*, u kterého Ali a Okabe (2015) uvádějí 25 °C. Ty se vyskytují také v mořských sedimentech a jsou známy svojí odolností vůči salinitě než je běžné u ostatních rodů. U jiných rodů, například pro *Candidatus Brocardia* a *Ca. Jettenia* je ideální teplota kolem 37 °C (Ali a Okabe, 2015).

Jak je tedy patrné, autoři studií se úplně neshodují na optimálních teplotách pro anammox bakterie, jedním z hlavních důvodů je pravděpodobně různá fyziologie jednotlivých rodů bakterií. Pro využití anaerobní oxidace N-amon v provozní praxi, zejména pro použití

v městských čistírnách odpadních vod se během poslední dekády zaměřil výzkum na průběhu anaerobní oxidace N-amon při nízkých teplotách. Nízkými teplotami se v tomto případě myslí rozmezí přibližně 10 °C až 20 °C (Gilbert et al., 2015) odpovídající výkyvům teplot městských odpadních vod v průběhu roku.

Jako jedna z prvních byla studie Isaka et al. (2007), kteří v pokusném reaktoru s pevně vázaným ložem a anammox bakteriemi při uměle namíchané vstupní vodě udržovali po dobu prvních dvou měsíců teplotu 37 °C. Poté byla teplota skokově snížena na 20 - 22 °C a udržována při stejné koncentraci dusíku 330 mg N.l⁻¹ a pH 7,2 více než rok. Při těchto podmínkách byl proces stabilní a nebyla pozorována inhibice činnosti anammox bakterií či zvýšené koncentrace dusitanů. V dalším výzkumu Isaka et al. (2008) udržovali teplotu po dobu 130 dnů pod 20 °C, kterou postupně snižovali až k 6 °C. Ani při této nízké teplotě nedošlo k úplné inhibici procesu, nicméně byl zvýšen obsah dusitanů v odtoku. Lepších výsledků bylo dosaženo při teplotě 12 °C, kdy nedocházelo ke zvyšování obsahu dusitanů. Při těchto studiích používali směsnou kulturu anammox bakterií, která měla nejvyšší aktivitu při 37 °C. V použitých směsných kulturách anammox bakterií bylo nalezeno více druhů, například *Candidatus Kuenenia* a *Ca. Brocardia*. Nicméně tyto výzkumy byly zaměřeny pouze na anaerobní oxidaci N-amon bez předchozí přeměny amoniakálního dusíku na dusitany.

Až Hu et al. (2013) se zaměřili na komplexní výzkum procesu nitritace a anaerobní oxidaci N-amon při ambientních teplotách v reaktoru v režimu SBR. Zpočátku udržovali teplotu 30 °C, poté během jednoho dne snížili teplotu na 25 °C bez jakéhokoliv efektu a tuto teplotu udržovali až do 127. dne pokusu od snížení teploty. Poté opět teplotu snížili na 12 °C a udržovali ji po dalších deset dnů bez výrazné akumulace dusitanů. Až snížení na 9 °C mělo za následek výraznou akumulaci dusitanů, proto byla teplota opět zvýšena na 12 °C, kdy se sledovaná koncentrace dusitanů vrátila zpět na hodnoty před snížením teploty z 12 °C. Z toho je dle autorů patrná vratná inhibice anammox bakterií při teplotě 9 °C, dále uvádějí jako možný důvod akumulace dusitanů fakt, že při této teplotě je aktivita AOB bakterií vyšší než anammox bakterií. Během dalších 200 dnů při provozování reaktoru při této teplotě 12 °C a koncentraci dusíku 70 mg N.l⁻¹ byl proces stabilní, nedošlo k akumulaci dusitanů a nedetekovali žádné NOB bakterie.

Gilbert et al. (2015) simulovali naráz ve dvou rektorech v režimu SBR a dvou rektorech v režimu MBBR přirozený pokles teplot městských odpadních vod v mírném

klimatu během roku. Koncentrace N-amon byla v uměle namíchané vodě $50 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{l}^{-1}$ a na výstupu z reaktoru byla díky řízenému dávkování vstupní vody udržována při koncentracích $6 - 8 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{l}^{-1}$. První čtyři týdny udržovali teplotu $20 \text{ }^\circ\text{C}$, poté začali teplotu každý týden snižovat o $0,5 \text{ }^\circ\text{C}$. Při $16 \text{ }^\circ\text{C}$ se začaly akumulovat dusitany v reaktoru v režimu SBR se suspendovanou biomasou až bylo 90% N-amon přeměněno na dusitany. V reaktorech v režimu SBR s granulovanou biomasou a MBBR s nosiči o průměru 2 mm se začaly dusitany výrazněji akumulovat až při snížení teploty pod $13 \text{ }^\circ\text{C}$. Reaktor s MBBR a nosiči o průměru 10 mm byl nejméně ovlivněn nízkou teplotou a akumulace dusitanů při $10 \text{ }^\circ\text{C}$ nepřesáhla 20% z přeměny N-amon. Také pozorovali aktivitu NOB bakterií, která při $20 \text{ }^\circ\text{C}$ dosahovala produkce dusičnanů odpovídající $25 - 30 \%$ původního N-amon ve vodě, nicméně při teplotách pod $12 \text{ }^\circ\text{C}$ jejich činnost výrazně poklesla.

Kouba a kol. (2015) zkoumali v nízko - zátěžovém laboratorním bioreaktoru s pohyblivým ložem (MBBR) odstraňování dusíku v aerobně předčištěné odpadní vodě při teplotě $22 \text{ }^\circ\text{C}$ a nízké koncentraci N - amon $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Při těchto podmínkách dosáhli rychlosti odstranění celkového dusíku $33 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ při účinnosti odstranění celkového dusíku až 80% . V podobné studii Gilbert et al. (2014) také zkoumali odstraňování dusíku v MBBR reaktoru s nosiči o průměru 10 mm a nízké koncentraci dusíku v uměle připravené vodě $50 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{l}^{-1}$. Po 16 týdnech od založení pokusu začali teplotu snižovat z $20 \text{ }^\circ\text{C}$ až na $10 \text{ }^\circ\text{C}$ rychlostí přibližně $2 \text{ }^\circ\text{C}$ za měsíc, tedy za celkových 140 dnů. Rychlost odstranění dusíku přitom klesla ze 40 na $15 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ při řízeném dávkování odpadní vody s cílem udržovat na výstupu z reaktoru koncentraci pod $8 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{l}^{-1}$. Koncentrace dusitanů se pohybovala pod $1 \text{ mg N-NO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$, skokově vzrostla po dobu pěti týdnů až na $8 \text{ mg N-NO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ při snížení teploty na $11,5 \text{ }^\circ\text{C}$ a po adaptaci anammox bakterií se ustálila při $10 \text{ }^\circ\text{C}$ na $3 \text{ mg N-NO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$.

Zekker et al. (2015) v dlouhodobém pokusu sledovali rychlost odstranění celkového dusíku v MBBR reaktoru, který zpracovával kalovou vodu z metanizačních nádrží čistírny odpadních vod v Tallinnu o koncentraci $680 (\pm 76) \text{ mg N} \cdot \text{l}^{-1}$. První dva roky byla v rektoru udržována teplota $26 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$, poté byla snížena na $20 \text{ }^\circ\text{C}$ na jeden rok. Po 1420 dnech byla teplota snižována rychlostí $0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ za týden, dokud nebylo dosaženo $15 \text{ }^\circ\text{C}$. V kinetických batch testech následně zjistili, že biomasa adaptovaná na nižší teplotu $15 \text{ }^\circ\text{C}$ vykazuje nižší rychlost odstranění celkového dusíku při teplotách nad $15 \text{ }^\circ\text{C}$ než biomasa adaptovaná na vyšší teploty $17 - 18 \text{ }^\circ\text{C}$ a opačně. Také během kinetických batch testů zjistili, že pokles rychlosti odstranění celkového dusíku je od 30 do $9 \text{ }^\circ\text{C}$ lineární.

Hendrickx et al. (2012) využili ve své studii reaktor s vhaněným směsným plynem N_2 1 l.min⁻¹ a CO_2 1 - 10 ml.min⁻¹, vstupní koncentraci uměle připravené vody 69 (±5) mg N.l⁻¹ při teplotě 20 °C po dobu 253 dnů. Při těchto podmínkách bylo dosaženo ve výstupní vodě stabilních koncentrací 0,03 - 0,17 mg (NH_4^+ a NO_2^-) - N.l⁻¹. Další přehled studií anaerobní oxidace N-amon při teplotách nižších než 20 °C je uveden v Tab. č. 1 (Hendrickx et al., 2012).

Výše uvedené studie dokazují, že je možné uspokojivě provozovat aplikace anaerobní oxidace N-amon až k teplotám okolo 15 °C. Dále je patrné, že u anammox bakterií nemusí nastat inhibice ani při teplotách pod 10 °C. Nejlepších výsledků dosahují studie, ve kterých autoři použili technologii MBBR či s granulovanou biomasou v reaktorech v režimu SBR. Největším problémem po snížení teplot se jeví zvyšující se akumulace dusitanů a zvýšená aktivita NOB bakterií, která má za následek zvyšující se koncentrace dusičnanů. Nicméně stále se jedná o laboratorní aplikace, v provozním využití se zatím tyto aplikace při nízkých teplotách nevyužívají. Z finančního hlediska je největší potenciál při čištění čistění městských odpadních vod a vod z kalového hospodářství.

Tab. č. 1 Přehled studií anaerobní oxidace N-amon při teplotách nižších než 25 °C (Hendrickx et al., 2012)

Studie	Typ reaktoru	Teplota (°C)	Jednostupňový systém	Vstupní koncentrace dusíku (mg N.l ⁻¹)	Objemové zatížení kg N.(m ⁻³ .d ⁻¹)	Hydraulická doba zdržení (h)
de Clippeleir et al., 2011	RBC*	25	ano	31	0,84	0,96
	RBC	25	ano	66	0,86	1,92
Szatkowska et al., 2007	MBBR	25	ano	568	0,85	16
Van de Graaff et al., 2011	SBR	25	ne	897	0,5	12
Dosta et al., 2008	SBR	23	ne	300	0,3	24
	SBR	20	ne	300	0,3	24
	SBR	18	ne	300	0,3	24
Isaka et al., 2008	S pevným ložem	22	ne	340	3,2	13 - 24
	S pevným ložem	6,3	ne	340	0,72	13 - 24
Vázquez - Pádin et al., 2011	SBR	20	ano	225	0,9	6
	SBR	15	ano	175	0,7	6
Hendrickx et al., 2012	s vhnáněným plynem N ₂ a CO ₂	20	ne	69	0,31	5,3

* RBC = rotating biological contactor

3.2.4 Další faktory ovlivňující proces anaerobní oxidaci N-amon

I když je teplota jedním z nejvýznamnějších faktorů ovlivňující anaerobní oxidaci N-amon, tak i ostatní fyzikálně chemické faktory značným způsobem ovlivňují správný průběh procesu.

3.2.4.1 Koncentrace kyslíku

Rozpuštěný kyslík se do vložky kalu dostává difuzí tím hlouběji, čím je okolní koncentrace kyslíku vyšší než uvnitř vložky. Jako mezní hodnota pro plně aerobní podmínky

ve vločkách kalu je udávána hodnota 2 mg.l^{-1} . Při nižších koncentracích je prostředí na povrchu vločky aerobní a uvnitř anoxické (Chudoba, 1991). Symbióza AOB bakterií na povrchu vločky a anammox bakterií uvnitř představuje vhodné uspořádání pro fungování procesu anaerobní oxidace N-amon ve střídajících se aerobních a anoxických podmínkách. Toho se využívá v jednostupňových reaktorech, kde probíhá střídání procesů nitritace a anaerobní oxidace N-amon (Winkler et. al. 2012).

Strous et al. (1997) označuje proces anaerobní oxidace N-amon za striktně anoxický a uvádí, že je silně inhibován přítomností i minimální koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vodě. Stálých minimálních koncentrací kyslíku je možné dosáhnout pouze v reaktorech, kde je oddělena nitritační fáze a fáze anaerobní oxidace N-amon v jednotlivých reaktorech. Nicméně Lotti et al. (2012) uvádí, že anammox bakterie jsou schopny přežít v extrémních případech i koncentrace až 9 mg.l^{-1} rozpuštěného kyslíku ve vodě a poté opět obnovit svoji aktivitu. Tudíž se při provozu v jednostupňových reaktorech snižuje aktivita anammox bakterií při nitritační fázi a při poklesu kyslíku opět vzrůstá.

Ma et al. (2015) při provozování jednostupňového reaktoru typu CANON zvolili v aerobní části koncentraci kyslíku v rozmezí $0,08 - 0,25 \text{ mg.l}^{-1}$. Winkler et al. (2011) při provozování reaktoru OLAND SBR v aerobní části udržovali koncentraci $1,5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ O}_2$. Vlaeminck et al. (2009) v OLAND SBR nejprve v první fázi svého pokusu nastavili limit rozpuštěného kyslíku na $0,85 \text{ mg.l}^{-1}$, ale z důvodu snížení rychlosti odstranění dusíku snížili koncentraci na $0,4 \text{ mg.l}^{-1} \text{ O}_2$, aby zamezili pronikání kyslíku hlouběji do vloček kalu. Po další fázi, kdy se zvýšila aktivita anammox bakterií a zdálo se, že jejich sensitivita na kyslík je snížena, přistoupili ke zvýšení koncentrace až na $1,1 \text{ mg.l}^{-1}$ bez inhibičních účinků. Kouba a kol. (2015) vylučují inhibici anammox bakterií při koncentracích kyslíku do $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$.

3.2.4.2 Hodnota pH

Při oxidaci N-amon na dusitany má hodnota pH tendenci se snižovat a pokud podle Li et al. (2008) klesne pod hodnotu 6,5, dojde k výrazné inhibici anammox bakterií. Jako ideální uvádí rozmezí hodnot pH 7,0 - 8,5. Jetten et al. (1999) uvádí optimální hodnotu pH 8 a rozmezí, kdy uspokojivě probíhá proces anaerobní oxidace N-amon od pH 6,7 do 8,3. Vlaeminck et al. (2009) udržovali při provozování OLAD SBR reaktoru pH 7,4 - 7,8. U stejného typu reaktoru udržovali Winkler et al. (2012) hodnotu pH 7,2. Další zdroje z odborných studií, například Strous et al. (1998) uvádí rozmezí pH 7,0 - 8,0, v jiné studii provozovali reaktor při pH 7,8 (Strous et al., 1997). Hendrickx et al. (2012) udržovali

v jednostupňovém reaktoru při teplotách $< 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a koncentracích dusíku menších než 100 mg N/l hodnotu pH 7,5 – 8,2. Oproti těmto autorům Puyol et al. (2014b) uvádí při hodnotách pH vyšších než 7,6 větší než 10 % snížení aktivity anammox bakterií při anaerobní oxidaci N-amon.

3.2.4.3 Hydraulická doba zdržení

Hydraulická doba zdržení udává, po jak dlouhou dobu se zpracovává odpadní voda v technologickém zařízení čištění odpadní vody. Tato doba je zpravidla v řádu hodin až dnů. V Tab. č. 1 jsou uvedeny některé laboratorní studie, ve kterých udržovali autoři teploty pod $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, hydraulická doba zdržení se pohybuje od 0,96 do 24 hodin, tento rozdíl je dán rozdílnými vstupními koncentracemi dusíkatého znečištění. S těmito kratšími časy hydraulické doby zdržení zjištěnými v laboratorních podmínkách se neshodují časy z provozních aplikací uvedení v Tab. č. 2 sestavené na základě přehledu studie Lackner et al., (2014), ty se pohybují od 24 do 114 hodin.

Tab. č. 2 Přehled provozních aplikací procesu anaerobní oxidace N-amon (Lackner et al., 2014)

Umístění	typ reaktoru	Objem (m^3)	Vstupní koncentrace dusíku ($\text{mg}(\text{NH}_4^+ - \text{N})\cdot\text{l}^{-1}$)	Objemové zatížení $\text{kg N}\cdot(\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1})$	Hydraulická doba zdržení (h)
Amersfort	DEMON	780	> 500	0,65	26
Apeldoorn	DEMON	2400	> 1000	0,54	58
Balingen	DEMON	705	> 500	0,04 - 0,11	94
Heidelberg	DEMON	2x 570	≈ 1000	0,20	114
Ingolstadt	SRB	2x 560	≈ 1000	0,18 - 0,20	75
Nieuwegein	DEMON	450	≈ 1000	0,61	42
Zürich	SBR	2x 1400	700	0,4	45
Rotterdam	Sharon	70	≈ 1000	7,03	6

3.2.4.4 Koncentrace dusitanového dusíku

Při anaerobní oxidaci N-amon je nutná přítomnost dusitanového dusíku, který slouží jako akceptor elektronů. Jak jeho nízká tak i vysoká koncentrace způsobuje inhibici anammox bakterií, které poté nejsou schopny anaerobní oxidace N-amon. Jako první se tímto problémem zabývali Strous et al. (1999a), kteří uvádí při koncentraci dusitanů $100\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$

úplnou, ale vratnou inhibici procesu. Fernández et al. (2012) nepozorovali při koncentracích vyšších než 240 mg.l^{-1} žádné inhibiční účinky, Isaka et al. (2007) a Tang et al. (2010) zaznamenali inhibici anammox bakterií při koncentraci dusitanů vyšší než 280 mg.l^{-1} . Kimura et al. (2010) uvádí jako inhibiční koncentraci vyšší než 300 mg.l^{-1} . Také při zvýšení koncentrace na 750 mg.l^{-1} po dobu sedmi dnů pozorovali snížení účinnosti o 90 %, ale po snížení dusitanů pod koncentraci 274 mg.l^{-1} došlo k plnému obnovení aktivity anammox bakterií během tří dnů. Dapena - Mora et al. (2007) uvádějí při koncentraci 350 mg.l^{-1} snížení účinnosti o 50 %. Lotti et al. 2012 uvádějí ve své studii snížení účinnosti o 50 % při koncentraci 400 mg.l^{-1} , tato inhibice je reverzibilní. Dále uvádí, že vyšší koncentrace dusitanů mají především inhibiční účinky a ne přímo toxické.

Tento široký rozptyl uváděných inhibičních koncentrací dusitanů je pravděpodobně způsoben různým provedením reaktorů, kde probíhá anaerobní oxidace N-amon a zvláště pak různou podobou biomasy, ve které se anammox bakterie nacházejí.

3.2.4.5 Koncentrace N-amon a objemové zatížení

Jak pro laboratorní, tak i pro provozní aplikace anaerobní oxidace N-amon je typická vysoká vstupní koncentrace dusíku pohybující se od $500 \text{ mg (N-NH}_4^+).\text{l}^{-1}$ výše (Hendrickx et al., 2012), ale studie zkoumající tento proces při nízkých teplotách se vyznačují nízkými koncentracemi dusíku ve vstupní vodě. Ve přehledu studií od Hendrickx et al. (2012) uvedených v Tab. č. 1 se pohybují koncentrace od 31 do 897 mg N.l^{-1} . V dalších studiích zvolili koncentrace 70 mg N.l^{-1} při $12 \text{ }^\circ\text{C}$ (Hu et al., 2013), 50 mg N.l^{-1} při $22 \text{ }^\circ\text{C}$ (Kouba a kol., 2015), 50 mg N.l^{-1} při teplotách 20 až $10 \text{ }^\circ\text{C}$ (Gilbert et al., 2014) a Hendrickx et al. (2012) 69 mg N.l^{-1} při $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Tyto nízké koncentrace dusíku ve vstupní odpadní vodě mají simulovat slabě znečištěné, anaerobně předčištěné splaškové vody v městských čistírnách odpadních vod. Objemové zatížení se pohybuje ve většině výše uvedených studií a průmyslových aplikací v Tab. č. 2 v desetinách $\text{kg N.(m}^{-3}.\text{d}^{-1})$ a to i přes vyšší vstupní koncentrace dusíku u provozních aplikací, přesto díky jejich až několikanásobně delším hydraulickým dobám zdržení se hodnoty objemového zatížení výrazně neliší. Výrazně vyšší objemové zatížení $7,03 \text{ kg N.(m}^{-3}.\text{d}^{-1})$ zaznamenali u aplikace v Rotterdamu (Van der Star et al., 2007), kde ale i s kratší hydraulickou dobou zdržení dosahují výstupní koncentrace dusíku mnohem vyšších hodnot než u ostatních aplikací.

3.2.4.6 Volný amoniak a volná kyselina dusitá

Také volný amoniak (FA - free ammonia) a volná kyselina dusitá (FNA - free nitrous acid) mohou mít inhibiční účinky. Amonný kationt NH_4^+ obtížně prostupuje přes buněčnou stěnu a cytoplazmatickou membránu anammox bakterií, ale volný amoniak ve formě NH_3 může prostupovat do těla bakterií mnohem snadněji (Kadam a Boone, 1996). Pro poměr mezi těmito dvěma formami je určující hodnota pH, s její vzrůstající hodnotou se zvyšuje množství volného amoniaku NH_3 podle rovnice: $\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- = \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$ (Kadam a Boone, 1996). Fernández et al. (2012) uvádí pro volný amoniak a anammox bakterie hodnotu IC_{50} při koncentraci $38 \text{ mg N-NH}_3 \cdot \text{l}^{-1}$. Hodnota pH má také vliv na poměr mezi volnou kyselinou dusitou a dusitany, se snižující se hodnotou pH vzrůstá také množství volné kyseliny dusité podle rovnice: $\text{HNO}_2 = \text{NO}_2^- + \text{H}^+$ (Jin et al., 2012). Koncentrace přibližně $1,5 \mu\text{g (HNO}_2\text{-N)} \cdot \text{l}^{-1}$ má za následek destabilizaci procesu, ale zjištěná hodnota pro anammox bakterie $\text{IC}_{50} = 11 \mu\text{g (HNO}_2\text{-N)} \cdot \text{l}^{-1}$ je vyšší (Fernández et al., 2012). Nicméně Puyol et al. (2014a) uvádí, že při hodnotách $\text{pH} > 7,1$ jsou dominantním inhibítorem disociované dusitany.

3.2.4.7 Velikost vloček kalu

Vliv na proces anaerobní oxidace N-amon má také velikost vloček kalu, Vlaeminck et al. (2009) pozorovali při kultivaci biomasy dvě morfologicky odlišné formy vloček kalu. První formou jsou pomalu sedimentující vločky o velikosti mezi 0,1 až 1,0 mm, druhou formou jsou rychle sedimentující větší vločky, granulovaná biomasa o velikosti přibližně 1,8 mm. Při kultivačních testech těchto dvou forem byla aerobní oxidace N-amon u menších vloček až desetinásobně vyšší než anoxická aktivita anammox bakterií. Proti tomu aerobní oxidace N-amon byla u větších vloček kalu prakticky stejná v poměru 1 : 1. Tento poměr je ideální pro vznik dostatečného množství dusitanů a uspokojivého průběhu procesu.

Z těchto výsledků je mimo jiné patrné, že i při sledování koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vodě a jeho vlivu na probíhající proces anaerobní oxidaci N-amon v jednodušných reaktorech je vhodné také sledovat morfologii vloček kalu. Jak již bylo zmíněno výše, rozpuštěný kyslík prostupuje difuzí do vloček kalu, nicméně čím je vločka aktivovaného kalu větší, tím méně rozpuštěného kyslíku prostupuje až k anammox bakteriím uvnitř.

3.2.4.8 Druhy anammox bakterií

Anammox bakterie zodpovědné za anaerobní oxidaci N-amon jsou chemolitoautotrofní organismy z řádu *Planctomycetale*, které jako první v roce 1999 identifikovali Strous et al. (1999b). Tyto bakterie rostou extrémně pomalu a svůj počet dle výzkumu zdvojnásobí jednou za 14 dnů. Hendrickx et al. (2012) uvádí růstovou rychlost při 20 °C $\mu = 0,040 \text{ d}^{-1}$, svůj počet tedy zdvojnásobí za 17 dnů. Strous et al. (1998) uvádějí větší růstovou rychlost $\mu = 0,068 \text{ d}^{-1}$ a tedy i kratší dobu zdvojnásobení počtu bakterií za 11 dnů. Van der Star et al. (2007) dosáhli pomocí určení kvantitativní polymerázové řetězové reakce obdobných výsledků zdvojnásobení počtu bakterií v rozmezí 9 - 17 dnů, ale přes tento pomalý růst anammox bakterií zaznamenali v určitých krátkých obdobích (2 - 3 dny) exponenciální růst rychlosti přeměny N-amon. Tyto výkyvy ale příkládají zotavení bakterií po inhibici a ne exponenciálnímu růstu biomasy.

V současné době je známo 6 rodů a celkem 19 druhů anammox bakterií. Mezi tyto rody patří *Candidatus Scalindua*, *Ca. Kuenenia*, *Ca. Brocardia*, *Ca. Anammoxoglobus*, *Ca. Jettenia*, a *Ca. Anammoximicrobium*. Tyto druhy se vyskytují smíšeně a není známa čistá kultura pouze jednoho druhu, ale díky různým technologickým přístupům ke kultivaci je možné dosáhnout až 90 % zastoupení jednoho druhu v biomase. Jednotlivé rody a druhy mají odlišnou fyziologii, kdy u nich můžeme najít rozdíly ve schopnosti snášet zvýšené obsahy kyslíku, síry, soli, vyšší teploty a další. Tyto rozdíly jsou například dobře patrné u anammox bakterií rodu *Candidatus Scalindua*, které se vyskytují v mořských sedimentech, jsou odolnější vůči salinitě a prospívají při nižších teplotách než ostatní rody (Ali a Okabe, 2015).

3.2.4.9 Vliv dalších látek na průběh anaerobní oxidace N-amon

Na aktivitu anammox bakterií a tím i na anaerobní oxidaci N-amon mají vliv i další faktory. Mezi látky s inhibujícím účinkem vyskytujících se ve splaškových odpadních vodách patří sulfidy, kdy hodnota IC_{50} pro H_2S je dle některých autorů velmi nízká 0,03 až 0,11 mmol.l^{-1} (Carvajal - Arroyo et al., 2013), Dapena - Mora et al. (2007) uvádějí hodnotu $IC_{50} = 0,3 \text{ mmol.l}^{-1}$ a Van de Graaf et al. (1996) uvádí podle způsobu dávkování inhibici 20 až 60 % při koncentraci 2 mmol.l^{-1} . Další látkou jsou fosfáty, Carvajal - Arroyo et al. (2013) uvádí hodnotu $IC_{50} = 25,3 \pm 5,9 \text{ mmol.l}^{-1}$, podobného výsledku $IC_{50} = 21 \text{ mmol.l}^{-1}$ dosáhli i Dapena - Mora et al. (2007), jiných výsledků dosáhli Van de Graaf et al. (1996), kteří pozorovali inhibici už při koncentraci 5 mmol.l^{-1} . Také zvýšená salinita má inhibiční účinek, v případě NaCl uvádějí Carvajal - Arroyo et al. (2013) hodnotu $IC_{50} = 92,7 \pm 4,3 \text{ mmol.l}^{-1}$,

jiní autoři nepozorovali žádné inhibiční účinky při koncentracích NaCl pod 150 mmol.l^{-1} a uvádějí vyšší hodnotu $IC_{50} = 230 \text{ mmol.l}^{-1}$ (Dapena - Mora et al., 2007). V případě dalších solí uvádějí autoři pro Na_2SO_4 a anammox bakterie hodnotu $IC_{50} = 80 \text{ mmol.l}^{-1}$ a pro KCl hodnotu $IC_{50} = 200 \text{ mmol.l}^{-1}$ (Dapena - Mora et al., 2007).

Dalšími látkami způsobujícím inhibici může být například chlorid rtuťnatý, 2,4 - dinitrofenol, acetylen (Jetten et al., 1999), methanol (Jensen et al., 2007) některá antibiotika jako penicilin, chloramfenikol, ampicilin (Van de Graaf et al., 1995).

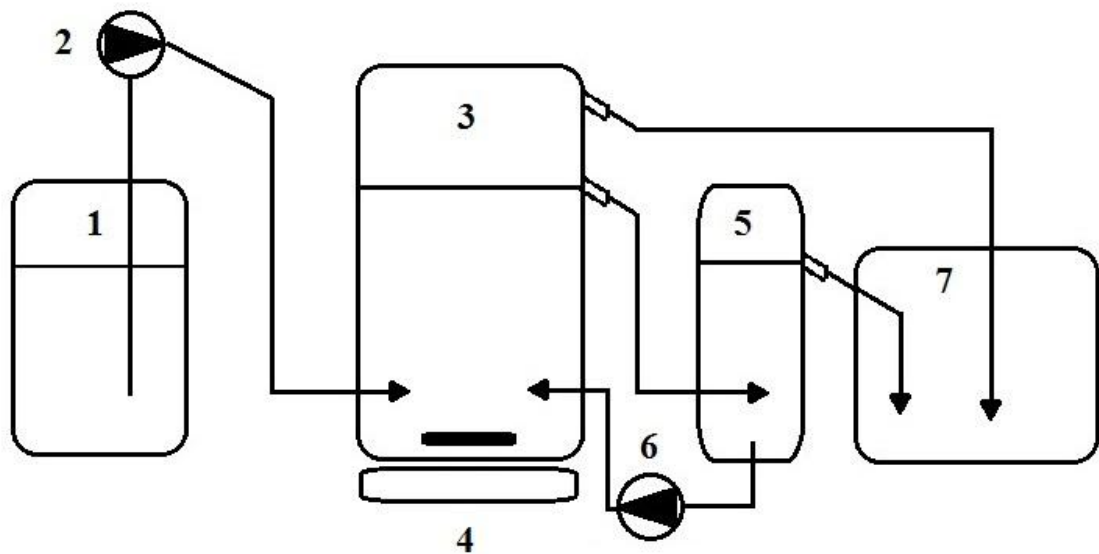
4. Materiál a metody

4.1. Založení pokusu a popis aplikace

Na začátku roku 2015 byl na Katedře agroenvironmentální chemie a výživy rostlin založen dlouhodobý pokus zaměřený na sledování vlivu změn teplot na probíhající laboratorní aplikaci anaerobní oxidace N-amon a činnost anammox bakterií. Pokus této práce se zabývá obdobím přibližně jednoho roku od 31. 3. 2016 do 27. 3. 2017, tedy v rozmezí 455. až 816. dne dlouhodobého pokusu a navazuje na předchozí výzkum shrnutý v diplomové práci Fridrichové (2016). Pro lepší přehlednost byl první den výzkumu popisovaného v této práci označen jako den 1. až po poslední den 361. Anammox bakterie použité při založení pokusu pocházejí z inokula z estonské univerzity v Tartu, kde byly v režimu SBR.

Pokus probíhal v reaktoru válcového tvaru v režimu se směšovací aktivací a ideálním promícháváním (CSTR kapitola 3.2.2.1) a s dosazovací nádrží o celkovém objemu 5 litrů. Schéma modelu je zobrazeno na Obr. č. 1 a fotografie modelu je na Obr. č. 2. Vstupní odpadní voda byla přiváděna z kanystru (1) do spodní části hlavního reaktoru (3) hadičkou pomocí peristaltického čerpadla (2). K zajištění dobrého promíchání a udržování kalu ve vznosu bylo použito válcovité magnetické míchadlo (4) na dně reaktoru. Výstupní voda byla z reaktoru odváděna samospádem do spodní části dosazovací nádrže (5). Z dosazovací nádrže byl kal recyklován zpět do reaktoru rychlostí 125 ml.h^{-1} pomocí výstupu ve spodní části dosazovací nádrže a peristaltického čerpadla (6). Dosazovací nádrž byla také každé tři hodiny provzdušňována po dobu jedné minuty, aby se zabránilo ucpání recirkulačního oběhu. Vyčištěná voda odcházela z dosazovacího reaktoru, stejně jako v případě hlavního reaktoru, samospádem díky výstupu umístěném v úrovni hladiny do odtokového kanystru (7). Pro případ ucpání samospádového odtoku z hlavního reaktoru byl umístěn ještě jeden samospádový odtok o několik centimetrů výš, který ústí do odtokového kanystru (7). Jak reaktor, tak i dosazovací nádrž byly uzavřeny poklopem, aby nedocházelo k přístupu vzduchu. Celá tato sestava byla umístěna v termostatové skříni s regulovatelnou teplotou.

Tato laboratorní aplikace měla simulovat dvoufázové technologické řešení anaerobní oxidace N-amon, kdy uměle připravovaná odpadní voda simulovala výstup z první fáze, kde probíhá nitritace. Druhou fází, kde probíhá samotná anaerobní oxidace N-amon představuje technologické řešení použité v této práci na Obr. č. 1.



Obr. č. 1 Schéma laboratorní aplikace. (1: Vstupní odpadní voda; 2: Peristaltické čerpadlo vstupní odpadní vody; 3: Hlavní reaktor; 4: Míchadlo; 5: Dosazovací nádrž; 6: Peristaltické čerpadlo recirkulačního okruhu; 7: Odtok)



Obr. č. 2 Fotografie laboratorní aplikace

4.2 Charakteristika vstupní odpadní vody

Vstupní odpadní voda byla připravována tak, aby simulovala výstup z reaktoru, kde probíhá nitritace. Byla uměle připravována z kalové vody vzniklé při odvodnění anaerobně stabilizovaného kalu z Ústřední čistírny odpadních vod v Praze na Císařském ostrově. Po stanovení koncentrace N-amon v této kalové vodě byla naředěna pitnou vodovodní vodou na příslušnou požadovanou koncentraci N-amon. Požadovaný poměr koncentrací N-amon a N-NO_2^- byl do 141. dne 1 : 1,25 a poté bylo přistoupeno k poměru 1 : 1,32 s pevně stanovenou koncentrací N-NO_2^- 150 mg.l^{-1} . Těmto poměrům odpovídala do 141. dne koncentrace 120 mg.l^{-1} N-amon a od 141. dne po úpravě poměru koncentrace 114 mg.l^{-1} N-amon. Požadované koncentrace dusitanů bylo dosaženo přidáním práškového dusitanu sodného. Vstupní koncentrace dusičnanů nebyla nijak upravována, nicméně se vyskytují v pitné kohoutkové vodě, ze které byla připravována vstupní voda. Hodnota pH jak ve vstupní vodě, tak ani v samotném reaktoru nebyla během pokusu nijak upravována. U kalové vody se mimo koncentrací N-amon sledovaly také koncentrace fosforu, chemická spotřeba kyslíku, kyselinová neutralizační kapacita, hodnota pH a nerozpuštěné látky uvedené v Tab. č. 3.

Tab. č. 3 Průměrné vlastnosti kalové vody z ÚČOV v Praze.

ph	KNK 4,5 (ml)	KNK 6,5 (ml)	P celk. (mg.l^{-1})	N-amon (mg.l^{-1})	CHSK homog. (mg.l^{-1})	CHSK odstř. (mg.l^{-1})	Nerozpuštěné látky (g.l^{-1})	Nerozpuštěné látky org. (g.l^{-1})
8,42	97,5	47,1	117	1250	2290	1668	0,27	0,25

4.3 Stanovení základních chemicko - fyzikálních vlastností

Po dobu průběhu výzkumu byla vždy v intervalech jednoho týdne sledována teplota v reaktoru pomocí laboratorního teploměru členěného po 0,5 °C, dále byla sledována hodnota pH pomocí přenosného přístroje WTW pH 340i s elektrodou WTW SenTix 21 - 2 a koncentrace kyslíku pomocí přenosného přístroje WTW Oxi 340i s elektrodou Cellox 325 - 3. Přesnost měření byla dle výrobce v případě pH $\pm 0,01$ pH a při měření kyslíku $\pm 0,5$ % z naměřené koncentrace. Dále se ve vstupní vodě v kanystru a výstupní vodě v dosazovací nádrži sledovaly koncentrace N-amon, N-NO_2^- , N-NO_3^- , CHSK. Přibližně

jednou za čtyři týdny byly stanovovány veškeré, rozpuštěné a nerozpuštěné látky a stanovení ztráty žiháním.

4.4 Analytické metody stanovení jednotlivých parametrů

Odebraný vzorek vody z kanystru se vstupní vodou a vzorek vody z dosazovacího reaktoru byl v plastových ampulích odstředěn (12 minut při 9500 otáčkách za minutu) v odstředivce Hettlich - Rotina 420. V případě potřeby byly vzorky ředěny v 50 ml odměrných baňkách přidáním demineralizované vody, aby bylo dosaženo koncentrací meze stanovitelnosti pro jednotlivé parametry stanovované pomocí spektrofotometru HACH DR/4000. Samotné vyhodnocení prováděl spektrofotometr automaticky na základě principu vycházejícího z Lambert - Beerova zákona a kalibračních křivek. Jednotlivá stanovení probíhala podle vybraných kapitol z Horákové a kol. (2003).

4.4.1 Stanovení koncentrací N-amon

Toto spektrofotometrické stanovení je založeno na reakci amoniaku, chlornanu a salicylanu za vzniku modré sloučeniny indofenolového typu v alkalickém prostředí. Tato modrá sloučenina je vhodná pro spektrofotometrické stanovení, nicméně opticky se jeví roztok zeleně díky žlutému zbarvení katalyzátoru nitroprusidu sodného. Samotné stanovení proběhlo jednu hodinu po přidání činidel ve skleněných kyvetách o průměru 1 cm a vlnové délce $\lambda = 655 \text{ nm}$ (Horáková a Ptáková, 2003).

4.4.2 Stanovení koncentrací N-NO₃⁻

Principem stanovení dusičnanového dusíku byla reakce s 2,6-dimethylfenolem v prostředí se silně koncentrovanou kyselinou sírovou a kyselinou dusičnou za vzniku červeného 4-nitro-2,6-dimethylfenolu, který umožňuje spektrofotometrické stanovení při vlnové délce $\lambda = 324 \text{ nm}$. Eliminaci rušivého vlivu přítomnosti dusitanů zajišťovalo přidání kyseliny amidosírové před aplikací ostatních činidel a měření absorbance probíhalo 10 minut po přidání všech činidel (Horáková a Ptáková, 2003).

4.4.3 Stanovení koncentrací N-NO₂⁻

Při vlnové délce $\lambda = 540 \text{ nm}$ se stanovovalo červené azobarvivo vzniklé reakcí NED - dihydrochloridu s diazoniovou solí, tato sůl vznikla v okyseleném prostředí kyselinou fosforečnou z amidu kyseliny sulfanilové a kyseliny dusité. Kyselina dusitá byla tvořena

dusitany ze vzorku a měření probíhalo 20 minut po přidání činidel (Horáková a Ptáková, 2003).

4.4.4 Stanovení koncentrací P

Stanovení koncentrace fosforu proběhla v předem připravených testovacích soupravách firmy Hach podle metody 8190 a následném stanovení v spektrofotometru.

4.4.5 Stanovení chemické spotřeby kyslíku dichromanem draselným

Stanovení CHSK (chemické spotřeby kyslíku) proběhlo takzvanou semimikrometodou podle Horákové (2003). Organické látky ve vzorku byly oxidovány ve zkumavkách se závitem dvě hodiny při 150 °C v mineralizačním boxu HACH DRB 200 dichromanem draselným v silně kyselém prostředí kyseliny sírové. Jako katalyzátor oxidace působily Ag^+ ionty přidáním síranu stříbrného a pro maskování chloridů se přidával síran rtuťnatý. Při vlnové délce $\lambda = 600 \text{ nm}$ se stanovovala koncentrace chromitého iontu vzniklého redukcí z dichromanu draselného, která je úměrná obsahu organických látek ve vzorku. Aby byly výsledky chemické spotřeby kyslíku (CHSK) relevantní, bylo nutné od nich odečíst koncentraci N-NO_2^- vynásobenou poměrem jejich relativních atomových hmotností (1,1422).

4.4.6 Stanovení veškerých, rozpuštěných a nerozpuštěných látek, stanovení ztráty žíháním

Odběr vzorků probíhal ze vstupní vody v kanystru a z reaktoru. Do předem zvážených hliníkových mističek se převedlo po 10 ml z každého neodstředěného vzorku a do dalších hliníkových mističek se převedlo po 10 ml každého odstředěného vzorku. Poté se na zahřáté plotýnce P-LAB CB 500 na vodní lázni odpařila voda a vzorky byly vysušeny v sušárně BMT Ecocell při 105 °C po dobu 2 hodin do konstantní hmotnosti. Dále byly ze sušárny přesunuty do exsikátoru a po vyrovnání teplot opět zváženy. Pak se hliníkové mističky s odparkem umístily do muflové pece na 1 hodinu při 550 °C, po ochlazení a vyrovnání teplot v exsikátoru se mističky opět zvážíly (Kolerová, 2003).

4.5 Výpočty

Výpočty hydraulické doby zdržení, objemového zatížení, účinnosti odstranění znečišťujících látek a objemové rychlosti odstranění znečišťujících složek proběhly dle rovnic uvedených v Chudoba a kol. (1991). Výpočet obsahu volné kyseliny dusité (FNA) a volného

amoniaku (FA) proběhl dle rovnic uvedených v Corral et al. (2005). K samotným výpočtům byl použit software Microsoft Excel 2005, ke tvorbě grafů byl použit software Statistica 12 StatSoft.

Hydraulická doba zdržení (den)

$$\Theta_1 = \frac{V}{Q_1} \quad V = \text{objem nádrže (m}^3\text{)}$$

$$Q_1 = \text{přítok odpadní vody (m}^3\text{.d}^{-1}\text{)}$$

Objemové zatížení (kg.m⁻³.d⁻¹)

$$B_V = \frac{Q_1 \times C_1}{V} \quad Q_1 = \text{přítok odpadní vody (m}^3\text{.d}^{-1}\text{)}$$

$$C_1 = \text{koncentrace látky ve vstupní vodě (kg.m}^{-3}\text{)}$$

$$V = \text{objem nádrže (m}^3\text{)}$$

Účinnost odstranění znečišťujících látek (%)

$$E = \frac{C_1 - C_2}{C_1} \times 100 \quad C_1 = \text{koncentrace látky ve vstupní vodě (kg.m}^{-3}\text{)}$$

$$C_2 = \text{koncentrace odtokového znečištění ve vodě (kg.m}^{-3}\text{)}$$

Objemová rychlost odstranění (kg.m⁻³.d⁻¹)

$$r_V = \frac{Q_1 \times (C_1 - S_2)}{V} \quad Q_1 = \text{přítok odpadní vody (m}^3\text{.d}^{-1}\text{)}$$

$$C_1 = \text{koncentrace látky ve vstupní vodě (kg.m}^{-3}\text{)}$$

$$S_2 = \text{koncentrace odtokového znečištění ve vodě (kg.m}^{-3}\text{)}$$

$$V = \text{objem nádrže (m}^3\text{)}$$

Volný amoniak (FA) (mg.l⁻¹)

$$FA = \frac{14}{17} \times \frac{C_{N\text{-amon}} \times 10^{\text{pH}}}{e^{\left(\frac{6344}{273+T}\right)} + 10^{\text{pH}}} \quad C_{N\text{-amon}} = \text{koncentrace N-amon (mg.l}^{-1}\text{)}$$

$$T = \text{teplota v reaktoru (}^\circ\text{C)}$$

Volná kyselina dusitá (FNA) (mg.l⁻¹)

$$FNA = \frac{46}{14} \times \frac{NO_2^- - N}{e^{\left(\frac{2300}{273+T}\right) \times 10^{pH}}} \quad NO_2^- - N = \text{dusitanový dusík (mg.l}^{-1}\text{)}$$

T = teplota v reaktoru (°C)

4.6 Řízení změn teplot a rozdělení na jednotlivé etapy

Pro lepší přehlednost a vyhodnocení jednotlivých specifických částí byl pokus rozdělen do čtyř etap podle řízených změn teplot. Jednotlivé změny nastavení teplot v termostatové skříni jsou uvedeny v Tab. č. 4. Etapa I. trvala od 31. 3. 2016 do 15. 6. 2016, etapa II. od 15. 6. 2016 do 19. 8. 2016, etapa III. od 19. 8. 2016 do 8. 11. 2016 a poslední etapa IV. od 8. 11. 2016 do 27. 3. 2017. Trvání etap a počet dnů je souhrnně uveden v Tab. č. 5. Rozdělení na jednotlivé etapy je v grafech znázorněno pomocnými čarami na ose x.

Tab. č. 4 Změny nastavení teplot v termostatové skříni

Datum změny	teplota (°C)	Datum změny	teplota (°C)
31. 3. 2016	25	8. 11. 2016	30 → 25
15. 6. 2016	25 → 21,5	12. 12. 2016	25 → 21
22.6. 2016	21,5 → 20,5	13. 1. 2017	21 → 20
21. 7. 2016	20,5 → 19,5	30. 1. 2017	20 → 19
19. 8. 2016	19,5 → 30	23. 2. 2017	19 → 18

Tab. č. 5 Doba trvání jednotlivých etap

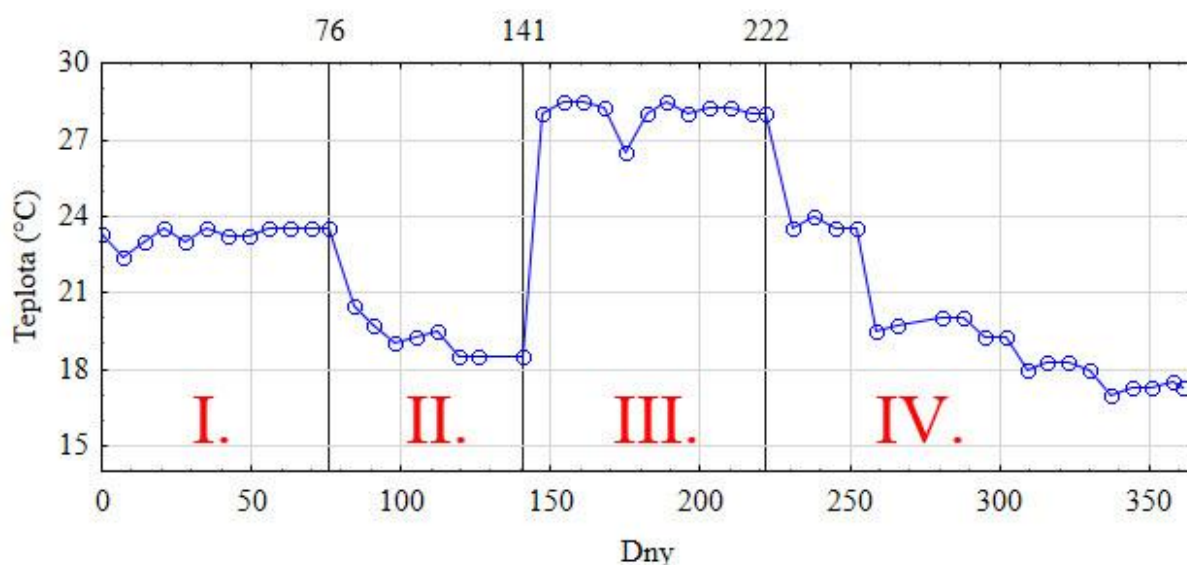
Etapa	Datum trvání	Dny
I.	31. 3. 2016 - 15. 6. 2016	1. - 76.
II.	15. 6. 2016 - 19. 8. 2016	76. - 141.
III.	19. 8. 2016 - 8. 11. 2016	141. - 222.
IV.	8. 11. 2016 - 27. 3. 2017	222. - 361.

5 Výsledky

5.1 Teplota

Teplota v reaktoru se upravovala nastavováním hodnoty v termostatové skříni, nicméně reálná teplota byla vždy přibližně o 1 °C nižší a i přes pevně nastavenou teplotu docházelo k výkyvům v řádu $\pm 0,5$ °C. Během I. etapy od 1. do 76. dne byla konstantní teplota v rozmezí 22,5 °C až 23,5 °C, během které mělo dojít ke stabilizaci procesu anaerobní oxidace N-amon. Ve II. fázi došlo ke snížení teplot, nejprve došlo k výraznému poklesu mezi 76. a 83. dnem o 3 °C na 20,5 °C, pokles poté pokračoval pomaleji až do 117. dne na 18,5 °C. Tato teplota byla konstantní do 141. dne, kdy proběhlo skokové zvýšení teploty na základě zvýšení některých sledovaných parametrů, které značí zhoršení průběhu anaerobní oxidace N-amon. Ve III. fázi se teplota k 141. dni zvýšila na 28,5 °C, aby došlo opět ke stabilizaci procesu. Až do 222. dne byla stabilní teplota $28 \pm 0,5$ °C, nicméně během týdne od 175. do 183. dne došlo k poklesu teploty o 2 °C. Poslední IV. fáze byla typická postupným poklesem teplot. Nejprve ke 222. dnu došlo ke snížení teploty o 4,5 °C na 23,5 °C a tato teplota s mírnou výchytkou o + 0,5 °C byla až do 251. dne, kdy byl další pokles teploty o 4 °C na 19,5 °C. Tato teplota s mírnou výchytkou byla stabilní do 302. dne, poté opět poklesla a pohybovala se v rozmezí $18 \pm 0,25$ °C. Další pokles byl 329. dne pokusu na 17 °C, tato teplota byla stabilní až do konce pokusu s výchytkou $\pm 0,5$ °C. Výkyvy teplot s rozdělením na jednotlivé etapy jsou uvedeny v Grafu č. 1.

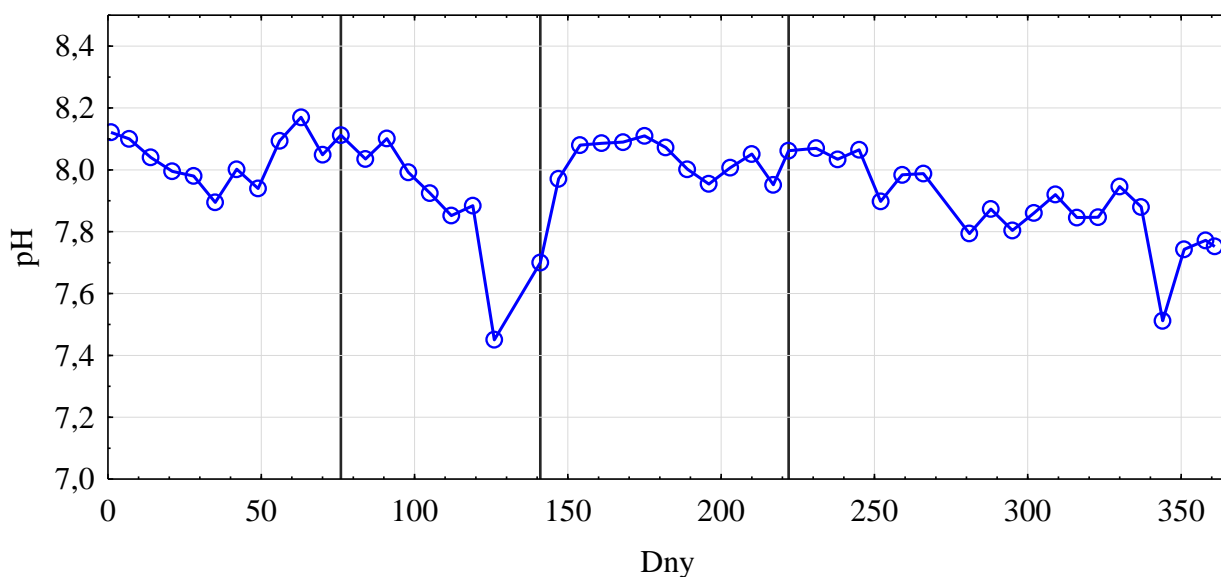
Graf č. 1 Vývoj změn teplot a rozdělení na jednotlivé etapy.



5.2 Hodnota pH

V I. etapě se pohybovala hodnota pH v reaktoru rozmezí od 7,9 do 8,1. Ve druhé etapě došlo k výraznému poklesu hodnoty pH z 8,1 88. dne až na 7,4 v 126. dni pokusu. Poté začala hodnota pH strmě stoupat, až se ve třetí etapě dostala na hodnotu 8,1 a nijak výrazně nekolísala. Ve IV. etapě nastal pomalý pokles z pH 8 na přibližně 7,8 - 7,9 a tato hodnota byla stálá až do 343 dne, kdy nastal výrazný pokles až na pH 7,5. Vývoj změny hodnot pH je uveden v Grafu č. 2.

Graf č. 2 Vývoj změn hodnoty pH



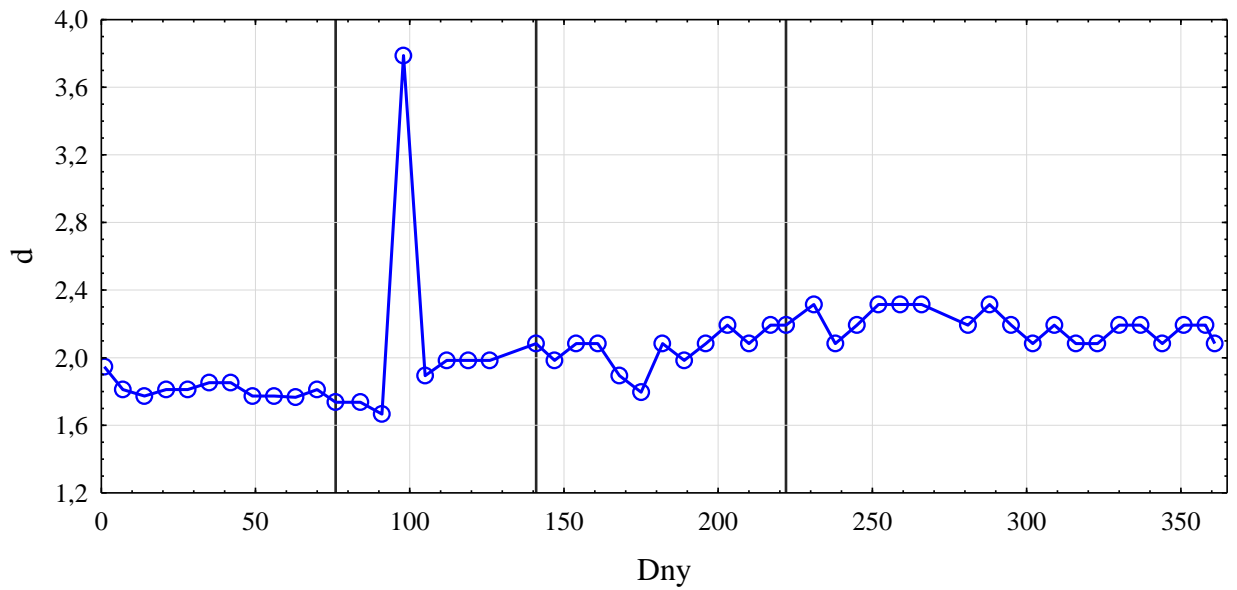
5.3 Hodnota O₂

Hodnota koncentrace O₂ nebyla nijak upravována a v průběhu práce se pohybovala od 0 do 0,15 mg.l⁻¹, průměrná koncentrace byla 0,048 mg.l⁻¹.

5.4 Hydraulická doba zdržení

Hydraulická doba zdržení (Graf č. 3) se pohybovala kromě jednoho případu v rozmezí od 1,66 do 2,31 dne, v průměru 2,02 dne. V případě 95. dne došlo k ucpání hadičky přívodu vstupní vody a tím i sníženého průtoku, proto vystoupala hydraulická doba zdržení až na 3,78 dne.

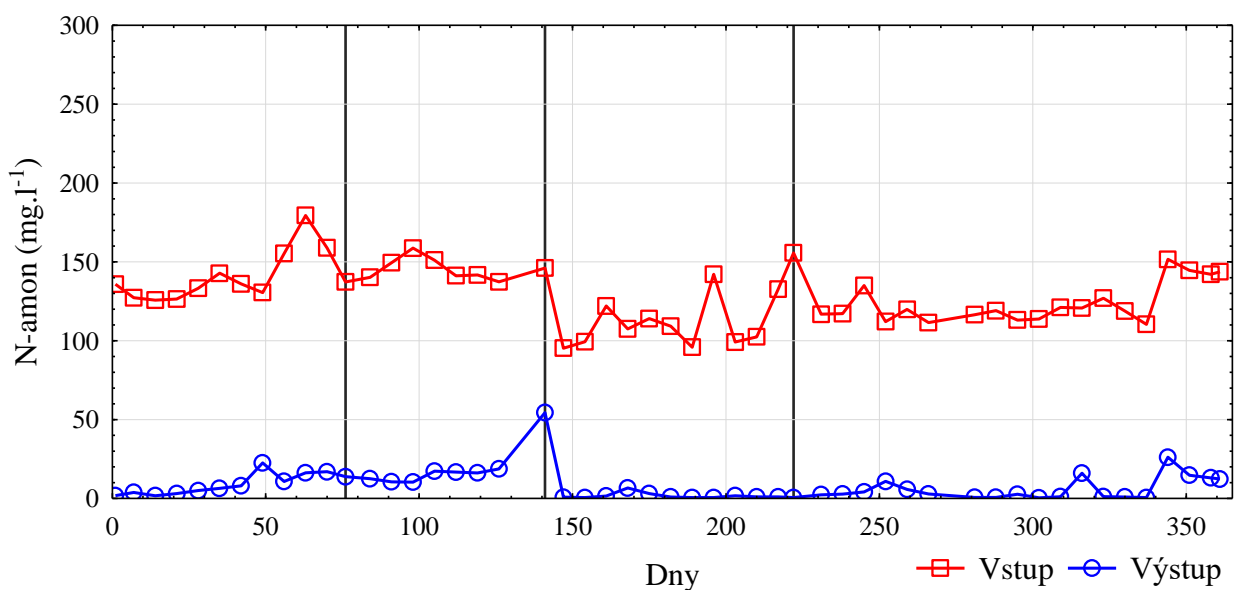
Graf č. 3 Hydraulická doba zdržení



5.5 Koncentrace N-amon

Průměrná vstupní koncentrace za celou dobu pokusu byla 131 mg.l^{-1} . Během I. etapy se koncentrace N-amon pohybovala od 126 do 179 mg.l^{-1} , ve II. etapě byly koncentrace v rozmezí 140 až 159 mg.l^{-1} . Ve III. etapě byly stanovené koncentrace nižší, pohybovaly se v rozmezí od 95,3 do 156 mg.l^{-1} . V poslední IV. etapě byly koncentrace v rozmezí od 111 do 152 mg.l^{-1} , nejvyšší koncentrace v této etapě byla stanovena 336. dne. Stanovené vstupní koncentrace jsou uvedeny v Grafu č. 4.

Graf č. 4 Vstupní a výstupní koncentrace N-amon



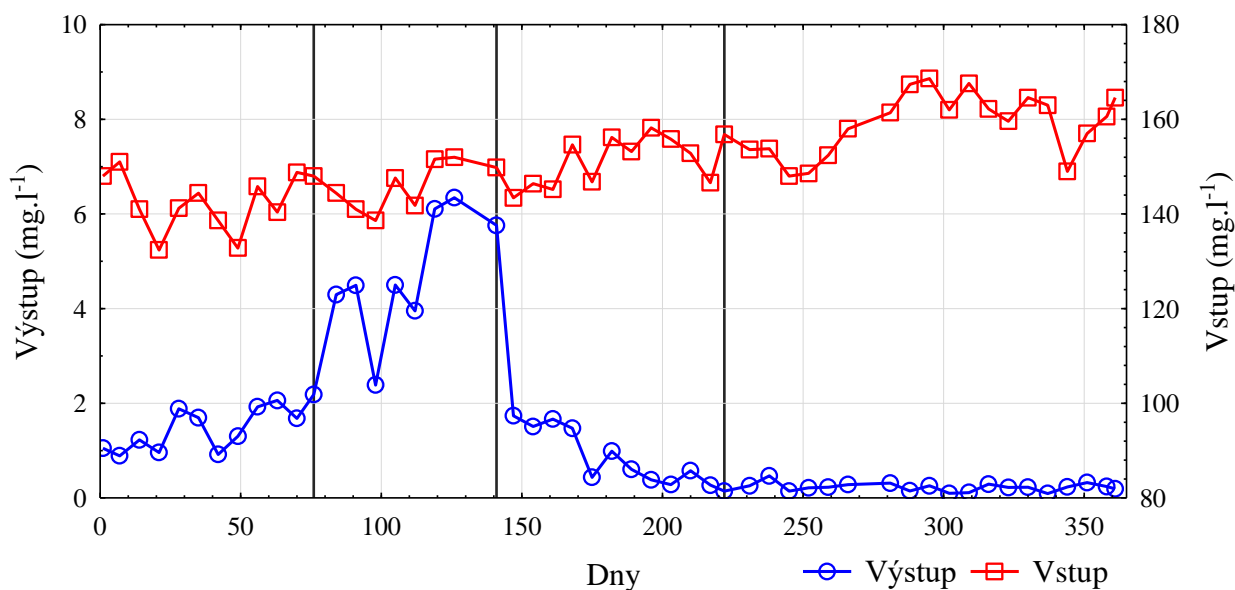
Výstupní koncentrace N-amon na začátku I. etapy byla $< 10 \text{ mg.l}^{-1}$, 48. den došlo ke zvýšení na $22,5 \text{ mg.l}^{-1}$ a až do konce etapy byla $> 10 \text{ mg.l}^{-1}$. Ve II. etapě byla koncentrace v rozmezí $10,4 - 18,8 \text{ mg.l}^{-1}$ a až poslední den etapy došlo ke znatelnému zvýšení na $54,4 \text{ mg.l}^{-1}$. Na začátku III. etapy byla zvýšena teplota na $28,5 \text{ }^\circ\text{C}$ a s tím i klesla koncentrace N-amon pod 2 mg.l^{-1} . Sto šedesátý osmý den dosáhla koncentrace na $6,71 \text{ mg.l}^{-1}$, nicméně toto zvýšení bylo pouze krátkodobé a průměrná koncentrace během této etapy byla $1,6 \text{ mg.l}^{-1}$. Ve IV. etapě došlo k postupnému snižování teploty a i ke kolísání koncentrací N-amon. Nejprve nastalo narůstání koncentrace na $10,9 \text{ mg.l}^{-1}$ 251. dne pokusu, poté pokles na nižší koncentrace a 314. den při teplotě $18,25 \text{ }^\circ\text{C}$ byl další výrazný nárůst na koncentraci $16,0 \text{ mg.l}^{-1}$. Poté opět koncentrace poklesla a to až na $0,529 \text{ mg.l}^{-1}$ (337. den), 344. den při teplotě $17,25 \text{ }^\circ\text{C}$ narostla skokově koncentrace na $26,2 \text{ mg.l}^{-1}$ a pak 350. dne klesla koncentrace na $14,7 \text{ mg.l}^{-1}$. Stanovené výstupní koncentrace jsou uvedeny v Grafu č. 4.

5.6 Koncentrace N-NO₂⁻

Průměrná vstupní koncentrace za celou dobu pokusu byla 151 mg.l^{-1} a pohybovala se v rozmezí 132 až 169 mg.l^{-1} . Reálně byla vstupní voda připravována s požadovanou koncentrací 150 mg.l^{-1} .

Výstupní koncentrace dusitanového dusíku byly podstatně nižší, průměr za celou dobu pokusu byl $1,37 \text{ mg.l}^{-1}$. V I. etapě byla koncentrace v rozmezí $0,890$ až $2,18 \text{ mg.l}^{-1}$, se snížením teploty ve II. etapě přišlo i zvýšení koncentrací až na $6,34 \text{ mg.l}^{-1}$ 126. dne pokusu. Spolu se zvýšením teploty ve III. etapě došlo k postupnému snížení stanovených koncentrací dusitanů až na $0,140 \text{ mg.l}^{-1}$ poslední den etapy. Ve IV. etapě během postupného poklesu teploty k $17 \text{ }^\circ\text{C}$ byla koncentrace dusitanového dusíku velmi nízká v rozmezí $0,097$ až $0,460 \text{ mg.l}^{-1}$. Koncentrace dusitanového dusíku jsou uvedeny v Grafu č. 5.

Graf č. 5 Vstupní a výstupní koncentrace N-NO₂⁻

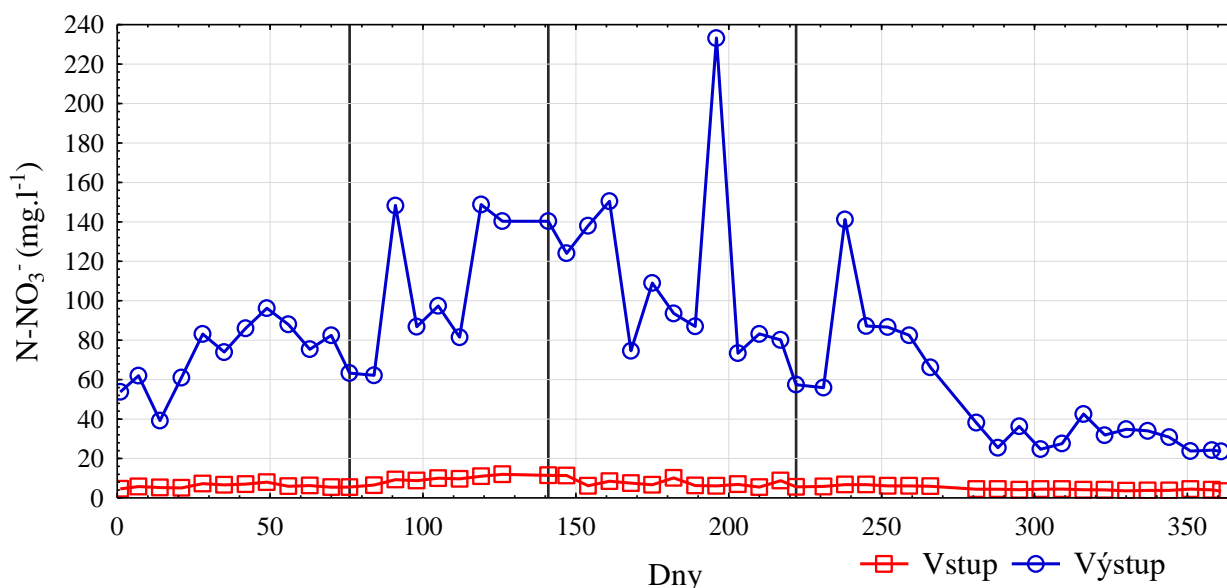


5.7 Koncentrace N-NO₃⁻

Vstupní koncentrace v I. etapě byla v rozmezí 4,61 až 8,01 mg.l⁻¹, ve II. etapě byly koncentrací vyšší a pohybovaly se v rozmezí 6,49 až 12,0 mg.l⁻¹. Během třetí etapy byla koncentrace v rozmezí 5,63 až 11,4 mg.l⁻¹ a v poslední IV. etapě bylo rozpětí nejužší od 3,62 do 6,76 mg.l⁻¹.

Výstupní koncentrace dusičnanového dusíku byla vyšší než ve vstupní vodě, v I. etapě se pohybovala od 39,2 do 96,2 mg.l⁻¹, ve II. etapě spolu se snižováním teploty přišlo znatelné zvýšení až na koncentraci 149 mg.l⁻¹ (117 den). Po zvýšení teploty v reaktoru došlo ve III. etapě k postupnému snižování koncentrace až na 57,5 mg.l⁻¹ (222. den), nicméně 195. den byla stanovená koncentrace skokově vyšší 233 mg.l⁻¹. Ve IV. etapě po snížení teploty došlo sice nejprve ke zvýšení koncentrace na 141 mg.l⁻¹ (236. den), ale poté postupně klesla pod 50 mg.l⁻¹. Stanovené koncentrace jsou uvedeny v Grafu č. 6

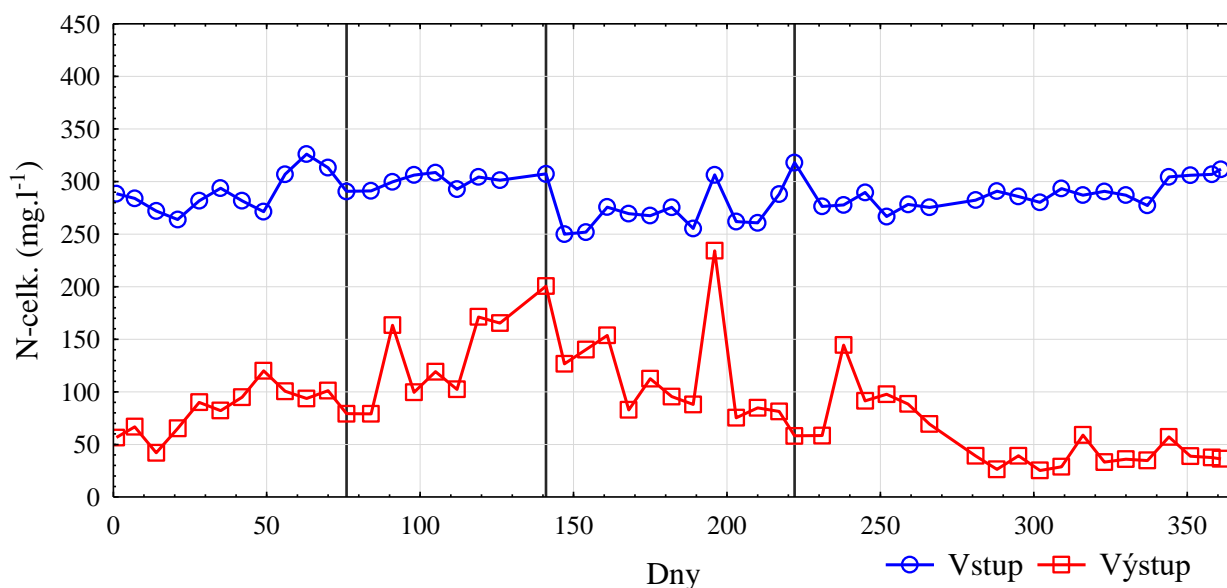
Graf č. 6 Vstupní a výstupní koncentrace N-NO₃⁻



5.8 Koncentrace celkového dusíku

Koncentrace N-celk. uvedené v Grafu č. 7 jsou sumou N-amon, N-NO₂⁻ a N-NO₃⁻. Pro lepší rozpoznání vlivu jednotlivých složek na N-celk. jsou v Grafu č. 8 a v Grafu č. 9 uvedeny všechny tři sledované formy dusíku jak ve vstupní vodě, tak i na výstupu z reaktoru. Z nich je patrné, že největší podíl na sumě vstupního N-celk. mají přidávané dusitany a N-amon, u výstupní sumy koncentrací má největší vliv dusičnanový dusík a v některých případech N-amon.

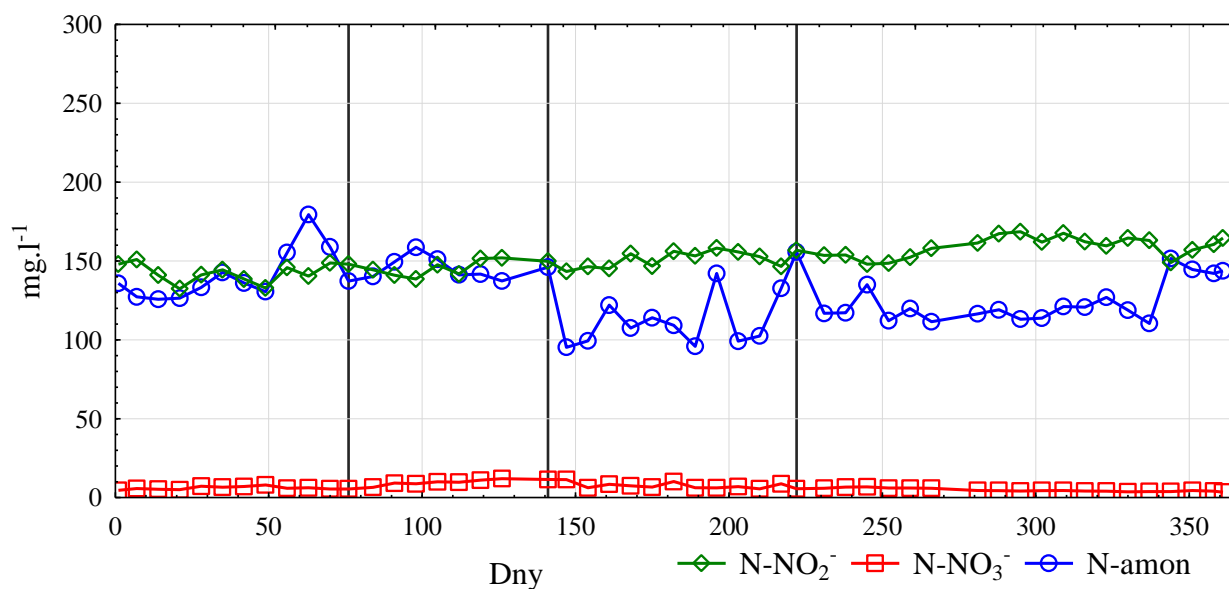
Graf č. 7 Koncentrace N-celk.



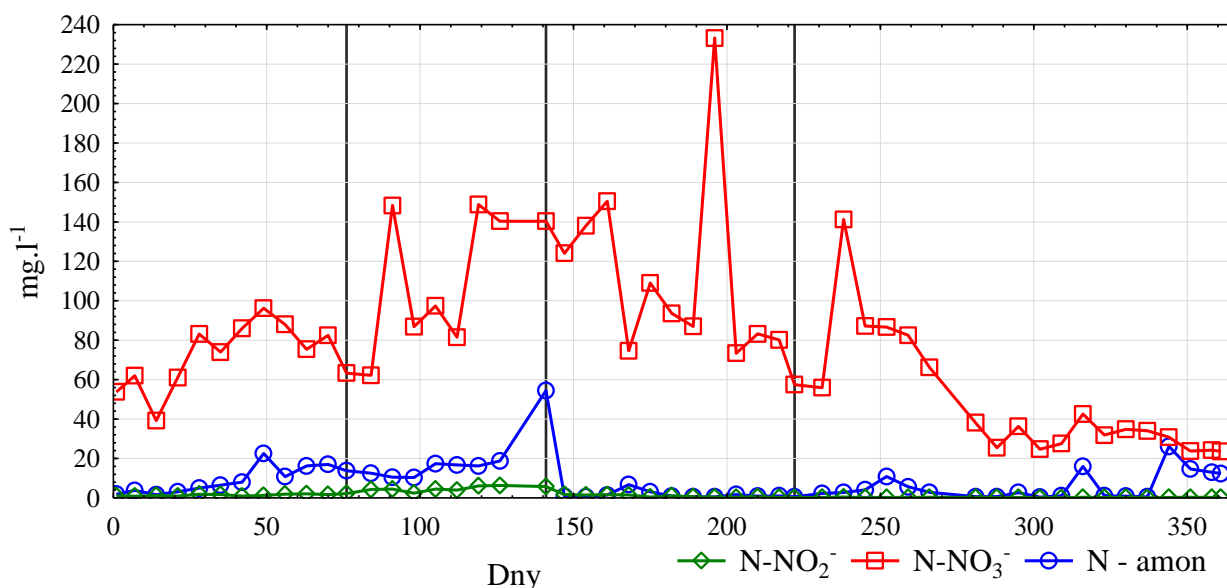
Vstupní koncentrace celkového dusíku v I. etapě byly v rozmezí 272 až 326 mg.l⁻¹, ve II. etapě v rozmezí 291 až 309 mg.l⁻¹. Během III. etapy byly koncentrace v širším rozpětí 250 až 306 mg.l⁻¹ a v poslední IV. etapě byly bez výraznějších výkyvů v rozmezí 250 až 318 mg.l⁻¹. Průměrná vstupní koncentrace za všechny etapy byla 286 mg.l⁻¹, přičemž připravovaná vstupní voda měla mít v prvních dvou etapách v součtu N-NO₂⁻ a N-amon 270 mg.l⁻¹ a v dalších dvou etapách 264 mg.l⁻¹.

Výstupní koncentrace N-celk. I. etapy měla nejprve stoupavou tendenci a poté se ustálila kolem 100 mg.l⁻¹, ve II. etapě během snižování teploty nastalo další zvyšování koncentrace až na 201 mg.l⁻¹ 141. dne pokusu, zvláště díky skokovému zvýšení koncentrace N-amon. Během III. etapy, kdy byla zvýšena teplota na 28 ± 0,5 °C, měla koncentrace N-celk. převážně sestupnou tendenci až na skokové zvýšení 195. den díky zvýšené koncentraci N-NO₃⁻. Na konci etapy 222. den byla koncentrace 58,2 mg.l⁻¹. Ve IV. etapě došlo společně se snižováním teploty nejprve k nárůstu koncentrace N-celk. díky zvýšeným koncentracím N-NO₃⁻ a poté k poklesu. Od 281. dne byla koncentrace pod 50 mg.l⁻¹ kromě 314. a 343. dne, kdy společně s dalším snižováním teploty došlo díky krátkodobému zvýšení koncentrací N-amon a N-NO₃⁻ také ke zvýšení N-celk. na 58,8 a 57,2 mg.l⁻¹.

Graf č. 8 Vstupní koncentrace N-amon, N-NO₂⁻, N-NO₃⁻



Graf č. 9 Výstupní koncentrace N-amon, N-NO₂⁻, N-NO₃⁻



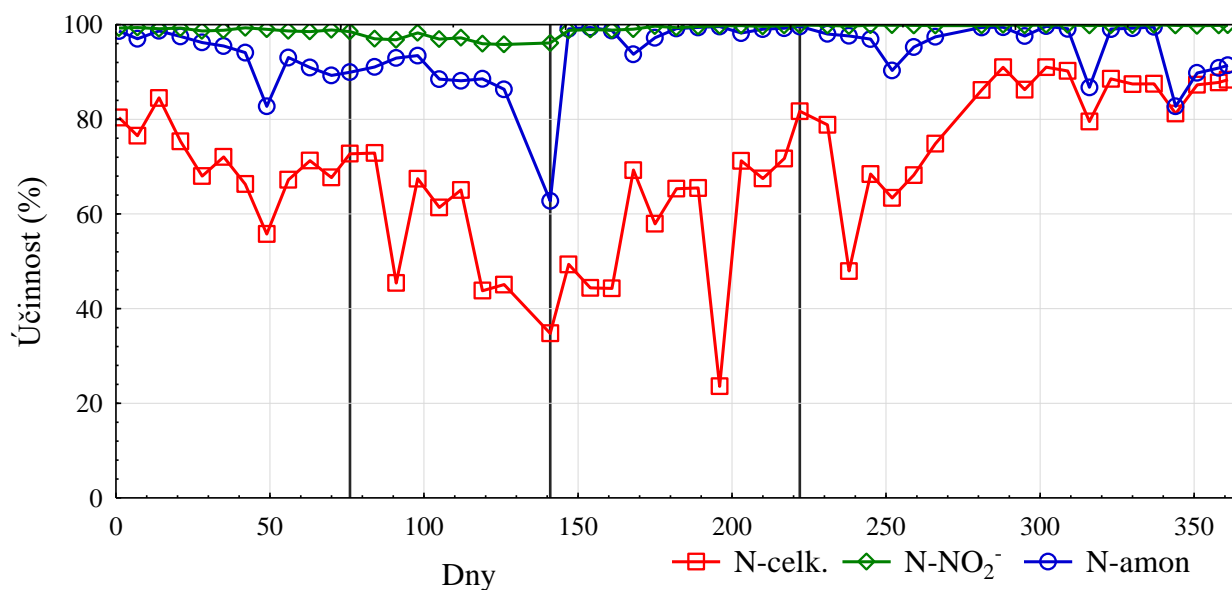
5.9 Účinnost odstranění forem dusíku

Účinnosti odstranění N-NO₂⁻, N-amon a N-celk. jsou uvedeny v Grafu č. 10. Účinnost odstranění v případě N-NO₂⁻ byla po celou dobu velmi vysoká, v I. III. a IV. etapě byla účinnost většinou nad 99 % a průměr z těchto tří etap byl 99,5 %. Pouze ve II. etapě byla účinnost odstranění nižší, průměr za tuto etapu byl 96,7 %.

Účinnost odstranění N-amon byla během I. etapy v rozmezí 82,7 až 98,7 % a měla mírně klesající tendenci. Na konci II. etapy společně s poklesem teploty byl výrazný pokles na 62,7 % (141. den), po zvýšení teploty se účinnost odstranění zvýšila a ve III. etapě byla v rozmezí 93,8 až 99,6 %. V poslední IV. etapě během postupného snižování teploty nastaly dva výraznější poklesy účinnosti odstranění v 314. a 343. den na 86,8 a 82,7 %.

V případě N-celk. byla účinnost odstranění v I. etapě v rozmezí 55,8 až 84,5 %, nicméně průměrná rychlost byla 71,5 mg.l⁻¹. Ve II. etapě přišel na jejím konci (141. den) výrazný pokles až na 34,8 % také díky poklesu účinnosti odstranění N-amon. Ve III. etapě spolu se zvýšením teploty měla účinnost spíše stoupající tendenci až na výrazný pokles 195. den na 23,6 % díky zvýšené koncentraci N-NO₃⁻, poslední den etapy (222. den) byla účinnost nejvyšší (81,7 %). Ve IV. etapě spolu s postupným snižováním teploty přišel nejprve výrazný pokles účinnosti odstranění až na 48,0 %, poté se ale klesající tendence obrátila a od 281. do 361. dne byla účinnost velice vysoká a stabilní v rozmezí 79,5 až 91,0 %.

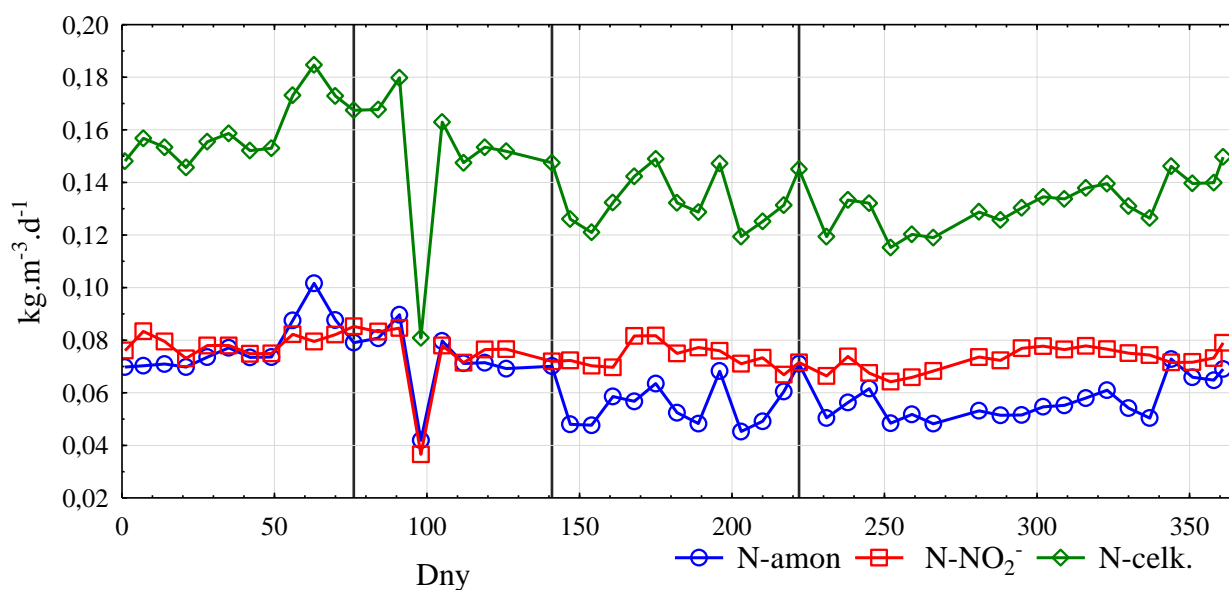
Graf č. 10 Účinnost odstranění N-celk., N-amon, N-NO₂⁻



5.10 Objemové zatížení

Objemové zatížení (Graf č. 11) N-amon, N-celk. a N-NO₂⁻ bylo stabilní kromě 95. dne, kdy nastal výrazný pokles objemového zatížení všech tří sledovaných forem dusíku způsobený sníženým průtokem vstupní vody díky ucpání hadičky přivádějící vstupní vodu. U N-amon a N-celk. nastal pokles mezi II. a III. etapou snížením požadované vstupní koncentrace N-amon o 6 mg.l⁻¹. Kromě 95. dne bylo objemové zatížení pro N-amon v I. a II. etapě v rozmezí 0,069 až 0,101 kg.m⁻³.d⁻¹ s průměrem 0,077 kg.m⁻³.d⁻¹ a pro N-celk. v rozmezí 0,146 až 0,185 kg.m⁻³.d⁻¹ s průměrem 0,160 kg.m⁻³.d⁻¹. Ve III. a IV. etapě bylo objemové zatížení pro N-amon v rozmezí 0,045 až 0,072 kg.m⁻³.d⁻¹ s průměrem 0,056 kg.m⁻³.d⁻¹ a pro N-celk. v rozmezí 0,147 až 0,115 kg.m⁻³.d⁻¹ s průměrem 0,132 kg.m⁻³.d⁻¹. Objemové zatížení N-NO₂⁻ bylo kromě 95. dne velice stabilní v rozmezí 0,065 až 0,082 kg.m⁻³.d⁻¹. Průměrné objemové zatížení N-amon během celého pokusu bez započítání hodnoty z 95. dne bylo 0,064 kg.m⁻³.d⁻¹.

Graf č. 11 Objemové zatížení N-amon, N - celk a N-NO₂⁻



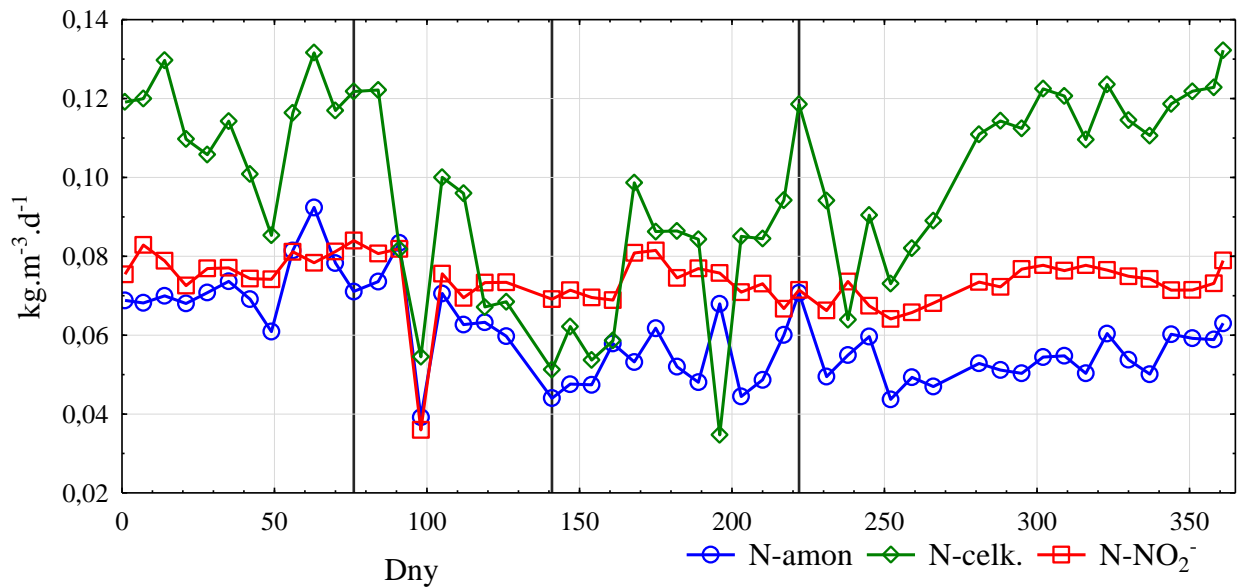
5.11 Objemová rychlost odstranění

Objemové rychlosti odstranění N-amon, N-NO₂⁻ a N-celk. jsou uvedeny v Grafu č. 12. Rychlost odstranění N-amon byla v I. etapě v rozmezí 0,060 až 0,092 kg.m⁻³.d⁻¹, ve II. etapě došlo 95. den k výraznému výkyvu při poklesu na 0,039 kg.m⁻³.d⁻¹, poté se objemová rychlost odstranění zvýšila a poslední den etapy byla 0,043 kg.m⁻³.d⁻¹ (141. den). Během III. a IV. etapy byla objemová rychlost odstranění bez výraznějších výkyvů v rozmezí 0,043 až 0,070 kg.m⁻³.d⁻¹.

Rychlost odstranění N-NO₂⁻ byla velice stabilní, pouze 95. den došlo k poklesu na 0,035 kg.m⁻³.d⁻¹, celková průměrná rychlost odstranění byla 0,073 kg.m⁻³.d⁻¹.

V případě N-celk. byly větší rozdíly v rychlosti odstranění. Během I. etapy se pohybovaly v rozmezí 0,085 až 0,131 kg.m⁻³.d⁻¹, ve II. etapě došlo také 95. den ke skokovému snížení na 0,054 kg.m⁻³.d⁻¹, jinak během etapy došlo k postupnému snížení z 0,122 na 0,051 kg.m⁻³.d⁻¹. Další III. etapu bylo rozmezí rychlostí odstranění od 0,034 do 0,094 kg.m⁻³.d⁻¹. V poslední IV. etapě spolu se snižováním teploty došlo nejprve ke snížení rychlosti odstranění a poté od 251. dne měla stoupající tendenci. Rozmezí rychlostí odstranění v poslední etapě bylo od 0,063 do 0,121 kg.m⁻³.d⁻¹.

Graf č. 12 Objemová rychlost odstranění N-amon, N-NO₂⁻, N-celk.

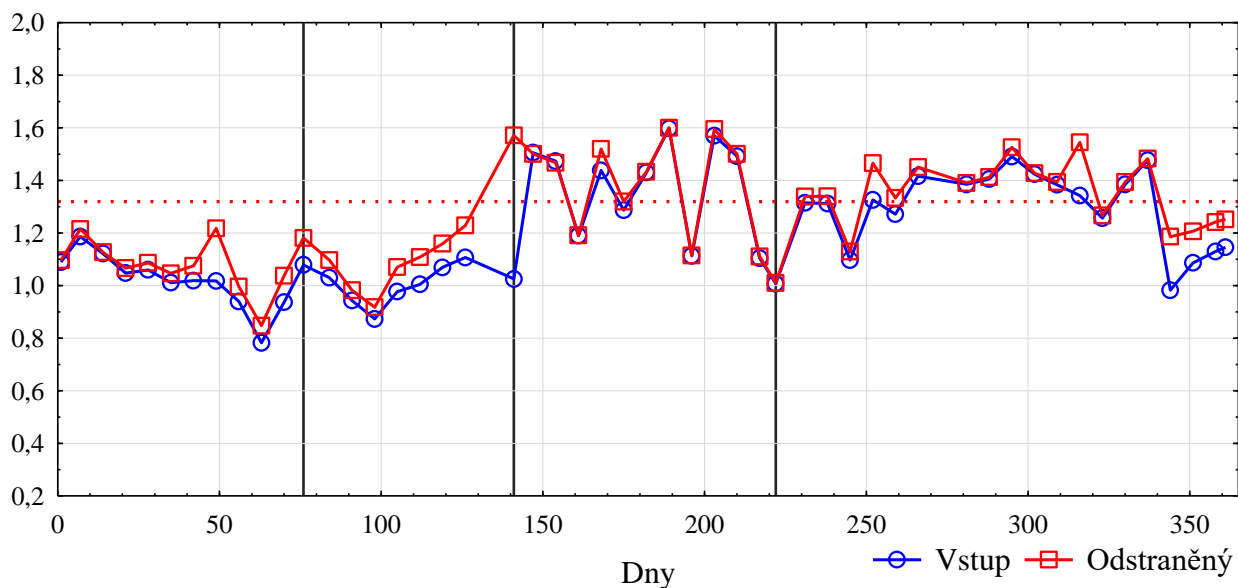


5.12 Poměr N-NO₂⁻ a N-amon

Ideální udávaný poměr mezi N-NO₂⁻ a N-amon pro průběh anaerobní oxidace N-amon je 1,32 : 1. Výsledný vstupní poměr je uveden v Grafu č. 13 spolu s vyznačeným optimálním poměrem na ose y. V etapách I. a II. byl tento poměr nižší než optimální a pohyboval se v rozmezí od 0,78:1 po 1,18 : 1 s průměrem 1,02 : 1. V dalších dvou etapách III. a IV. se už poměr pohyboval kolem optimální hodnoty, rozmezí během těchto etap sice bylo od 1:1 po 1,59 : 1, ale průměrný poměr byl 1,32 : 1.

Poměr odstraněného N-NO₂⁻ a oxidovaného N-amon byl stejně jako v případě vstupního poměru v etapách I. a II. většinu času pod ideálním poměrem v rozmezí od 0,84 : 1 do 1,57 : 1 s průměrem 1,11 : 1. Během III. a IV. etapy byl poměr v rozmezí od 1,01 : 1 do 1,48 : 1 s průměrem 1,36 : 1.

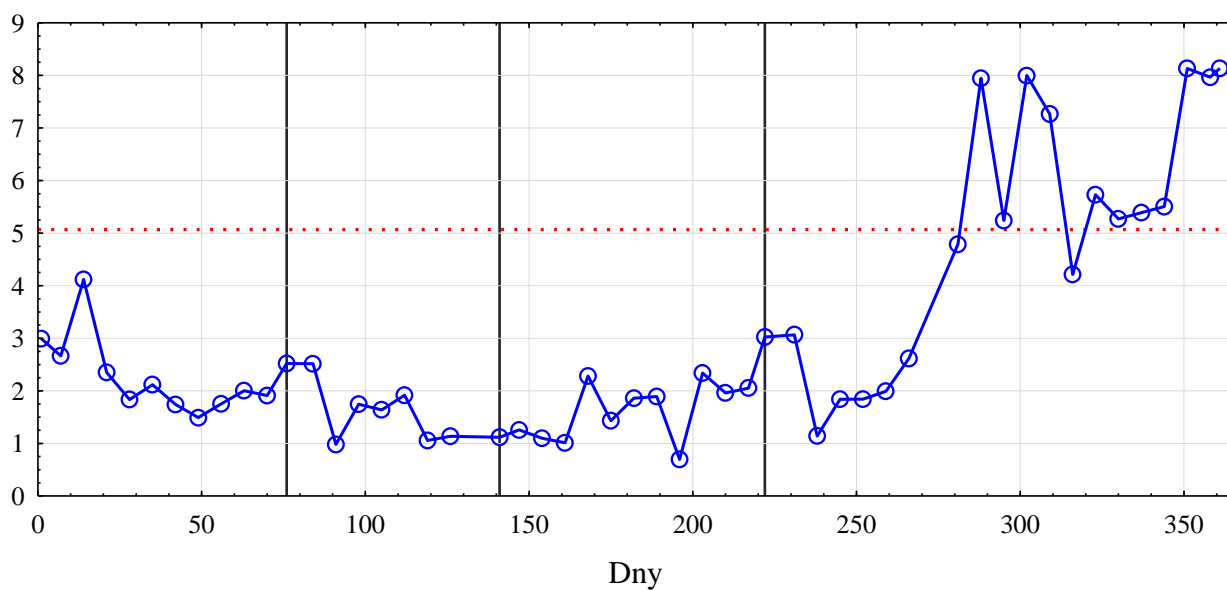
Graf č. 13 Poměr dusitanového a amonného dusíku



5.13 Poměr odstraněného N-NO_2^- a vzniklého N-NO_3^-

Během anaerobní oxidace N-amon by na základě její rovnice měly vznikat z dusitanů dusičnany v ideálním poměru 5,07 : 1. Během prvních třech etap se tento poměr pohyboval pod ideálním poměrem v rozmezí od 0,69 : 1 do 4,11 : 1. V 287. den během IV. etapy vystoupal poměr odstraněného N-NO_2^- a vzniklého N-NO_3^- nad ideální poměr a udržel se nad ním až do konce pokusu pouze s mírným propadem 314. den pod tento ideální poměr. Výsledky jsou zobrazeny v Grafu č. 14 s ideálním poměrem graficky zobrazeným na ose y.

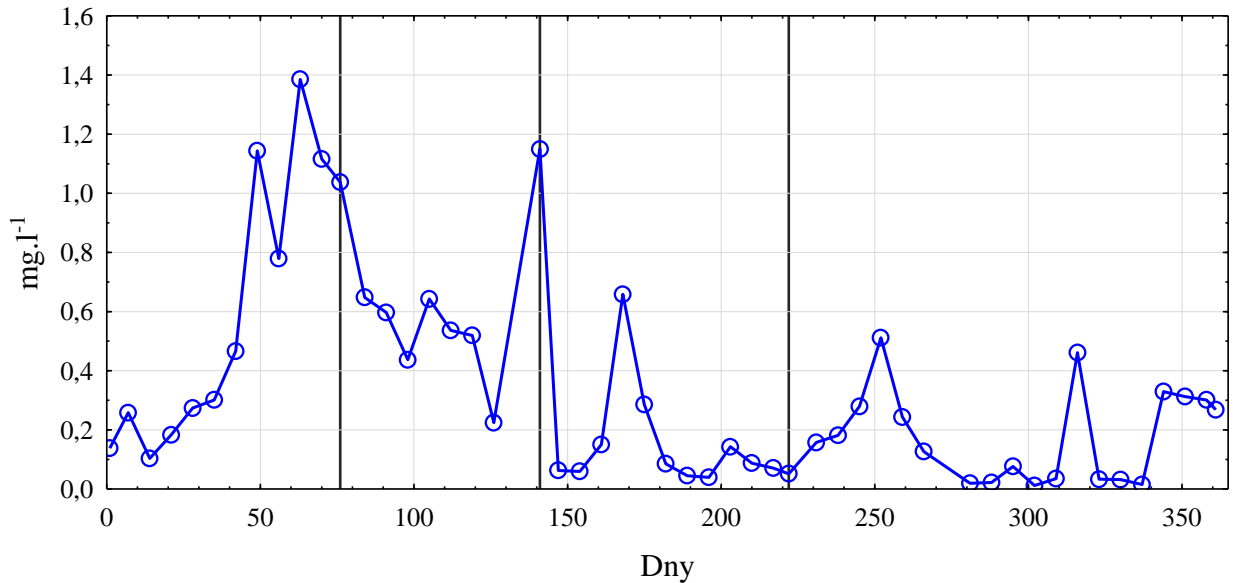
Graf č. 14 Poměr odstraněného N-NO_2^- a vzniklého N-NO_3^-



5.14 Volný amoniak a volná kyselina dusitá

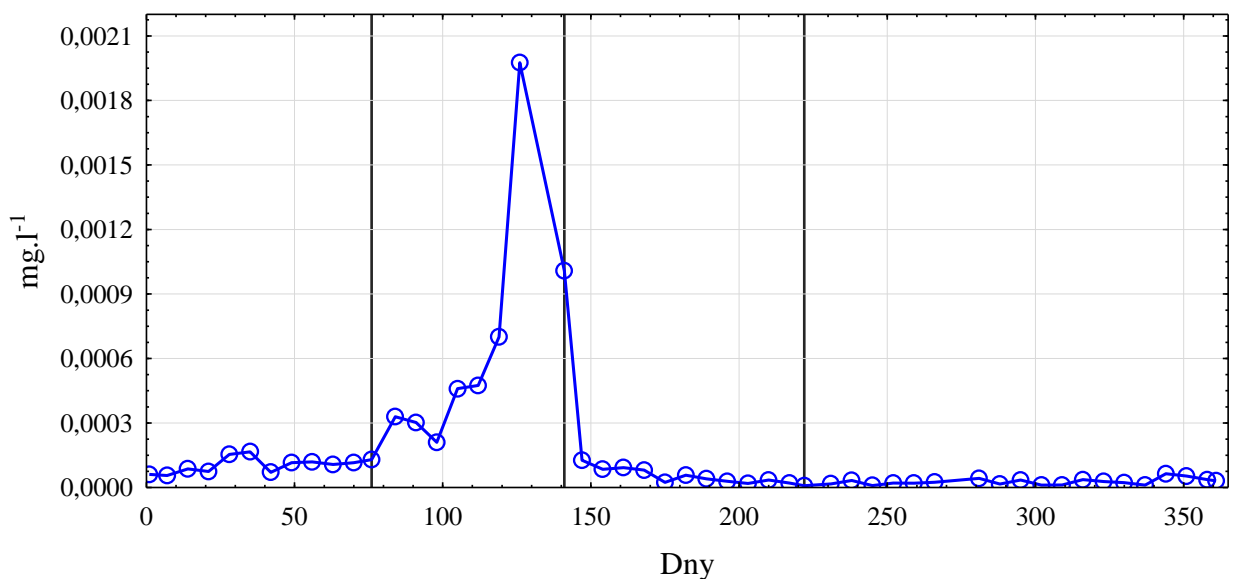
Koncentrace volného amoniaku (FA) uvedená v Grafu č. 15 byla po dobu pokusu v rozmezí 0,011 do 1,143 mg.l⁻¹. Výraznější zvýšení koncentrace nastalo během druhé poloviny I. etapy a také poslední den II. etapy. Ve III. a IV. etapě byla koncentrace více stabilní.

Graf č. 15 Koncentrace volného amoniaku



Koncentrace volné kyseliny dusité (FNA) (Graf č. 16) byla v I., III. a IV. etapě nízká a velice stabilní. V těchto třech etapách byla v rozmezí od 0,010 do 0,170 $\mu\text{g.l}^{-1}$, pouze ve druhé etapě vzestup na 1,98 $\mu\text{g.l}^{-1}$ (126. den).

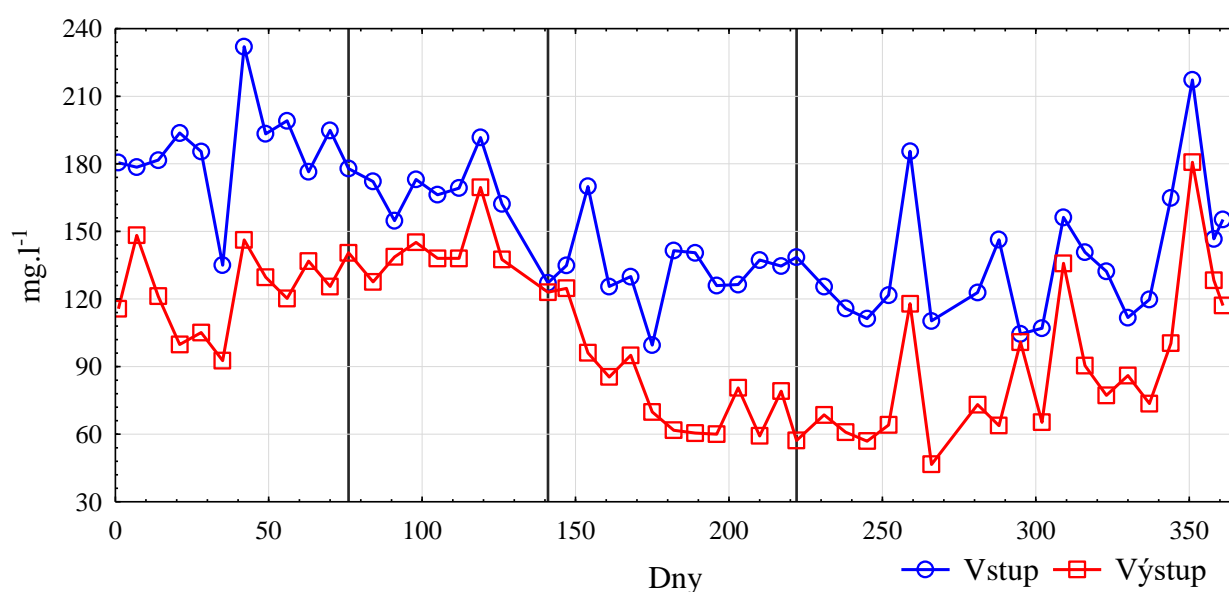
Graf č. 16 Koncentrace volné kyseliny dusité



5.15 Chemická spotřeba kyslíku

Výsledky chemické spotřeby kyslíku (CHSK) jsou uvedeny v Grafu č. 17. Celková průměrná vstupní CHSK byla 152 mg.l^{-1} a výstupní 103 mg.l^{-1} , průměrná účinnost odstranění byla 33 %. V I. a II. etapě byla průměrná vstupní a výstupní CHSK vyšší než ve III. a IV. etapě. Ve II. etapě byla velmi nízká účinnost odstranění, ve III. etapě kdy došlo ke zvýšení teploty se i zvýšila účinnost odstranění a výstupní CHSK klesla na koncentrace přibližně 60 mg.l^{-1} . Pro IV. etapu byly typické větší výkyvy, vstupní CHSK se pohybovala od 105 do 218 mg.l^{-1} a výstupní se pohybovala v rozmezí od 57 do 181 mg.l^{-1} .

Graf č. 17 Chemická spotřeba kyslíku



5.16 Rozpuštěné a nerozpuštěné látky

Rozpuštěné látky se pohybovaly ve vstupní vodě od $0,69$ do $1,54 \text{ g.l}^{-1}$, v reaktoru od $1,51$ do $1,87 \text{ g.l}^{-1}$. Nerozpuštěné látky byly ve vstupní vodě v rozmezí od $0,02$ do $0,55 \text{ g.l}^{-1}$, v reaktoru od 0 do $3,83 \text{ g.l}^{-1}$. Nerozpuštěné látky organické byly ve vstupní vodě v rozmezí od $0,03$ do $0,52 \text{ g.l}^{-1}$, v reaktoru od $0,100$ do $3,41 \text{ g.l}^{-1}$.

6. Diskuze

Tato práce se zabývá vyhodnocením dat z časového úseku přibližně jednoho roku, přičemž se jedná o dlouhodobý pokus, který už probíhal po dobu více než jednoho roku před započítáním této práce. Díky tomu, že proces anaerobní oxidace N-amon a celkový provoz laboratorní aplikace byl stabilizovaný, nebylo potřeba v této práci řešit samotné nastartování tohoto procesu. Bylo možné se tedy po celou dobu pokusu věnovat samotnému vlivu změn teplot na probíhající anaerobní oxidaci N-amon a sledování s tím souvisejících ukazatelů. Během snižování teplot má na provoz aplikace při nízkých teplotách vliv mnoho faktorů, je proto tedy nutné komplexní hodnocení a srovnání s výsledky ostatních odborných studií, aby bylo možné objektivně a správně interpretovat získaná data z této práce, zvláště pak vyhodnotit možnost aplikace anaerobní oxidace N-amon při teplotách nižších než 20 °C. Proto bude v následujících kapitolách posuzován vliv jednotlivých faktorů, zhodnocena objemová rychlost odstranění a účinnost odstranění dusíkatých znečišťujících látek a dále diskutovány další možné probíhající biochemické procesy.

6.1 Vliv koncentrace O₂

Jelikož tato práce simuluje reaktor, kde probíhá pouze anaerobní oxidace N-amon bez předchozí nitritace, nebyl reaktor provzdušňován a proto byly koncentrace kyslíku stále velmi nízké. Průměrná koncentrace byla 0,047 mg.l⁻¹ a je ve shodě s uváděnými ideálními koncentracemi (Kouba a kol., 2015; Lotti et al., 2012; Winkler et al., 2011), kdy nedochází k inhibici anammox bakterií. Nejvyšší naměřená koncentrace kyslíku byla 0,15 mg.l⁻¹, Kouba a kol. (2015) uvádějí možnou inhibici od koncentrace 0,5 mg.l⁻¹ a Vlaeminck et al. (2009) pozorovali inhibici anammox bakterií při 0,85 mg.l⁻¹, tedy i nejvyšší naměřená koncentrace kyslíku by neměla mít žádný vliv na průběh anaerobní oxidace N-amon.

6.2 Vliv hodnoty pH

Hodnota pH nebyla nijak upravována a během celého pokusu se pohybovala v rozmezí od 7,4 do 8,1. Toto rozmezí je dle Li et al. (2008) a Jetten et al. (1999) ideální a ani ostatní autoři (Vlaeminck et al., 2009; Strous et al., 1998; Hendrickx et al., 2012) nepozorovali při podobných hodnotách inhibici aktivity anammox bakterií. Oproti tomu Puyol et al. (2014b) uvádí více než 10 % snížení aktivity anammox bakterií na anaerobní oxidaci N-amon při pH větší než 7,6. Přesto byla účinnost odstranění spíše ovlivněna jinými faktory, zvláště pak výkyvy teplot. Nicméně i samotné změny hodnoty pH mohou být ukazatelem procesů

probíhající v reaktoru. Výrazné snížení hodnoty pH na konci II. a IV. etapy mohlo být pravděpodobně způsobeno aktivitou AOB bakterií, které jsou v kompetici s anammox bakteriemi o substrát v podobě N-amon. Činností AOB bakterií dojde během nitritace k oxidaci amonného dusíku na dusitany a dle Li et al. (2008) k poklesu pH.

6.3 Průběh odstranění N-amon

Vstupní koncentrace N-amon byla nižší než je běžné u provozních aplikací anaerobní oxidace N-amon, nicméně ty jsou provozovány při vyšších teplotách, během kterých probíhá anaerobní oxidace N-amon s mnohem vyšší rychlostí odstranění. Oproti tomu v laboratorních aplikacích při nižších teplotách se pohybují vstupní koncentrace také podstatně níž. V této práci byla vstupní koncentrace N-amon v průměru 131 mg.l^{-1} , ta je podobná či vyšší než aplikace při podobných teplotních podmínkách (Hu et al., 2013; Kouba a kol., 2015). Také je vstupní koncentrace N-amon ve shodě s aplikacemi probíhajícími pod $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ uvedenými v souhrnu v Tab. č. 1. Průměrné objemové zatížení N-amon kromě jednoho měření, které bylo ovlivněno ucpaným přítokem mělo hodnotu $0,064 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

V I. etapě během stabilizace procesu při teplotě $23 \pm 0,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ byla velmi vysoká účinnost odstranění. Na začátku až 98,7 %, poté mírně poklesla a na konci etapy už byla účinnost odstranění 89,9 %. Objemová rychlost odstranění byla stabilní v rozmezí 0,06 až $0,09 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. Poměr N-NO_2^- a N-amon ve vstupní vodě byl nižší než ideální, tedy všechen N-amon nemohl být odstraněn anaerobní oxidací. Také proto ve výstupní vodě byla koncentrace N-amon od poloviny I. etapy vyšší než 10 mg.l^{-1} . Proces anaerobní oxidace N-amon byl tedy relativně stabilní s poměrně vysokou účinností.

Ve II. etapě začal postupný pokles z $23 \text{ }^{\circ}\text{C}$ na $18 \pm 0,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Účinnost odstranění N-amon měla s postupným snižováním teploty spíše klesavou tendenci a 141. den velmi výrazně klesla na 62,7 % a obsah N-amon ve výstupní vodě vystoupal až na $54,4 \text{ mg.l}^{-1}$. Spolu s tím také klesla objemová rychlost odstranění na $0,043 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. Dále s poklesem účinnosti odstranění také mírně vystoupala koncentrace N-NO_2^- a také bylo patrné snížení hodnoty pH na 7,4 126. den pokusu. Další změnou spolu s klesající teplotou bylo zvýšení výstupních koncentrací N-NO_3^- až na 148 mg.l^{-1} (117. den). Z těchto změn bylo patrné, že patrně převládla aktivita NOB bakterií nad anammox bakteriemi, se kterými byly v kompetici o N-NO_2^- . Tento problém popisují Hellinga et al. (1998), Hu et al. (2013) či Gilbert et al. (2014) jako problém při aplikaci anaerobní oxidace N-amon při nižších

teplotách. Výraznější pokles hodnoty pH by mohl naznačovat i aktivitu AOB bakterií, jelikož při jejich aktivitě nastává pokles hodnoty pH (Li et al., 2008).

Po značném snížení účinnosti odstranění N-amon a zvýšené aktivitě NOB a pravděpodobně i AOB bakterií na úkor anammox bakterií se ve III. etapě přistoupilo ke skokovému zvýšení teploty na $28 \pm 0,5$ °C. Také se upravil požadovaný poměr N-NO_2^- a N-amon ve vstupní vodě na cílený ideální poměr dle Strous et al. (1998) 1,32:1, kterého se i reálně dosáhlo. To mělo za následek okamžité zvýšení účinnosti odstranění N-amon z předchozích 62,7 % (141. den) na 99,1 % (147. den) a pokles N-amon ve výstupní vodě z $54,4 \text{ mg.l}^{-1}$ (141. den) na $0,830 \text{ mg.l}^{-1}$ (147. den). Také nastal okamžitý výrazný pokles koncentrace N-NO_2^- . Nicméně objemová rychlost odstranění N-amon se začala zvyšovat pouze velice nepatrně a pohybovala se v podobném rozpětí jako v předchozí etapě, to bylo způsobeno upravením obsahu N-amon ve vstupní vodě, kdy na rozdíl od II. etapy se průměrný obsah N-amon ve vstupní vodě snížil o 31 mg.l^{-1} . Oproti předchozí etapě, kdy byly výstupní koncentrace N-amon $> 10 \text{ mg.l}^{-1}$, byla v této etapě průměrná výstupní koncentrace $1,6 \text{ mg.l}^{-1}$. Po konci II. etapy, kdy patrně došlo ke zvýšení činnosti NOB a AOB bakterií na úkor anammox bakterií se aktivita anammox bakterií opět velmi rychle obnovila během pouhého jednoho týdne, to je ve shodě s Hu et al. (2013), kteří popisují vratnou inhibici i u teploty 9 °C. Významným faktorem byla změna teploty, ale i reálné dosažení optimálního poměru N-NO_2^- a N-amon mělo za následek rychlé zvýšení účinnosti odstranění N-amon.

Ve IV. etapě po stabilizování procesu anaerobní oxidace N-amon a zvýšení účinnosti odstranění se opět přistoupilo k postupnému snižování teplot. Nejprve s poklesem na $23,5 \pm 0,5$ °C došlo během čtyř týdnů k postupnému poklesu účinnosti odstranění N-amon na 90,3 % (251. den), s dalším poklesem teplot na 19,5 °C došlo k opětovnému zvýšení účinnosti odstranění N-amon na 99,4 %. Vstupní poměr N-NO_2^- a N-amon byl při tomto poklesu a následném zvýšení účinnosti odstranění přibližně v ideálním poměru, došlo patrně k postupné adaptaci anammox bakterií na nižší teplotu. Další výraznější pokles účinnosti odstranění N-amon a inhibice anammox bakterií přišel při poklesu na 18 °C, kdy na jeden týden klesla na 86,7 % se skokovým zvýšením koncentrace N-amon ve výstupní vodě z $1,05$ na $16,0 \text{ mg.l}^{-1}$. Další týden při teplotě 18 °C už byla účinnost odstranění opět přes 99 % a koncentrace N-amon ve výstupní vodě byla $1,10 \text{ mg.l}^{-1}$. Opět je tedy patrná krátkodobá inhibice anammox bakterií.

Další pokles na $17 \pm 0,5$ °C způsobil po 14 dnech pokles účinnosti odstranění z 99,5 na 82,7 % (343. den) spolu se zvýšeným obsahem $26,2 \text{ mg.l}^{-1}$ N-amon ve výstupní vodě.

Během dalších tří týdnů při této teplotě $17 \pm 0,5$ °C nastal pokles obsahu N-amon ve výstupní vodě, přesto ale byl $> 12 \text{ mg.l}^{-1}$. Také účinnost odstranění N-amon se dostala zpět pouze na 91,3 %. Nejvýraznějším důvodem tohoto poklesu účinnosti odstranění se zdá poměr N-NO_2^- a N-amon ve vstupní vodě, který byl 343. den přibližně 1:1 a v dalších třech týdnech se vrátil pouze na 1,15:1. Proto došlo k odstranění prakticky veškerých dusitanů a zbytek N-amon zůstal nezoxidovaný.

6.4 Průběh odstranění N-NO_2^- a produkce N-NO_3^-

Jelikož byl obsah N-NO_2^- první dvě etapy pod ideálním poměrem s N-amon a i další dvě etapy nebyl tento poměr výrazně nad ideálním, jednalo se o limitní faktor pro průběh anaerobní oxidace N-amon vycházející z rovnice anaerobní oxidace N-amon podle Strous et al. (1998). Průměrná koncentrace N-NO_2^- ve zpracovávané vstupní vodě byla sice 151 mg.l^{-1} , ale v kontinuálně průtočném reaktoru se směšovací aktivací (CSTR) byla průměrná koncentrace N-NO_2^- pouze $1,37 \text{ mg.l}^{-1}$. Tato průměrná koncentrace N-NO_2^- v reaktoru je hluboko pod koncentracemi, které by mohly způsobovat inhibici (Strous et al., 1999a; Isaka et al., 2007; Fernández et al., 2012; Kimura et al., 2010).

Vstupní koncentrace N-NO_3^- byla tvořena obsahem NO_3^- v kohoutkové vodě, kde se vyskytují dle údajů na webu Pražských vodovodů a kanalizací přibližně v koncentraci 17 mg.l^{-1} , to je $3,8 \text{ mg N-NO}_3^-$. Na 10 litrů vstupní vody bylo použito přibližně 9 litrů kohoutkové vody, obsah N-NO_3^- tedy měl být přibližně $3,4 \text{ mg.l}^{-1}$. Ale průměrná koncentrace ve vstupní vodě byla $6,5 \text{ mg.l}^{-1}$, je tedy pravděpodobné, že díky bakteriálnímu povlaku na stěnách kanálu se vstupní vodou probíhala nitrifikace.

Po dobu I. etapy byla účinnost odstranění N-NO_2^- větší než 98,5 %, koncentrace ve výstupní vodě byla maximálně $2,19 \text{ mg.l}^{-1}$. Ale průměrná výstupní koncentrace N-NO_3^- $66,0 \text{ mg.l}^{-1}$ byla během I. etapy vyšší, než kolik by odpovídalo podle Strouse et al. (1998) z rovnice anaerobní oxidace N-amon ($28,9 \text{ mg.l}^{-1}$). Během etapy tedy klesl poměr odstraněného N-NO_2^- a vzniklých N-NO_3^- až na 1,5 : 1, přestože by měl být ideální poměr 5,07 : 1. Z toho je tedy patrné, že během první etapy probíhaly i další procesy současně s anaerobní oxidací N-amon, velmi pravděpodobně nitratace díky činnosti NOB bakterií.

V II. etapě během postupného snižování teplot se také snížila účinnost odstranění N-NO_2^- na hranici 96 % (117. den) a koncentrace ve výstupní vodě vystoupala na $6,35 \text{ mg.l}^{-1}$. Výrazný byl ale hlavně vzestup N-NO_3^- až na 148 mg.l^{-1} při $18,5$ °C. Došlo tedy k výraznému

vzestupu činnosti NOB bakterií, které jsou v kompetici s anammox bakteriemi o N-NO_2^- a lépe prospívají při nižších teplotách. Stejně tak to potvrzují i výsledky sledování koncentrací N-amon.

Během III. etapy, kdy došlo ke zvýšení teploty, se opět zvýšila účinnost odstranění N-NO_2^- až na 99,9 % a klesl jejich obsah ve výstupní vodě až na $0,145 \text{ mg.l}^{-1}$. Obsah N-NO_3^- ve výstupní vodě kolísal a 195. den se dostal skokově na 233 mg.l^{-1} , nicméně zde se jednalo velice pravděpodobně analytickou chybu. Na konci etapy byla výstupní koncentrace N-NO_3^- $57,5 \text{ mg.l}^{-1}$. Dle snížení obsahu N-NO_3^- ve výstupní vodě opět aktivita anammox bakterií převýšila činnost NOB bakterií., podobně jako to potvrzují výsledky sledování koncentrací N-amon.

V poslední IV. etapě byly po celou dobu snižování teplot velmi nízké koncentrace N-NO_2^- ve výstupní vodě a jejich účinnost odstranění neklesla pod 99,6 %. Také koncentrace N-NO_3^- byly v druhé polovině etapy nižší než během předchozích třech etap. Dále byl v druhé polovině této etapy poprvé poměr odstraněného N-NO_2^- a vzniklého N-NO_3^- nad ideálním poměrem a k poslednímu dni vystoupal až na 8,14 : 1. To značí, že ve výstupní vodě bylo méně N-NO_3^- než mělo vzniknout podle rovnice anaerobní oxidace N-amon. Je tedy pravděpodobné, že kromě anaerobní oxidace N-amon probíhaly v reaktoru i další procesy, které způsobily nízkou koncentraci N-NO_3^- . S největší pravděpodobností se jednalo buď o denitrificaci nebo denitrifikaci, to je ve shodě s Rusalleda et al. (2008) a Lan et al. (2011) kteří provozovali reaktor, kde najednou probíhala anaerobní oxidace N-amon a heterotrofní denitrifikace. Proces anaerobní oxidace N-amon tím ale nebyl, stejně jako v této práci, nijak negativně ovlivněn.

6.5 Průběh odstranění N-celk.

Výsledky bilance celkového dusíku tvořeného N-amon, N-NO_2^- a N-NO_3^- jsou souhrnem výše diskutovaných změn. Výsledky odstranění N-celk. byly nejvíce ovlivněny koncentrací N-NO_3^- ve výstupní vodě, kde tvořily převážnou část z N-celk. Koncentrace celkového dusíku ve vstupní vodě byly po celou dobu pokusu relativně stabilní s průměrem 286 mg.l^{-1} a objemovým zatížením $0,141 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, pouze úpravou poměru N-NO_2^- a N-amon mezi II. a III. etapou došlo k menšímu poklesu.

Na konci I. etapy před snižováním teploty byla účinnost odstranění 72,7 % při objemovém zatížení $0,167 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. Se změnou teploty přišel postupný pokles účinnosti

odstranění až na 34,8 % při objemovém zatížení $0,148 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ poslední den II. etapy, což bylo stejně jako u ostatních ukazatelů znakem snížení činnosti anammox bakterií v důsledku soupeření o N-NO_2^- s NOB bakteriemi. Ve III. etapě, charakteristické zvýšenou teplotou na $28 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$, se zvýšila účinnost odstranění celkového dusíku až na 81,7 % při objemovém zatížení $0,145 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ poslední den III. etapy. To je znakem obnovení činnosti anammox bakterií. Během IV. etapy, charakteristické postupným snižováním teplot, přišel po snížení z $28,0$ na $23,4 \text{ }^\circ\text{C}$ pokles účinnosti odstranění na 48 % při objemovém zatížení $0,134 \text{ kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ 236. den pokusu. To bylo pravděpodobně v důsledku postupného přizpůsobování anammox bakterií nižším teplotám. Poté začala opět účinnost odstranění stoupat a v druhé polovině IV. etapy od 281. do 361. dne byla v průměru 87,1 %. Druhou polovinu IV. etapy byly za celou dobu pokusu nejvyšší účinnosti odstranění při teplotě 17 až $18 \text{ }^\circ\text{C}$, to bylo způsobeno zejména nízkými koncentracemi N-NO_3^- ve výstupní vodě.

6.6 Vliv volného amoniaku a kyseliny dusité

Koncentrace volného amoniaku dosáhla maximálních hodnot $1,38 \text{ mg.l}^{-1}$, tato koncentrace je velmi nízká oproti udávané koncentraci $\text{IC}_{50} = 38,0 \text{ mg.l}^{-1}$ pro aktivitu anammox bakterií, kterou uvádí Fernández et al. (2012). Tudíž neměla mít vliv na probíhající anaerobní oxidace N-amon.

Koncentrace volné kyseliny dusité byla kromě II. etapy stabilně velice nízká. Ve II. etapě vystoupala na $1,98 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$ přičemž Fernández et al. (2012) uvádí už při $1,5 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$ destabilizaci procesu. To je ve shodě s touto prací, kdy ve druhé etapě nastala výrazná inhibice anammox bakterií a došlo ke snížení pH na 7,45.

6.7 Vliv změn teplot

Vývoj koncentrací forem dusíku v rámci jednotlivých etap už byl diskutován výše, nicméně pro lepší pochopení zde bude souhrnně diskutován vliv teploty na anaerobní oxidaci N-amon, potažmo na aktivitu anammox bakterií.

Teploty v rozmezí $22,5$ až $23,5 \text{ }^\circ\text{C}$ během I. etapy sice nejsou podle Jetten et al. (1999), Strous et al. (1997) a Dosta et al. (2008) optimální, ale nevedou k úplné inhibici aktivity anammox bakterií. Také při těchto teplotách nebyly dle Hu et al. (2013), Isaka et al. (2008) či Gilbert et al. (2015) pozorovány zvýšené koncentrace dusitanů v důsledku snížení činnosti anammox bakterií. To je ve shodě s dosaženými výsledky v této

práci, kdy při těchto teplotách 22,5 až 23,5 °C nedošlo ke zvýšení koncentrace N-NO₂⁻. Také byl při této teplotě už diskutovaný vyšší obsah N-NO₃⁻ ve výstupní vodě než kolik by mělo vzniknout podle rovnice anaerobní oxidace N-amon. To pravděpodobně svědčí o činnosti NOB bakterií, které jsou dle Gilbert et al. (2015) při nižších teplotách s anammox bakteriemi v kompetici o dusitany.

Snížením teplot z 23,5 na 19 °C během tří týdnů přineslo výrazné zvýšení koncentrací N-NO₃⁻ a mírné zvýšení N-NO₂⁻, tedy NOB bakterie začaly převažovat v kompetici o dusitany nad anammox bakteriemi, jak už bylo popsáno výše v kapitole 6.3. Další snížení na 18,5 °C a setrvání při této teplotě po tři týdny mělo za následek výrazně zvýšenou koncentraci N-amon, N-NO₃⁻ a mírně zvýšenou koncentraci N-NO₂⁻ ve výstupní vodě. S tím klesly i ostatní navazující parametry, jako je účinnost odstranění a objemová rychlost odstranění. Bylo tedy zřejmé, že aktivita NOB bakterií a jejich převažování nad anammox bakteriemi o dusitany se zvyšovala. Při podobné teplotě (16 °C) pozoroval Gilbert et al. (2015) akumulaci N-NO₂⁻ při aplikaci v režimu SBR, ale se vstupní koncentrací N-amon 50 mg.l⁻¹. Oproti tomu například Isaka et al. (2008) provozovali anaerobní oxidaci N-amon až do teploty 12 °C bez akumulace N-NO₂⁻ či N-amon, při o vstupní koncentrací N-amon 50 mg.l⁻¹. Jedním z možných důvodů převažující kompetice NOB nad anammox bakteriemi během II. etapy by mohly být nižší koncentrace N-amon a N-NO₂⁻ v reaktoru než u ostatních laboratorních aplikací při nízkých teplotách dané provedením reaktoru použitým v této práci (CSTR). Aplikace při nízkých koncentrací N-amon se obvykle pohybují kolem 50 - 70 mg.l⁻¹ (Hu et al. 2013, Hendrickx et al. 2012, Kouba a kol. 2015) bez přidaného N-NO₂⁻. Dalším možným důvodem by mohl být rychlý pokles teploty z 23,5 na 20,5 °C během jednoho týdne, pokud by byl gradient snižování teplot menší, mohla se biomasa anammox bakterií lépe přizpůsobit. Pomalejší snižování teplot uvádějí například Zekker et al. (2015) či Gilbert et al. (2015), kteří snižovali teplotu rychlostí 0,5 °C za týden.

Zvýšení teploty z 18,5 na 28 °C mezi II. a III. etapou během jednoho týdne mělo nejvýraznější vliv na snížení koncentrace N-amon a N-NO₂⁻, koncentrace N-NO₃⁻ výrazněji klesla přibližně až po 12 týdnech. Spolu s tím došlo k vzestupu ostatních navazujících parametrů jako je účinnost odstranění a objemová rychlost odstranění N-amon a N-NO₂⁻. Anammox bakterie při této vyšší teplotě 28 °C převážily v kompetici o dusitany nad NOB bakteriemi a zvýšily svojí aktivity, ale stále byla díky zvýšeným koncentracím N-NO₃⁻ patrná aktivita NOB bakterií.

Při snížení z 28 na $23,5 \pm 0,5$ °C mezi III. a IV. etapou nastalo mírné zvýšení koncentrací N-amon a N-NO_3^- . Po 4 týdnech přišel další pokles na $19,5 \pm 0,5$ °C, po kterém se za tři týdny týdně snížila koncentrace N-amon a N-NO_3^- . Toto bylo patrně důsledkem přizpůsobení se biomasy anammox bakterií na nižší teplotu. Ale snížení koncentrací N-NO_3^- bylo až pod množství, které vyplývá z rovnice anaerobní oxidace N-amon dle Strous et al. (1998), proto pravděpodobně došlo k už v kapitole 6.4 k diskutovanému rozvoji bakterií schopných denitrifikace. Proces anaerobní oxidace N-amon ale probíhal bez známek inhibice.

Se snížením na 18,25 °C došlo během jednoho týdne ke skokovému zvýšení N-amon z 1,05 na 16,0 mg.l^{-1} a poté během dalšího týdne k poklesu zpět na 1,15 mg.l^{-1} , to značí snížení rychlosti odstranění N-amon anammox bakteriemi v závislosti na teplotě a následně jejich přizpůsobení se na nižší teplotu. Během dalšího poklesu na $17 \pm 0,5$ °C byl zvýšený obsah N-amon v připravované vstupní vodě, to se projevilo i zvýšením obsahu N-amon ve výstupní vodě a snížení účinnosti odstranění N-celk. Po 5 týdnech při $17 \pm 0,5$ °C nebyly patrné žádné zvýšené koncentrace N-NO_2^- či N-NO_3^- . Je zřejmé, že pokles na teplotu $17 \pm 0,5$ °C neměl za následek inhibiči činnosti anammox bakterií. Inhibice aktivity anammox bakterií by měla být provázena zvýšeným obsahem N-NO_2^- , jak to například popisuje Dosta et al. (2008) při změně teplot z 18 °C na 15 °C. Dále je pro inhibiči anammox bakterií velmi obvyklá akumulace N-NO_3^- díky aktivitě NOB bakterií, kterou popisují Hu et al. (2013) nebo Gilbert et al. (2014). Velmi pravděpodobně probíhaly společně s anaerobní oxidací N-amon i další procesy, vyšší poměr mezi odstraněným N-NO_2^- a vzniklým N-NO_3^- je patrně důsledkem buď činností bakterií schopných denitrifikace či denitritace a je také možná aktivita NOB bakterií. Při teplotě 17,25 °C bylo dosaženo jedné z nejvyšší rychlosti odstranění N-celk. během celého pokusu dosahující 0,132 $\text{kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ při účinnosti odstranění N-celk. 88,4 %. Podobné účinnosti odstranění (80 %), dosáhli Kouba a kol. (2015) při rychlosti odstranění N-celk. 0,033 $\text{kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$. Henrickx et al. (2012) uvádí rychlost odstranění N-celk. při teplotě 20 °C 0,77 $\text{kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ a při 15 °C 0,096 $\text{kg.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$.

6.8 Souhrnné hodnocení průběhu pokusu

V případě této práce byla teplota a její vliv na ostatní parametry hlavním sledovaným faktorem. V časovém úseku celého pokusu byly takové podmínky, aby byl možný průběh anaerobní oxidace N-amon. Ale se změnami teplot se tento průběh a potažmo i odstranění sledovaných dusíkatých znečišťujících látek měnil.

Během pokusu bylo patrné, že kromě anaerobní oxidace N-amon probíhají i další procesy jako nitratace díky činnosti NOB bakterií či denitrifikace a díky výkyvům v hodnotě pH je možné také uvažovat o nitrítaci činností AOB bakterií. Zvláště podstatné jsou NOB bakterie, které jsou v kompetici s anammox bakteriemi o dusitany. Jejich přítomnost a aktivita je typická pro aplikace zkoumající proces anaerobní oxidace N-amon při nízkých teplotách, v případě této práce je jejich přítomnost ještě umocněna tím, že činnost anammox bakterií probíhala v reaktoru při nízkých teplotách. Důležitým faktorem byl vstupní poměr mezi N-NO_2^- a N-amon, který pokud nebyl ideální, tak byl důsledkem zvýšení N-amon ve výstupní vodě a tím i horších účinností odstranění N-celk.

Postupným snižováním teplot se podařilo dokázat dobrý průběh odstranění celkového dusíku i při teplotě 17,25 °C díky pomalému poklesu teplot a postupnému adaptování biomasy anammox bakterií. Oproti prvnímu snižování v II. etapě, kde došlo k výraznému převážení činnosti NOB bakterií nad anammox bakteriemi už při 18,5 °C se zdá, že zvýšení teplot ve III. etapě mělo pozitivní vliv na stabilizaci anammox biomasy, která převážila nad NOB bakterie v kompetici o dusitany. Určitý pozitivní vliv měl i vývoj bakterií účastnících se denitrifikace či denitritace, díky kterým se dosáhlo nízkých koncentrací N-NO_3^- ve výstupní vodě. Mohlo být dosaženo i vyšších účinností odstranění N-celk. při 17,25 °C, pokud by byl poměr N-NO_2^- a N-amon blíže ideálnímu, takto docházelo k akumulaci N-amon ve výstupní vodě.

7. Závěr

- Na základě zpracované rešerše a vyhodnocení výsledků z dlouhodobého pokusu bylo potvrzeno možné využití anaerobní oxidace N-amon i při teplotě 17,25 °C pro odstranění sloučenin dusíku dosažené postupným snižováním teplot bez inhibice procesu.
- Rychlost odstranění N-celk. při 17,25 °C byla 0,132 kg.m⁻³.d⁻¹ s účinností odstranění až 88,4 % a vstupní koncentraci N-celk. 312 mg.l⁻¹
- Kromě anaerobní oxidace N-amon probíhaly také další procesy jako nitritace a nitratace činností AOB a NOB bakterií a také denitrifikace či denitritace.
- Jako významný faktor ovlivňující účinnost odstranění N-celk. se ukázal poměr N-NO₂⁻ a N-amon ve vstupní vodě.

8. Seznam literatury

- Ali, M., Okabe, S. 2015. Anammox-based technologies for nitrogen removal: Advances in process start-up and remaining issues. *Chemosphere*. 141. 144 - 153.
- Ambrožová, J. 2003. Aplikovaná a technická hydrobiologie. Vysoká škola chemicko – technologická. Praha. 226 s. ISBN: 8070805218.
- Ariunbaatar, J., Di Petra, E. S., Panico, A., Frunzo, L., Esposito, G., Lens, P. N. L. Pirozzi, F. 2015. Effect of ammoniacal nitrogen on one-stage and two-stage anaerobic digestion of food waste. *Waste management*. 38. 388 - 398.
- Bagchi, S., Biswas, R., Nandy, T. 2010. Start-up and stabilization of an Anammox process from a non-acclimatized sludge in CSTR. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 37. 943 - 952.
- Broda, R. 1977. Two kinds of lithotrophs missing in nature. *Zeitschrift fur Allgemeine Mikrobiologie*. 17 (6). 491 - 493.
- Carvajal-Arroyo, J. M., Sun, W., Sierra-Alvarez, R., Field J. A. 2013. Inhibition of anaerobic ammonium oxidizing (anammox) enrichment cultures by substrates, metabolites and common wastewater constituents. *Chemosphere*. 91. 22 - 27.
- Cologgi, D., Kasin, S., Hofsteller, S., Donoso – Bravo., A., Ulrich, A. 2013. Anaerobic processes. *Water Environment Research*. 80. 1176 – 1231.
- Corral, M. A., Gonzáles, F., Compos, J. L., Méndez, R. 2005. Partial nitrification in a SHARON reactor in the presence of salts and organic carbon compounds. *Process Biochemistry*. 40. 3109 - 3118.
- Dalsgaard, T., Thamdrup, B. 2002. Factors Controlling Anaerobic Ammonium Oxidation with Nitrite in Marine Sediments. *Applied and Environmental Microbiology*. 68(8). 3802 - 3808.
- Dapena - Mora, A., Fernández, I., Campos, J. L., Corral, A. M., Méndez, R., Jetten, M. S. M. 2007. Evaluation of activity and inhibition effects on Anammox process by batch tests based on the nitrogen gas production. *Enzyme and Microbial Technology*. 40. 859 - 865.

Dosta, J., Fernández, I., Vázquez - Padín, J. R., Mosquera - Corral, A., Campos, J.L., Mata - Álvarez, J., Méndez, R. 2008. Short- and long-term effects of temperature on the Anammox process. *Journal of Hazardous Materials*. 154. 688 - 693.

Fernández, I., Dosta, J., Fajardo, C., Campos, J. I., Mocquera - Corral, A., Méndez, R. 2012. Short- and long-term effects of ammonium and nitrite on the Anammox process. *Journal of Environmental Management*. 95. 170 - 174.

Fridrichová, M. 2016. Vliv teplotních výkyvů na účinnost procesu deamonifikace při čištění odpadních vod. Diplomová práce. Česká zemědělská univerzita v Praze. Agronomická fakulta. Praha. 56 s.

Gilbert, E. M., Agrawal, S., Karst, S. M., Harl, H., Nielsen, P. H., Lackner, S. 2014. Low Temperature Partial Nitritation/Anammox in a Moving Bed Biofilm Reactor Treating Low Strength Wastewater. *Environmental Science and Technology*. 48 (15). 8784 - 8792.

Gilbert, E. M., Agrawl, S., Schwartz, T., Horn, H., Lackner, S. 2015. Comparing different reactor configurations for Partial Nitritation/ Anammox at low temperatures. *Water Research*. 81. 92 - 100.

Hellinga, C., Schellen, A. A. J. C., Mulder, J. W., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen, J. J. 1998. The shraon process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium - rich waste water. *Water science and technology*. 37 (9). 135 - 142.

Hendrickx, T. L. G., Wang, Y., Kampman, C., Zeeman, G., Temmink, H., Buisman, C. J. N. 2012. Autotrophic nitrogen removal from low strength waste water at low temperature. *Water research*. 46. 2187 – 2193.

Horáková, M., (ed). 2003. Analytika vody. Vysoká škola chemicko – technologická. Praha. 335 s. ISBN: 807080520X.

Horáková, M. 2003. Chemická spotřeba kyslíku (CHSK). In: Horáková M., (ed). 2003. Analytika vody. Vysoká škola chemicko - technologická. Praha. s 269 - 272. ISBN: 807080520X.

Horáková, M., Ptáková, H. 2003. Dusík. In: Horáková M., (ed). 2003. Analytika vody. Vysoká škola chemicko - technologická. Praha. s 135 - 165. ISBN: 807080520X.

- Hu, Z., Lotti, T., de Kreuk, M., Kleerebezem, R., van Loosdrecht, M., Kruit, J., Jetten, M. S. M., Kartal, B. 2013. Nitrogen Removal by a Nitrification-Anammox Bioreactor at Low Temperature. *Applied and Environmental Microbiology*. 79 (8). 2807 - 2812.
- Chudoba, J., Dohányos, M., Wanner, J. 1991. *Biologické čištění odpadních vod*. Nakladatelství technické literatury. Praha. 465 s. ISBN: 80-03-00611-2.
- Isaka, K., Date, Y., Kimura, Y., Sumino, T., Tsuneda, S. 2008. Nitrogen removal performance using anaerobic ammonium oxidation at low temperatures. *FEMS Microbiology Letters*. 282. 32 - 38.
- Isaka, K., Sumino, T., Tsuneda, S. 2007. High nitrogen removal performance at moderately low temperature utilizing anaerobic ammonium oxidation reactions. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 103 (5). 468 - 490.
- Jensen, M. M., Thamdrup, B., Dalsgaard, T. 2007. Effects of Specific Inhibitors on Anammox and Denitrification in Marine Sediments. *Applied and environmental microbiology*. 70 (10). 3151 - 3158.
- Jetten, M. S. M., Strous, M., Pas – Schoonen, K. D., Schalk, J., Dongen, U. G. J. M., Van de Graaf, A. A., Logemann, S., Muyzer, G., Loodstrecht, M. C. M., Kuenen, J. G. 1999. The anaerobic oxidation of ammonium. *Microbiology Reviews*. 22. 421 – 437.
- Jin, R. C., Yang, G. F., Yu, J. J., Zheng, P. 2012. The inhibition of the Anammox process: A review. *Chemical Engineering Journal*. 197. 67 - 69.
- Kadam, P. C., Boone, D. R. 1996. Influence of pH on Ammonia Accumulation and Toxicity in Halophilic, Methylophilic Methanogens. *Applied and environmental microbiology*. 62 (12). 4486 - 4492.
- Kalyuzhnyi, S., Gladchenko, M., Mulder, A., Versprille, B. 2006. DEAMOX—New biological nitrogen removal process based on anaerobic ammonia oxidation coupled to sulphide-driven conversion of nitrate into nitrite. *Water Research*. 3637 - 3645.
- Kimura, Y., Isaka, K., Kazama, F., Sumino, T. 2010. Effects of nitrite inhibition on anaerobic ammonium oxidation. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 86 (1). 359–365.

- Kollerová, L. 2003. Veškeré, rozpuštěné a nerozpuštěné látky . In: Horáková, M., (ed). 2003. Analytika vody. Vysoká škola chemicko - technologická. Praha. s 269 - 272. ISBN: 807080520X.
- Kouba, V., Hejnic, J., Widiayuningrum, P., Bartacek, J. 2015. Aplikace nitritace a Anammox na anaerobně předčištěnou splaškovou odpadní vodu. Vodní Hospodářství. 6. 17-20.
- Lackner, S., Gilbert, E. M., Vlaeminck, S. E., Joss, A., Hord, H., Loosdrecht, M. C. M. 2014. Full-scale partial nitrification/anammox experiences - An application survey. Water Research. 55. 292 - 303.
- Lan, Ch. J., Kumar, M., Wang, Ch. Ch., Lin J. G. 2011. Development of simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) process in a sequential batch reactor. Bioresource Technology. 102. 5514 - 5519.
- Li, A., Sun, G., Xu, M. 2008. Recent patents on anammox process. Recent Patents on Engineering. 2. 189 - 194.
- Lotti, T., van der Star, W. R. L., Kleerebezem, R., Lubello, C., van Loosdrecht, M. C. M. 2012. The effect of nitrite inhibition on the anammox process. Water Research. 49. 2559 - 2569.
- Ma, B., Bao, P., Wei, Y., Zhu, G., Yuan, Z., Peng, Y. Suppressing Nitrite-oxidizing Bacteria Growth to Achieve Nitrogen Removal from Domestic Wastewater via Anammox Using Intermittent Aeration with Low Dissolved Oxygen. Scientific Reports. [online]. září 2015. 5. 13048. [cit. 2016-10-25] Dostupné z <<http://www.nature.com/articles/srep13048>>.
- Mulder, A., Van de Graaf, A. A., Robertson, L. A., Kuenen, J.G. 1995. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. FEMS Microbiology Ecology. 16. 177 - 184.
- Pitter., P. 2015. Hydrochemie. 5. aktualizované vydání. Vysoká škola chemicko – technologická. Praha. 792 s. ISBN: 9788070809280.
- Puyol, D., Carvajal - Arroyo, J. M., Sierra - Alvarez, R.2014a. Nitrite (not free nitrous acid) is the main inhibitor of the anammox process at common pH conditions. Biotechnology Letters. 36 (3). 547 - 551.

- Puyol, D., Carvajal - Arroyo, J. M., Li, G., B., Dougless, A., Fuentes - Velasco, M., Sierra - Alvarez, R., Field, J. A. 2014b. High pH (and not free ammonia) is responsible for Anammox inhibition in mildly alkaline solutions with excess of ammonium. *Biotechnology Letters*. 36. 1981 - 1986.
- Ruscalleda, M., López, H., Ganiqué, R., Puig, S., Balaguer, M., D. Colprim J. 2008. Heterotrophic denitrification on granular anammox SBR treating urban landfill leachate. *Water Science & Technology*. 58 (9). 1749 - 1755.
- Rysgaard, S., Glud, R. N. 2004. Anaerobic N₂ production in Arctic sea ice. *Limnology and Oceanography*. 49 (1). 86 - 94.
- Rysgaard, S., Glud, R. N., Risgaard - Petersen N., Dalsgaard T. 2004. Denitrification and anammox activity in Arctic marine sediments. *Limnology and Oceanography*. 49(5). 1493 - 1502.
- Sonune, A., Ghate, R. 2004. Developments in wastewater treatment methods. *Desalination*. 167. 55 - 63.
- Strous, M., Heijmem, J. J., Kuenen, J. G., Jetten, M. S. M. 1998. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 50 (5). 589– 596.
- Strous, M., Kuenen, J. G., Jetten, M. S. M. 1999a. Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*. 65 (7). 3248 - 3250.
- Strous, M., Van Gerven, E., Kuenen, J. Gijss., Jetten, M. 1997a. Effects of Aerobic and Microaerobic Conditions on Anaerobic Ammonium-Oxidizing (Anammox) Sludge. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*. 63 (6). 2446 - 2448.
- Strous, M., Fuerst, J.A., Kramer, E.H.M., Logemann, S., Muyzer, G., van de Pas-Schoonen, K.T., Webb, R., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M. 1999b. Missing lithotroph identified as new planctomycete. *Nature*. 400. 446 - 449.
- Tang, C. J., Zheng, P., Hu, B. L., Chen, J. W., Wang, C. H. 2010. Influence of substrates on nitrogen removal performance and microbiology of anaerobic ammonium oxidation by operating two UASB reactors fed with different substrate levels. *Journal of Hazardous Materials*. 181. 19 - 26.

- Van de Graaf, A. A., de Bruijn, P., Robertson, L. A., Jetten, M. S. M., Kuenen, J. G. 1996. Autotrophic growth of anaerobic ammonium - oxidizing micro - organisms in a fluidized bed reactor. *Microbiology*. 142. 2187 - 2196.
- Van de Graaf, A. A., Mulder, A., De Bruijn, P., Jetten, M. S. M., Robertson, L. A., Kuenen, J. G. 1995. Anaerobic oxidation of ammonium is a biologically mediated process. *Applied and Environmental Microbiology*. 61 (4). 1246 - 1251
- Van der Star, W.R.I., Abma, W.R, Blommers, D., Mulder, J.W., Tokutomi, T., Strous, M., Picioreanu, C., Loosdrecht, M. C. M. 2007. Startup of reaction for anoxic ammonium oxidation: Experiences from the first full-scale Anammox reactor in Rotterdam. *Water Research*. 41. 4149-4163.
- Van Hulle, S. W. H., Van Den Broeck, S., Maertens, J., Villez, K., Donckels, B. M. R., Schelstraete, G., Volcke, E. I. P., Vanrolleghem, P. A. 2005. Construction, start-up and operation of a continuously aerated laboratory - scale SHARON reactor in view of coupling with an Anammox reactor. *Water SA*. 31 (3). 327 - 334.
- Vlaeminck, S. E., Cloetens, L. F. F., Carballa, M., Boon, N., Verstraete, W. 2009. Granular biomass capable of partial nitrification and anammox. *Water Science and Technology*. 58 (5). 1113 - 1120.
- Winkler, M. K. H., Kleerebezem, R., van Loosdrecht, M. C. M. 2012. Integration of anammox into the aerobic granular sludge process for main stream wastewater treatment at ambient temperatures. *Water Research*. 46. 136 - 144.
- Xing, Y., Clark, I. D. 2011. Chapter 5: Anaerobic Ammonium Oxidation in Waste Water - An Isotope Hydrological Perspective. *Waste Water - Treatment and Reutilization*. InTech. 446 p. ISBN: 9789533072494. Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/waste-water-treatment-and-reutilization>
- Zekker, I., Rikmann, E., Mandel, A., Kroon, K., Loorits, L., Mihkelson, J., Seiman, A., Daija, L., Tenno, T. 2015. Smooth temperature decreasing for nitrogen removal in cold (9 - 15°C) anammox biofilm reactor tests. *European Scientific Journal* August. [online]. srpen 2015. [cit.2017-02-18] Dostupné z <<http://ejournal.org/index.php/esj/article/view/6174/5959>>. ISSN: 1857 – 7881.