



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA STAVEBNÍ

FACULTY OF CIVIL ENGINEERING

ÚSTAV CHEMIE

INSTITUTE OF CHEMISTRY

ODSTRANĚNÍ DUSIČNANŮ
ZE ZEMĚDĚLSKÝCH SMYVŮ

NITRATE REMOVAL FROM AGRICULTURAL RUNOFF

DISERTAČNÍ PRÁCE

DOCTORAL THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Ing. Mgr. Kateřina Schrimpelová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. JITKA MALÁ, Ph.D.

BRNO 2019

ABSTRAKT

Narůstající koncentrace dusičnanů v povrchových i podzemních vodách se stává globálním problémem. Disertační práce je zaměřena na možnost využití denitrifikačních bioreaktorů s organickou náplní v ČR pro snižování vnosu dusičnanů ze zemědělských ploch. V rámci práce byla provedena řada experimentů v laboratorních podmínkách – statické testy vyluhovatelnosti a kolonové experimenty zahrnující chemické rozborů odtékajících vod a ekotoxikologické biotesty. Testováno bylo 7 materiálů náplně běžně dostupných v ČR, odlišné parametry provozu, způsob a délka odstávek v bezdeštném období a možnost použití odtékajících vod na zavlažování. Práce se kromě vlivu na účinnost denitrifikace zabývala také možnostmi zmírnění negativního vlivu. Součástí práce je také posouzení celkového vlivu bioreaktorů na recipient a predikce vyluhování v následujících letech.

KLÍČOVÁ SLOVA

Denitrifikační bioreaktor, dusičnany, zemědělství, dřevní materiál, organické látky

ABSTRACT

The increasing concentration of nitrates in surface water and groundwater is becoming a global problem. The dissertation thesis is focused on the denitrifying bioreactors with organic fill material designed for the reduction of nitrate input from agricultural areas in the Czech Republic. A set of laboratory experiments was performed – static leaching tests and column tests, including chemical analyses of outflow water and ecotoxicological bioassays. Seven materials common in the Czech Republic, various process parameters, types and lengths of bioreactor shutdown in dry periods and the use of outflow water for irrigation were tested. The thesis deals with both denitrification efficiency and ways of reducing negative effects. An evaluation of the overall effect bioreactors is included along with a prediction regarding leaching over the following years.

KEYWORDS

Denitrifying bioreactor, nitrates, agriculture, wood-based material, organic substances

BIBLIOGRAFICKÁ CITACE

SCHRIMPELOVÁ, KATEŘINA. *Odstranění dusičnanů ze zemědělských smyvů*. Brno, 2019. 156s. Disertační práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta stavební, Ústav chemie. Vedoucí práce doc. Ing. Jitka Malá, Ph.D.

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala mé školitelce Jitce Malé za vedení při vypracování práce, cenné rady, podporu při studiu a čas, který mi věnovala.

Dále bych ráda poděkovala Karlu Hrichovi, Zuzaně Bílkové, Ondřeji Karáskovi a Michalu Kriškovi za pomoc při výzkumu a laboratorních pracích.

V neposlední řadě patří mé poděkování Petrovi a mé rodině za podporu a neskonale trpělivost a pochopení.

OBSAH

1.	ÚVOD	8
2.	SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	9
2.1	Dusík ve vodách.....	9
2.2	Formy dusíku ve vodách.....	11
2.2.1	Amoniakální dusík	11
2.2.2	Dusitany	12
2.2.3	Dusičnany	13
2.2.4	Elementární dusík a azoxid	13
2.3	Koloběh dusíku v přírodě a transformace jednotlivých forem	14
2.3.1	Transformace forem dusíku ve vodách.....	15
2.3.2	Asimilace amoniaku	15
2.3.3	Amonifikace	16
2.3.4	Fixace dusíku.....	16
2.3.5	Nitrifikace.....	16
2.3.6	Denitrifikace.....	17
2.3.7	Disimilační nitrátová redukce.....	17
2.3.8	ANAMMOX	18
2.4	Denitrifikace	19
2.4.1	Podmínky denitrifikace	19
2.4.2	Rozpuštěný kyslík	20
2.4.3	Substrát.....	20
2.4.4	Denitrifikační bakterie.....	21
2.4.5	Stechiometrie.....	22
2.4.6	Využití denitrifikace v čistírenských technologiích	23
2.4.7	Denitrifikace v půdě a horninovém prostředí	24
2.5	Denitrifikační bioreaktory s náplní na bázi dřeva.....	25
2.5.1	Výhody.....	26
2.5.2	Forma bioreaktorů	26
2.5.3	Drenážní vody	28
2.5.4	Průběh denitrifikace v bioreaktorech.....	30
2.5.5	Provozní parametry bioreaktorů	31
2.5.6	Náplň bioreaktoru.....	32
2.5.7	Stavba a složení dřeva	34
2.5.8	Rozklad organické náplně	37
2.5.9	Náběhová fáze a nežádoucí vyluhování látek z náplně	38
2.5.10	Ekotoxicita látek vyluhovaných z náplně	39

2.5.11	Využití vod z náběhové fáze	41
2.5.12	Odstavení v bezdeštném období.....	41
3.	CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE	43
4.	MATERIÁL A METODY	44
4.1	Testované materiály	44
4.2	Statické testy vyluhovatelnosti	44
4.3	Provoz denitrifikačních kolon.....	45
4.4	Stanovení fyzikálně-chemických parametrů.....	48
4.5	Ekotoxikologické biotesty	49
4.6	Sustainability index.....	53
4.7	Předpovědní model	54
5.	VÝSLEDKY A DISKUZE	55
5.1	Výběr materiálu náplně	55
5.1.1	Testované materiály	55
5.1.2	Výsledky.....	55
5.1.3	Vyluhování organických látek.....	56
5.1.4	Vyluhování nutrientů.....	58
5.1.5	Hodnota pH a konduktivita výluhu	59
5.1.6	Fenolické látky ve výluhu	60
5.1.7	Ekotoxicita výluhu	61
5.1.8	Trojnásobné statické výluhy	65
5.1.9	Shrnutí	69
5.2	Úprava materiálu náplně vysušením	71
5.2.1	Výsledky.....	71
5.2.2	Srovnání fyzikálně chemických parametrů neupravených a upravených výluhů	72
5.2.3	Shrnutí	74
5.3	Náběhová fáze provozu bioreaktoru	75
5.3.1	Vyluhovatelnost látek z náplně v náběhové fázi bioreaktoru	75
5.3.2	Průběh denitrifikace v náběhové fázi bioreaktoru	80
5.3.3	Hodnota pH a koncentrace rozpuštěného O ₂ na odtoku	83
5.3.4	Shrnutí	84
5.4	Odstávky bioreaktorů v bezdeštném období	86
5.4.1	Vliv způsobu odstávky na vyluhování látek z náplně.....	88
5.4.2	Kvalita vody stagnující v zatopené koloně.....	92
5.4.3	Vliv způsobu odstávky na parametry denitrifikace	95
5.4.4	Hodnota pH	97

5.4.5	Shrnutí	98
5.5	Vliv provozních parametrů	100
5.5.1	Vliv délky HRT	100
5.5.2	Vliv vstupní koncentrace dusičnanů	102
5.5.3	Vliv teploty	104
5.5.4	Shrnutí	105
5.6	Využití odtékajících vod pro zavlažování	107
5.7	Vliv denitrifikačních bioreaktorů na recipient	109
5.7.1	Hodnocení vlivu denitrifikačních bioreaktorů	109
5.7.2	Předpověď vyluhování látek u víceletého provozu bioreaktorů	111
5.7.3	Shrnutí	114
6.	ZÁVĚR A PŘÍNOS PRO ROZVOJ VĚDNÍ DISCIPLÍNY	115
7.	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	117
8.	SEZNAM PUBLIKOVANÝCH PŘÍSPĚVKŮ	127
9.	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	131
10.	SEZNAM OBRÁZKŮ	133
11.	SEZNAM TABULEK	135
12.	SEZNAM PŘÍLOH	137
13.	PŘÍLOHY	138

1. ÚVOD

Dusík (N) je nezbytným prvkem pro tvorbu živé hmoty, který je běžně přítomen v přírodních vodách. Vlivem lidské činnosti však koncentrace N, zejména ve formě dusičnanů (NO_3^-), ve vodách roste, což může negativně ovlivnit ekosystém vodních těles a také využívání vody člověkem. Problémem je eutrofizace vod, zapříčiňující výskyt vodního květu, a nutnost odstraňování NO_3^- při úpravě pitné vody.

Jedním z řešení by mohla být technologie denitrifikačních bioreaktorů s organickou náplní, které jsou umístěny na okraji zemědělských ploch a odstraňují NO_3^- před vtokem do vod povrchových. Tato technologie je zavedena do praxe v několika zahraničních zemích (např. USA, Kanada) a v řadě dalších probíhá výzkum (Dánsko, Irsko...). V ČR však není dosud využívána tato ani obdobná technologie pro snížení vnosu NO_3^- ze zemědělských smyvů.

Hlavní výhodou této technologie je zejména její jednoduchost, protože se jedná o box nebo příkop naplněný organickým materiálem, přes který voda volně protéká. Z toho vyplývají i nízké pořizovací a provozní náklady a minimální údržba. Denitrifikační bioreaktory se při využití vhodné náplně vyznačují dlouhou životností v řádu let až desetiletí, kdy je zachována dostatečná účinnost denitrifikace.

Využití denitrifikačních bioreaktorů se však potýká nedořešenými problémy. Významné je nadměrné vyluhování organických látek z náplně v počáteční fázi provozu. Vyluhované organické látky mohou působit kyslíkový deficit v recipientu, nebo mít dokonce ekotoxický účinek a nepříznivě ovlivňovat biotu. Je však možné využít opatření pro zmírnění tohoto negativního vlivu, např. výběr vhodného materiálu náplně, úprava provozních parametrů, způsob odstávek v bezdeštném období, nebo použití odtékajících vod na zavlažování.

Obsahem práce je posouzení využití technologie denitrifikačních bioreaktorů pro odstraňování NO_3^- ze zemědělských smyvů v podmínkách ČR. V rámci práce je provedena řada experimentů v laboratorních podmínkách pro srovnání různých materiálů náplně běžně dostupných v ČR a parametrů provozu. Kromě zajištění vhodných podmínek pro denitrifikaci je také posuzováno zmírnění negativního vlivu bioreaktorů.

2. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

2.1 Dusík ve vodách

Sloučeniny N jsou přirozeně přítomny ve všech typech přírodních vod. Vznikají zejména rozkladem organických látek rostlinného a živočišného původu a jsou tedy převážně biogenního původu. Do povrchových a podzemních vod se také mohou dostávat spolu s vodami atmosférickými, nebo fixací N_2 z atmosféry pomocí specifických mikroorganismů. Mikroorganismy zajišťují většinu transformací N-látek.

Kromě přirozených zdrojů se N-látky do vod dostávají také antropogenním působením, a to zejména se splaškovými odpadními vodami (specifická produkce N_{celk} je 12 g na 1 obyvatele na 1 den) (Pitter, 2015). Významným zdrojem je ale také zemědělství, u kterého se jedná především o živočišné a rostlinné odpady, vyplavování NO_3^- z půd a splachy ze zemědělsky obdělávané půdy hnojené dusíkatými hnojivy. Zdrojem mohou být i některé průmyslové odpadní vody (např. z potravinářství a zpracování uhlí).

NO_3^- jsou koncovým produktem nitrifikace, tudíž jsou jejich koncentrace v aerobním prostředí oproti ostatním formám N obvykle nejvyšší. NO_3^- nejsou natolik škodlivé jako ostatní formy N a vylučují se poměrně rychle močí, ale přesto jsou vysoké koncentrace nežádoucí zejména v pitných vodách. V gastrointestinálním traktu totiž může docházet k jejich redukci na toxičtější NO_2^- , které reagují s hemoglobinem v krvi a přeměňují jej v methemoglobin neschopný přenosu O_2 . Onemocnění způsobené zvýšenou hladinou methemoglobinu v krvi se nazývá dusičnanová alimentární methemoglobinemie a může vést až k úmrtí. Problém je zejména u kojenců. NO_2^- , ať už přítomny v pitné vodě, nebo vzniklé následně endogenně z NO_3^- , mohou v kyselém prostředí gastrointestinálního traktu vytvářet potenciálně karcinogenní nitrosaminy. Nitrosaminy se však mohou tvořit také při chloraci vod při její úpravě na pitnou. (Pitter, 2015) Odstraňování NO_3^- pro splnění mezní hodnoty pro pitnou vodu dle Vyhlášky č. 70/2018 Sb. zvyšuje náklady na úpravu vody.

Zvýšené koncentrace N a P mohou mít také za následek eutrofizaci vod a výskyt vodního květu, který může produkovat toxiny, či způsobit hypoxii, narušit potravní řetězec, případně způsobit další zhoršení kvality vody. N spolu s P náleží do skupiny

nutrientů a patří mezi nejdůležitější makrobiogenní prvky (N je přijímán rostlinami zejména ve formě NH_4^+ a NO_3^-) (Pitter, 2015). V mnoha tělesech sladkých vod je sice limitujícím faktorem pro výskyt vodního květu P, to je dáno zejména tím, že se zde vyskytují druhy sinic schopné fixace N_2 z atmosféry. Ve sladkých vodách vodě také obvykle není většina P biodostupná, protože je adsorbován na jílové nebo jiné částice. K jeho desorpci dochází zejména až po zvýšení salinity. U planktonních sinic v estuáriích a příbřežních mořích je také méně častá schopnost fixace N_2 . Na rozdíl od sladkovodního prostředí, estuária a příbřežní oblasti mohou být P i N limitující a sezóně zde může docházet i ke změnám limitujícího prvku z důvodu mísení vod a uvolňování P ze sedimentů. Obecně je tedy potřebné v povrchových vodách omezovat zdroje P i N, protože N může způsobovat eutrofizaci zejména v estuarinních a příbřežních oblastech. Eliminace pouze P přesouvá problém níže do přímořských oblastí, nebo může působit další problémy. (Conley *et al.*, 2009)

V rámci Evropské unie je problematika NO_3^- zahrnuta ve směrnici Evropského parlamentu a Rady 2000/60/ES, kterou se stanoví rámec pro činnost Společenství v oblasti vodní politiky (Rámcová směrnice o vodách), kde jsou NO_3^- uvedeny spolu s fosforečnany jako hlavní znečišťující látky – látky přispívající k eutrofizaci. Účelem Rámcové směrnice o vodách je stanovit rámec pro ochranu vnitrozemských povrchových vod, brakických vod, pobřežních vod a podzemních vod, který mimo jiné zabrání dalšímu zhoršování a zlepší stav vodních ekosystémů a zajistí cílené snižování znečištění podzemních vod. Členské státy by měly zajistit také omezování znečištění z difúzních zdrojů zahrnující nejlepší environmentální postupy. Problematikou NO_3^- se podrobněji zabývá směrnice Rady 91/676/EHS o ochraně vod před znečištěním dusičnany ze zemědělských zdrojů (Nitrátová směrnice), jejímž obsahem je monitoring znečištění NO_3^- , vymezení ohrožených/zranitelných oblastí a vydání opatření pro ochranu před znečištěním NO_3^- . V roce 2016 tvořil podíl zranitelných oblastí 41,9 % rozlohy ČR (MZe, 2019). Rámcovou směrnicí o vodě z hlediska chemického stavu podzemních vod doplnila Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2006/118/ES o ochraně podzemních vod před znečištěním a zhoršováním stavu. Ta mimo jiné zavádí postupy při určování norem jakosti podzemních vod a opatření k omezení a zamezení vstupu znečišťujících látek do podzemních vod. Pro účely hodnocení chemického stavu podzemních vod byly stanoveny normy jakosti podzemní vody, kde norma jakosti pro NO_3^- byla stanovena na hodnotu 50 mg/l.

2.2 Formy dusíku ve vodách

N se ve vodách nejčastěji vyskytuje ve sloučeninách s oxidačním stupněm $-III$ (amoniakální dusík $N-NH_4^+$ a $N-NH_3$), 0 (plynný dusík N_2), $+III$ (dusitanový dusík $N-NO_2^-$) a $+V$ (dusičnanový dusík $N-NO_3^-$). Obvykle se stanovuje celkový dusík (TN), který se dělí na anorganicky vázaný dusík N_{anorg} a organicky vázaný dusík N_{org} . Sloučeniny N jsou ve vodách málo stabilní a podléhají zejména biochemickým přeměnám. (Pitter, 2015)

N_{anorg} patří mezi významné sumární ukazatele znečištění odpadních a povrchových vod. Jedná se o $N-NH_4^+$, $N-NO_2^-$ a $N-NO_3^-$. NO_2^- a NO_3^- se označují jako oxidované formy N a jejich suma jako celkový oxidovaný dusík N-ox. Další anorganické formy N, jako jsou kyanidy, kyanatany, kyanokomplexy a amminkomplexy se ve vodách přirozeně nevyskytují ve znatelných koncentracích. (Pitter, 2015)

N_{org} je ve vodách přítomen ve formě bílkovin a jejich rozkladných produktů (peptidů a aminokyselin), močoviny, alifatických a aromatických aminů, aminosacharidů, heterocyklických N sloučenin a dalších. (Pitter, 2015) N_{org} je z velké části biologicky rozložitelný. Během biologických procesů však N_{org} také vzniká. Důležitou vlastností je biologická dostupnost pro organismy, která nemusí zcela korespondovat s biologickou rozložitelností. Některé studie totiž dokazují, že i biologicky nerozložitelný N může být využíván fytoplanktonem a tedy i způsobovat růst řas. (Water Environmental Federation, 2010) Pro stanovení celkového N_{org} Kjeldahlovou metodou je stanoven Kjeldahlův dusík (TKN), který je sumou N_{org} a $N-NH_4^+$. (Pitter, 2015)

2.2.1 Amoniakální dusík

Amoniakální dusík se ve vodách vyskytuje ve formě amonného kationu NH_4^+ a v neiontové formě jako amoniak NH_3 . Chemickými analytickými metodami se vždy stanoví obě formy současně a celkový amoniakální dusík je sumou těchto dvou forem (v této práci pro zjednodušení vždy uváděn jako $N-NH_4^+$, resp. NH_4^+). Jejich poměr je závislý zejména na pH a teplotě, kdy zvyšující se pH i teplota způsobují větší zastoupení nedisociovaného NH_3 . To je významné zejména z toxikologického hlediska, z důvodu toxicity NH_3 pro ryby. Amoniakální dusík může také tvořit amminkomplexy s ionty různých kovů, které mohou být poměrně stabilní. Obvykle se vyskytují v odpadních vodách z galvanického pokovování. (Pitter, 2015)

Amoniakální dusík vzniká rozkladem většiny organických N-látek živočišného a rostlinného původu. Antropogenním zdrojem organického původu jsou především splaškové vody, odpady ze zemědělských výroby a kalová voda z anaerobní stabilizace čistírenských kalů. Mimořádně vysoké koncentrace N-NH_4^+ lze zjistit v odpadech ze zemědělství, kde odpady ze silážování dosahují koncentrací až 400 mg/l a močůvka až 7 000 mg/l. Zdrojem mohou být také emise amoniaku v okolí závodů živočišné velkovýroby. Zdrojem anorganického původu jsou dusíkatá hnojiva, specifické průmyslové odpadní vody a průmyslové exhalace. Amonné sloučeniny mohou vznikat také sekundárně v případě hluboko uložených zvodní, kde dochází k chemické redukci NO_3^- . Jako minerály se amonné soli v přírodě obvykle nevyskytují (výjimku tvoří minerál struvit $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). (Pitter, 2015)

N-NH_4^+ je za oxických podmínek nestálý a snadno podléhá biochemické oxidaci – nitrifikaci. Ionty NH_4^+ se také dobře sorbují na negativně nabitých anorganických a organických částicích půd a podléhají iontové výměně. (Pitter, 2015)

2.2.2 Dusitany

NO_2^- ve vodách vznikají biochemickou oxidací NH_4^+ – nitrifikací, nebo výjimečně také biochemickou redukcí NO_3^- . Zvýšené koncentrace NO_2^- se vyskytují ve splaškových vodách, případně při intenzivním chovu ryb, zejména v recirkulačních systémech. Na NO_2^- jsou také bohaté některé průmyslové vody, např. z výroby barev a strojírenství (možná součást chladicích kapalin, inhibitorů koroze a nemrznoucích kapalin). NO_2^- mohou vznikat i v atmosférických vodách, případně při desinfekci vody bohaté na NO_3^- UV-zářením. Jako minerály se NO_2^- nevyskytují. (Pitter, 2015)

NO_2^- jsou odvozeny od slabé kyseliny HNO_2 . Ve vodách s hodnotami pH nad 5 zcela převažuje disociovaná forma NO_2^- . Komplexační schopnost NO_2^- je malá a většina NO_2^- je ve vodě dobře rozpustná. (Pitter, 2015)

Ve vodách se obvykle NO_2^- nachází společně s NH_4^+ a NO_3^- . Jedná se o meziprodukt chemických a biochemických transformací sloučenin N. Jsou nestálé a za oxických podmínek jsou rychle biochemicky oxidovány (nitrifikací) na NO_3^- . Naopak při anoxických podmínkách může docházet k biochemické redukci (denitrifikace) na plynné formy N. Proto se obvykle vyskytují v nízkých koncentracích (ve velmi čistých vodách pouze stopové koncentrace v řádu tisícín mg/l). NO_2^- se mohou za

specifických podmínek (teplota, koncentrace O_2 , pH a koncentrace N) nahromadit během nitrifikace. (Pitter, 2015) To je způsobeno vyšší citlivostí nitratačních bakterií, které zprostředkovávají druhý stupeň nitrifikace. (Water Environmental Federation, 2010)

2.2.3 Dusičnany

NO_3^- patří mezi čtyři hlavní anionty ve vodách a vyskytují se téměř ve všech typech vod. Jsou konečným stupněm rozkladu organických N-látek v oxickém prostředí. Vznikají hlavně sekundárně při nitrifikaci NH_4^+ . Dalším zdrojem NO_3^- je používání dusíkatých hnojiv. Částečně vnikají také v atmosféře, kde oxidy dusíku reagují s vodou za vzniku HNO_3 , což může způsobit výskyt kyselých dešťů. NO_3^- jsou v minerálech obsaženy velmi zřídka. V hojnějším množství se vyskytuje chilský ledek ($NaNO_3$), ale pouze na některých mimoevropských lokalitách. (Pitter, 2015)

NO_3^- jsou odvozeny od HNO_3 , ale při pH přírodních i odpadních vod se vyskytují pouze jako anion NO_3^- . NO_3^- také mají téměř zanedbatelné komplexační vlastnosti. V porovnání s NH_4^+ mají malou sorpční schopnost, proto mohou snadno migrovat půdním sorpčním komplexem i do vzdálených míst. (Pitter, 2015)

Dusičnany jsou v oxických podmínkách stabilní, v anoxických podmínkách však pomocí biologické denitrifikace dochází k jejich přeměně na N_2 . Kromě biologické redukce je možná i chemická redukce (především kovy, NH_4^+ , hydroxylaminem, hydrazinem a některými organickými látkami), během které by měl vznikat převážně NH_4^+ , případně N_2 . Chemická redukce je však limitována kinetikou reakcí a vyžaduje specifické podmínky (pH, přítomnost katalyzátorů, počáteční poměr reaktantů). (Pitter, 2015)

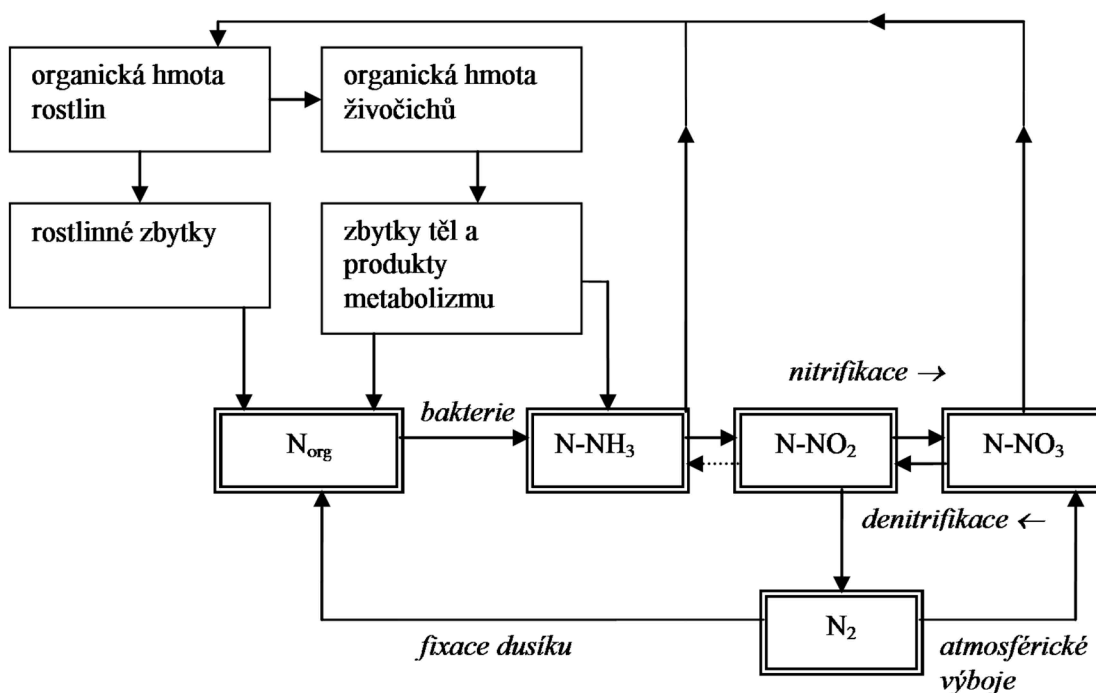
2.2.4 Elementární dusík a azoxid

Elementární dusík N_2 se do vod dostává převážně difúzí z atmosféry. Ačkoli není příliš rozpustný, parciální tlak v atmosféře je relativně vysoký, čímž se zvyšuje i jeho koncentrace ve vodách. N_2 se také může tvořit přímo ve vodě nebo v půdě za anoxických podmínek denitrifikačními pochody. Rozpuštěný N_2 je za běžných podmínek stabilní a nepodléhá chemickým přeměnám. Některé bakterie a sinice jsou však schopné fixace N_2 , a tím jeho přeměny na NH_4^+ . (Pitter, 2015)

Azoxid (N_2O) vzniká současně s N_2 při denitrifikaci. Hlavním producentem je zemědělství (přes 80%) a následně emise při spalování paliv. Z malé části vzniká také při biologickém čištění odpadních vod (při kombinaci nitrifikace a denitrifikace), případně v sedimentech vodních nádrží. N_2 ani N_2O nemají ve vodách hygienický význam. N_2O však přispívá k narušování ozonové vrstvy v atmosféře. (Pitter, 2015)

2.3 Koloběh dusíku v přírodě a transformace jednotlivých forem

N je v ekosystému transportován a podléhá přeměnám mezi jednotlivými formami. Schéma koloběhu N v přírodě je uvedeno na Obr. 2.3.1.



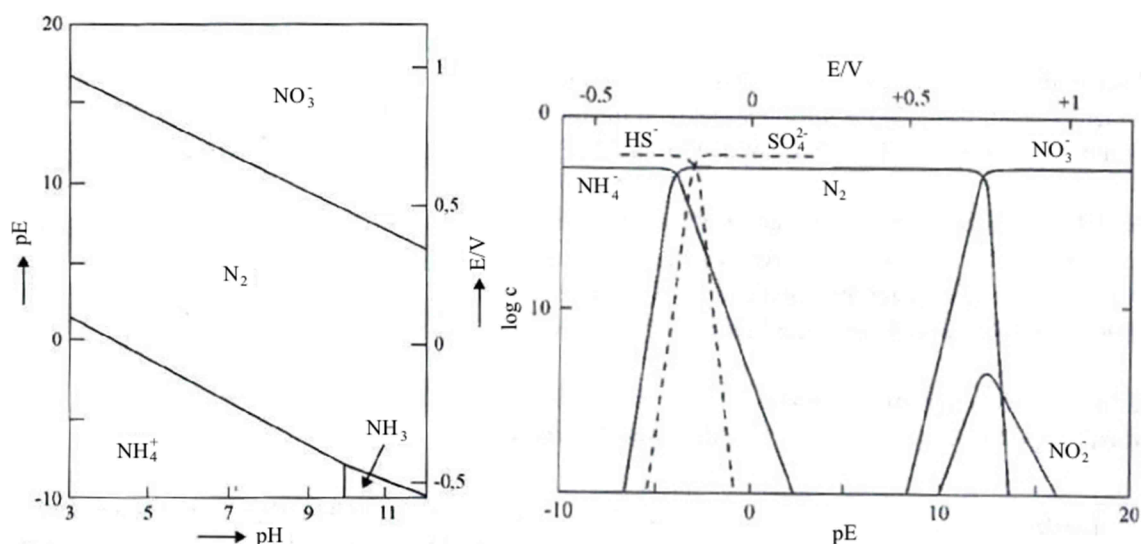
Obr. 2.3.1. Koloběh dusíku (Malá, 2007)

Hlavním zdrojem N je atmosféra, kde tvoří 78,08 % obj., a to zejména ve formě N_2 . Působením atmosférických výbojů a deštěm, nebo fixací N specifickými bakteriemi je N_2 přeměňován na biologicky využitelné formy. N je obsažen v biosféře v tělech rostlin a živočichů, jedná se o makroživinu potřebnou ke stavbě živé hmoty. Odumřelá těla či produkty metabolismu podléhají rozkladu a N_{org} je přeměňován na NH_4^+ . Ten je následně nitrifikací v oxickém prostředí transformován na NO_2^- a NO_3^- . V anoxickém prostředí pomocí denitrifikace dochází k přeměně NO_3^- na N_2 , který uniká z vody do atmosféry.

2.3.1 Transformace forem dusíku ve vodách

N sloučeniny jsou ve vodách málo stabilní a podléhají zejména biochemickým přeměnám v závislosti na pH a ORP (oxidačně-redukční potenciál), i když může docházet i k přeměnám chemickým. Z biochemických přeměn anorganických forem N je nejdůležitější oxidace NH_4^+ na NO_2^- a následně NO_3^- – nitrifikace; a redukce NO_3^- na N_2 – denitrifikace.

Diagramy na Obr. 2.3.2 ukazují, že NO_3^- jsou stabilní při relativně vysokých hodnotách ORP (E). Při slabě pozitivních hodnotách ORP (anoxické podmínky) mohou NO_3^- podléhat redukci na N_2 . Ve směsi SO_4^{2-} a NO_3^- se přednostně redukuje NO_3^- . (Pitter, 2015)



Obr. 2.3.2. Diagram převažující existence systému $\text{NH}_3\text{--NH}_4^+\text{--N}_2\text{--NO}_3^-$ (N_2 uvažován jako aktivní komponenta, $T=25\text{ }^\circ\text{C}$, $I=0$) vlevo, diagram převažující existence systému $\text{NO}_2^-\text{--NO}_3^-\text{--NH}_4^+\text{--NH}_3$ (N_2 uvažován jako inaktivní komponenta, $T=25\text{ }^\circ\text{C}$, $I=0$) vpravo (Pitter, 2015)

2.3.2 Asimilace amoniaku

Mikroorganismy vyžadují N pro tvorbu proteinů. NH_4^+ je preferovaným zdrojem vstřebatelného N, protože je ve stejném oxidačním stavu jako biomasa a tudíž nemusí být dále redukován. Při absenci NH_4^+ , nebo redukováného N_{org} (který je vstřebáván po amonifikaci), mohou některé mikroorganismy asimilovat i NO_2^- a NO_3^- , ale se značnými ztrátami energie spotřebované pro redukci (Pitter, 2015). Tento proces je

nazýván asimilační nitrátová redukce a může probíhat pouze v aerobních podmínkách (Water Environmental Federation, 2010).

2.3.3 Amonifikace

Amonifikace (deaminace) je proces, při kterém je N_{org} přeměňován mikrobiální činností na NH_4^+ . Proces je zabezpečován organotrofními bakteriemi a je nezbytný pro následnou nitrifikaci. Rychlost amonifikace je závislá na koncentraci N_{org} v substrátu, koncentraci heterotrofní biomasy, která katalyzuje amonifikační reakci, a poměru C:N. (Water Environmental Federation, 2010)

2.3.4 Fixace dusíku

Redukce N_2 na NH_4^+ se označuje jako fixace N. V přírodě tento proces zajišťují některé sinice (např. *Anabaena*, *Microcystis*, *Nostoc*, *Aphanizomenon*), bakterie (např. *Clostridium*, *Azotobacter*, *Rhizobium*) a motýlokvěté rostliny (např. jetel, hrách, hrachor). Proces probíhá uvnitř buňky za striktně anaerobních podmínek. (Pitter, 2015)

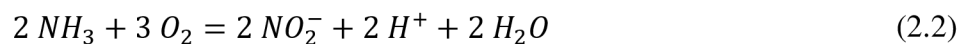
2.3.5 Nitrifikace

Jako nitrifikace je označována biochemická oxidace NH_4^+ , jejímž koncovým produktem jsou méně toxické NO_3^- . Jedná se o aerobní proces, při kterém je spotřebováván O_2 k respiraci organismů – slouží jako akceptor elektronů. K úplné nitrifikaci 1 g N- NH_4^+ je potřeba zhruba 4,33 g O_2 . Nitrifikaci zajišťují především chemolitotrofní (autotrofní) mikroorganismy a výjimečně mikroorganismy organotrofní (heterotrofní). Chemolitotrofní organismy využívají CO_2 jako zdroj C a energii získávají z chemické reakce. (Pitter, 2015)

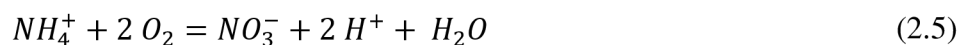
Nitrifikace je dvoustupňový proces, který probíhá podle schématu:



První krok oxidace NH_4^+ , resp. NH_3 , na NO_2^- je označován jako nitritace (rovnice 2.2) a druhý krok oxidace NO_2^- na NO_3^- jako nitratace (rovnice 2.3).



Výslednou rovnici nitrifikace lze psát v následujících tvarech:



Z uvedených rovnic vyplývá, že při těchto reakcích dochází k uvolňování vodíkových iontů, a tedy k okyselování prostředí. Při přílišném poklesu pH (pod 6 až 6,5) může dojít až k inhibici nitrifikace. (Pitter, 2015) Při nitrifikaci je také spotřebováván O_2 , což může vést až k jeho vyčerpání. (Gerardi, 2002)

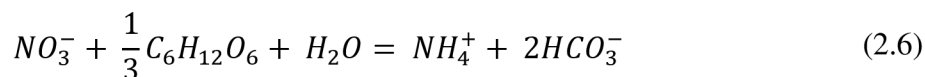
Každý z kroků nitrifikace vyžaduje jiný druh bakterií. Hlavními rody nitrifikačních bakterií jsou *Nitrosomonas* (nitritace) a *Nitrobacter* (nitratice). V přírodě jsou nitrifikační bakterie rozšířeny a to zejména uchycené na površích (např. ve dnových sedimentech, v půdě, na částicích). Při oxických podmínkách nitrifikace ve vodách probíhá velmi snadno. (Pitter, 2015)

2.3.6 Denitrifikace

Denitrifikace je biochemická redukce NO_3^- na NO_2^- a následně na oxidy N a N_2 . Rozsáhlejší informace jsou uvedeny v kapitole 2.4 Denitrifikace.

2.3.7 Disimilační nitrátová redukce

Disimilační nitrátová redukce (DNRA) je proces, při kterém dochází k redukcí NO_3^- na NH_4^+ (s meziproduktem NO_2^-). Stechiometrická definice DNRA při použití glukózy jako substrátu je uvedena v následující rovnici (Nordstöm & Herbert, 2018):



Probíhá v bezkyslíkatém prostředí s vysokým poměrem C_{org}/N (nad 12), kde se stává konkurenčním prostředím denitrifikace. Proces zabezpečují specifické druhy mikroorganismů. Podíl DNRA a denitrifikace je nejspíše dán hlavně poměrem C_{org}/N a ORP (Friedl *et al.*, 2018).

2.3.8 ANAMMOX

Odlišným procesem je anaerobní oxidace NH_4^+ (ANAMMOX), při které dochází k oxidaci na NO_2^- a poté ke vzniku N_2 dle rovnice:

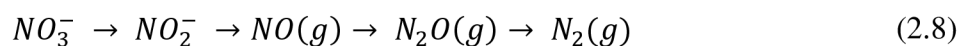


K tomuto procesu dochází za specifických podmínek zejména v technologických aplikacích. Využívá toho, že za specifických podmínek probíhá pouze první fáze nitrifikace – nitritace, kdy dochází k hromadění NO_2^- . Následně za anaerobních podmínek pomocí specializovaných mikroorganismů vzniká přímo N_2 . (Pitter, 2015) Bakterie schopné tohoto procesu jsou např. druhy *Brocadia anammoxidans*, *Kuenenia stuttgartiensis*, *Scalindua brodae*, *Scalindua wagneri* a *Scalindua sorokinii*. (Water Environmental Federation, 2010) Ve srovnání s kombinací nitrifikace-denitrifikace vyžaduje méně O_2 , nevyžaduje organický substrát a tvoří méně biomasy. (Pitter, 2015)

2.4 Denitrifikace

Denitrifikace (přesněji respirační denitrifikace) je biochemickým procesem redukce NO_3^- a NO_2^- na plynné formy N, především N_2O a N_2 . Tímto procesem je snižována koncentrace TN ve vodách, protože N_2 ve formě plynu uniká do atmosféry. Denitrifikace je mikrobiální proces zajišťovaný širokou skupinou mikroorganismů, zejména bakterií, a probíhá v anoxických podmínkách. Obvykle denitrifikaci předchází nitrifikace, která zajišťuje přeměnu ostatních forem N na vhodné akceptory elektronů. Nutná je také přítomnost donoru elektronů (zdroj energie), kterým je obvykle organický substrát. Denitrifikace stejně jako nitrifikace probíhá ve vodách velmi snadno. (Pitter, 2015)

Denitrifikace je čtyřfázový proces přeměny N, který probíhá podle následujícího schématu:



Konečným akceptorem elektronů je N na oxidačním stupni +III (N- NO_2^-) nebo +V (N- NO_3^-). NO_2^- , NO a N_2O jsou mezičleny toho procesu. N_2 je plyn přirozeně obsažený v atmosféře, produkce NO a N_2O je nežádoucí, protože narušují ozonovou vrstvu. NO však není obvykle jako meziprodukt detekován, případně se také může jednat o produkt vedlejší reakce. Proces může být přerušen předčasně, což způsobuje produkci N_2O , která může být způsobena vyššími koncentracemi NO_2^- , nebo nedostatkem organického substrátu.

Každý krok denitrifikace vyžaduje specializovanou reduktázu, což je enzym, který katalyzuje přenos elektronů na N. Přítomnost O_2 způsobuje inhibici těchto enzymů. (Water Environmental Federation, 2010)

2.4.1 Podmínky denitrifikace

Denitrifikace je ovlivněna několika faktory, zejména přítomností substrátu (obvykle C_{org}), absencí rozpuštěného O_2 , přítomností vhodné a aktivní populace denitrifikačních bakterií, pH, teplotou, živinami (N a P) a ORP. Nejvíce kritickými je přítomnost substrátu a absence volného O_2 . (Gerardi, 2002)

Denitrifikace probíhá v širokém rozmezí pH, a to mezi 6-9 (Pitter, 2015). Pro zachování dostatečné enzymatické aktivity by však mělo být pH nad 7 a optimální hodnoty jsou mezi 7 a 7,5 (Gerardi, 2002).

Protože denitrifikace probíhá na základě biochemických procesů, je závislá na teplotě, kdy se s rostoucí teplotou zvyšuje i r_D . Denitrifikace je inhibována při teplotách okolo 5 °C. (Gerardi, 2002)

NO_2^- a NO_3^- ionty jsou přítomny a využívány pro denitrifikaci při ORP +50 až -50 mV. V tomto rozmezí je O_2 přítomen v relativně malých koncentracích, zatímco NO_2^- a NO_3^- v relativně vysokých. Při vyšších hodnotách ORP (nad +50 mV) je akceptorem elektronů O_2 a při nižších hodnotách SO_4^{2-} (pod -50 mV). (Gerardi, 2002)

2.4.2 Rozpuštěný kyslík

Denitrifikace je respirační proces, během kterého mikroorganismy získávají energii. Většina denitrifikačních bakterií je fakultativně anaerobních, což znamená, že mohou využívat jak O_2 (aerobní respirace), tak oxidované formy NO_2^- nebo NO_3^- (anoxická respirace), jako hlavní akceptor elektronů pro respiraci. V případě, že je přítomen O_2 i oxidované formy N dávají mikroorganismy přednost O_2 jako hlavnímu akceptoru elektronů, protože je pro ně tato reakce energeticky výhodnější. O_2 tedy nesmí být pro průběh denitrifikace přítomen. (Water Environmental Federation, 2010)

Obsah O_2 , který inhibuje denitrifikaci je relativně nízký. Denitrifikace může být inhibována při koncentracích rozpuštěného O_2 nižších než 1 mg/l. Denitrifikace však může probíhat i při vyšších koncentracích O_2 ve vodě, např. uvnitř vloček kalu na základě gradientu koncentrace O_2 , a to u vloček o průměru větším než 100 μm . V tomto případě může současně probíhat nitrifikace (na okraji vloček) i denitrifikace (uprostřed vloček). (Gerardi, 2002)

2.4.3 Substrát

Elektrony mají svůj původ v substrátu, který je donorem elektronů. Jak anorganické (např. H nebo S), tak i organické sloučeniny mohou sloužit jako substrát pro denitrifikaci.

Denitrifikace vyžaduje přítomnost NO_3^- , substrátu (obvykle C_{org}), denitrifikačních bakterií a absenci rozpuštěného O_2 . r_D závisí převážně jen na dostupnosti donoru elektronů (C_{org}), který řídí biologické reakce. Dostupnost rozpustných a snadno biologicky rozložitelných organických látek znamená vyšší r_D .

Podle podmínek lze rozlišit dva typy denitrifikace – rychlou denitrifikaci, kdy je substrát (zdroj C) externí a je dostupný pro bakteriální růst, nebo pomalou denitrifikaci, při které dostupnost C závisí na rychlosti jeho mikrobiálního rozkladu (endogenní úroveň denitrifikace). (Water Environmental Federation, 2010)

Spotřeba substrátu při biologické denitrifikaci je ovlivněna mnoha faktory. Prvním je koncentrace přítomných akceptorů elektronů, jako jsou např. NO_3^- , NO_2^- , rozpuštěný O_2 a SO_4^{2-} . Velká část přítomného rozpuštěného O_2 musí být redukována před začátkem denitrifikace. NO_3^- a NO_2^- si v získávání elektronů ze substrátu konkurují zhruba ve stejné míře. Druhým faktorem ovlivňujícím dostupnost donoru elektronů je charakter molekuly donoru. Organické sloučeniny jsou využívány bakteriemi jako zdroj elektronů pro látkovou výměnu energie, ale taky jako zdroj C pro biosyntézu buněk. Třetím faktorem, který ovlivňuje dostupnost donoru elektronů je prodloužení denitrifikační reakce. Zkrácení dotace elektronů může způsobit zastavení reakce před vznikem plynného N_2 , takže množství odstraněného NO_3^- převyšuje množství vzniklého plynného N_2 za vzniku meziproductů (NO_2^- , N_2O).

SO_4^{2-} a mohou být biologicky redukovány až po spotřebě téměř celého rozpuštěného O_2 , NO_3^- a NO_2^- . Z tohoto důvodu může být dosaženo téměř celkové denitrifikace bez znatelné redukce SO_4^{2-} .

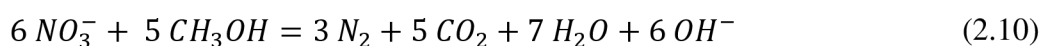
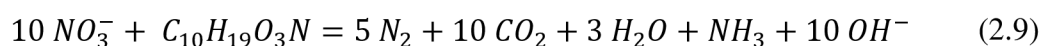
2.4.4 Denitrifikační bakterie

Přestože je denitrifikace schopných mnoho různých skupin mikroorganismů, jako např. houby a prvok z rodu *Loxodes*, tak většina denitrifikantů patří mezi bakterie (Gerardi, 2002). Existuje minimálně 14 rodů bakterií, které obsahují denitrifikující druhy, jako např. *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Methanomonas*, *Paracoccus*, *Spirillum* a *Thiobacillus*. (Water Environmental Federation, 2010) Některé bakterie jsou schopny využívat pouze NO_2^- (*Alcaligenes*), či NO_3^- ionty (*Enterobacter*, *Escherichia*). (Gerardi, 2002)

Většina druhů denitrifikačních bakterií je organotrofní, což znamená, že pro syntézu a získání energie využívají C z organických sloučenin. Existují však i litotrofní druhy, které získávají C z anorganických sloučenin. Příkladem litotrofní denitrifikační bakterie je *Thiobacillus denitrificans*, která dokáže současně s oxidací sulfidů či elementární síry redukovat NO_3^- na N_2 . (Water Environmental Federation, 2010)

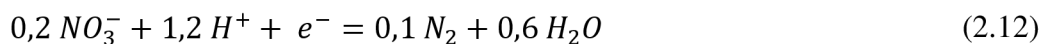
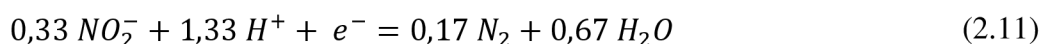
2.4.5 Stechiometrie

Principem denitrifikace je oxidace donoru elektronů za současné redukce NO_3^- . Stechiometrické rovnice pro denitrifikaci jsou závislé na zdroji C a zdroji N. Rovnice při využití odpadní vody ($\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}_3\text{N}$) a metanolu (CH_3OH) jako zdroje C a NO_3^- jako hlavního akceptoru elektronů vypadají následovně:

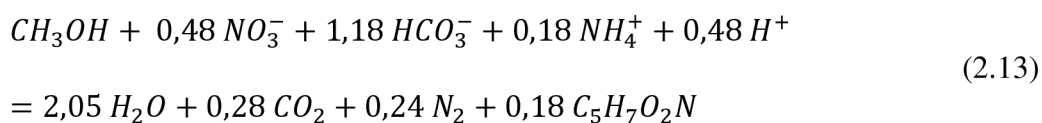


Rovnice ukazují, že při denitrifikaci dochází k uvolňování OH^- iontů a tím ke zvýšení alkality, na rozdíl od nitrifikace, při které dochází k uvolňování H^+ iontů. C_{org} je přeměňován na C_{anorg} ve formě CO_2 , který v plynné formě uvolňován do atmosféry, nebo se částečně rozpouští ve vodě. Rozpuštěný CO_2 se v alkalickém prostředí dále přeměňuje na HCO_3^- a CO_3^{2-} .

Oxidačně-redukční reakce využívající NO_2^- nebo NO_3^- jako akceptor elektronů mohou vypadat takto:



Podle stechiometrie heterotrofní denitrifikace, předpokládající metanol jako donor elektronu, by mělo z 1 g metanolu vzniknout 0,6 g buněčné biomasy ve formě chemické spotřeby O_2 . Rovnice má tvar:



2.4.6 Využití denitrifikace v čistírenských technologiích

V technologii vody se běžně používá kombinace řízené nitrifikace a denitrifikace pro odstraňování sloučenin N při biologickém čištění vod. Ta je založena na střídání oxických a anoxických podmínek (např. oxické a anoxické periody v aktivaci). Tímto způsobem dochází ke snížení koncentrace TN v čištěné vodě, protože N je přeměněn na plynnou formu. Výhodou kombinace obou procesů je také vyrovnaní pH, které je nitrifikací snižováno a denitrifikací naopak zvyšováno. (Water Environmental Federation, 2010)

V rámci čištění vod existují různá uspořádání nitrifikace a denitrifikace. Jednou z možností je nitrifikace a následná denitrifikace, kde je nejprve nitrifikací přeměněny NH_4^+ a NO_2^- na NO_3^- , které jsou následně při denitrifikaci přeměněny na plynné formy N. Pro denitrifikaci je však nutný organický substrát, který je u tohoto uspořádání odstraněn už v předřazené nitrifikaci. V případě nedostatku organického substrátu musí být přidáván, buď jako externí substrát (snadno rozložitelný organický substrát, např. methanol, nebo kyselina octová), nebo odpadní voda, či kal (Pitter, 2015). Poměr $\text{CHSK}_{\text{Cr}}/\text{TN}$ pro denitrifikaci by měl být alespoň 2,5. Předřazení denitrifikace před nitrifikaci sice zajistí dostatek organického substrátu pro denitrifikaci, ale nedostatek NO_3^- , proto se v praxi využívá i různých dalších kombinací těchto procesů a přidávání organického substrátu. (Water Environmental Federation, 2010)

Při denitrifikaci mimo odstraňování N dochází také k odbourávání organických látek. Tento způsob má několik výhod oproti nitrifikaci – snížení potřeby aerace, mírné snížení celkové produkce kalu, navrácení alkality, menší koncentrace NO_3^- na odtoku a zlepšení usazování částic z důvodu menšího obsahu vláknitých bakterií.

Denitrifikace může být kromě běžných systémů s kalem ve vzhledu provozována také v biofilmových systémech. U denitrifikace je provoz těchto zařízení mnohem snazší než u nitrifikace, protože zde není limitním faktorem přestup O_2 . Denitrifikační biofilmové systémy bývají obvykle ponořené z důvodu zamezení přístupu O_2 . (Water Environmental Federation, 2010)

2.4.7 Denitrifikace v půdě a horninovém prostředí

V půdním prostředí dochází obvykle nejprve k přeměně NH_4^+ (jehož dostupnost závisí zejména na kationtové výměnné kapacitě) na NO_3^- nitrifikací v oxických podmínkách. Průběh a rychlost následné denitrifikace jsou ovlivněny několika faktory – zejména koncentrací O_2 , dostupností N a C a faktory souvisejícími s půdními vlastnostmi, způsobem obdělávání a klimatem. Protože je denitrifikace anaerobním procesem, nejdůležitějším faktorem podmiňujícím její průběh je nízký obsah O_2 a nízký ORP. Obsah O_2 v půdním prostředí je ovlivněn srážkovými událostmi (vlhkostí půdy), strukturou půdy a hladinou podzemní vody (i drenáží). Na denitrifikaci, stejně jako na všechny biochemické procesy, má vliv také teplota. (Hofstra & Bouwman, 2005)

V půdním profilu probíhá denitrifikace zejména v ornici s největším zastoupením mikroorganismů a vysokým obsahem C_{org} , ale pouze za předpokladu vytvoření anoxického prostředí. V hlubších vrstvách obvykle probíhá pouze v omezené míře z důvodu nedostatku C_{org} . (Schipper *et al.*, 2010a) Potenciál denitrifikace snižuje také použití drenáže, které způsobí rychlejší odtok vod a provzdušnění půdního profilu nad drenáží. (Hofstra & Bouwman, 2005) Možností pro umělé zvýšení odstraňování NO_3^- z podzemních vod je přidávání externího zdroje organického substrátu. (Pitter, 2015)

2.5 Denitrifikační bioreaktory s náplní na bázi dřeva

Potenciálním řešením vysokých koncentrací NO_3^- ve vodách, které doposud není v ČR využíváno, je odbourávání pomocí denitrifikačních bioreaktorů. Jedná se o inovativní technologii *in situ* umístěnou přímo na odtoku ze zemědělských ploch, ještě před jejich vstupem do vod povrchových (Christianson *et al.*, 2012a).

Bioreaktory s organickou náplní využívané pro odstranění NO_3^- pomocí denitrifikace umístěné na okrajích zemědělských ploch jsou v anglické literatuře označovány rozličně – denitrifying/denitrification bioreactors, woodchips bioreactors, denitrification beds/biofilters. V této práci bylo pro usnadnění použito zjednodušené označení denitrifikační bioreaktory.

První publikovaný výzkum týkající se denitrifikačních bioreaktorů s organickou náplní byl proveden v 90. letech v Kanadě. Jednalo se o experiment, při kterém byly zakopány tři barely o objemu 200 l naplněné směsí organického materiálu. U protékající vody znečištěné drenážními vodami byla snížena koncentrace N-NO_3^- z 2 až 6 mg/l na méně než 0,02 mg/l, což poukázalo na potenciál využití organické náplně pro vylepšení odstraňování NO_3^- . (Blowes *et al.*, 1994)

Brzy následovaly další práce zabývající se možností využití denitrifikačních bioreaktorů pro čištění odpadních vod vytékajících ze septiků (Robertson & Cherry, 1995) Na základě provedených výzkumů Univerzita Waterloo v Kanadě patentovala technologii NitrexTM. Jedná se o reaktivní bariéry s náplní na bázi dřeva, sloužící pro pasivní čištění vod ze septiků (Robertson *et al.*, 2005). Do praxe je zavedena také v několika státech středozápadu USA, kde je zahrnuta do oficiální strategie snižování nutrientů (Illinois, Iowa & Minnesota nutrient reduction strategies). Také je jako efektivní nástroj pro odstraňování NO_3^- na odtoku ze zemědělských drenáží uvedena ve standardech Federal USDA Natural Resources Conservation Service (USDA NRCS, 2015; Christianson & Schipper, 2016).

Krátce po prvotním výzkumu v Kanadě započaly v roce 1996 polní experimenty na Novém Zélandu, a to instalací denitrifikační stěny pro odstraňování NO_3^- z podzemních vod (Schipper & Vojvodic-Vukovic, 1998). Později byly denitrifikační bioreaktory zkoumány také v Dánsku, pro možnost použití u komerčních rybích farem s cirkulací vody (Ahnen *et al.*, 2016).

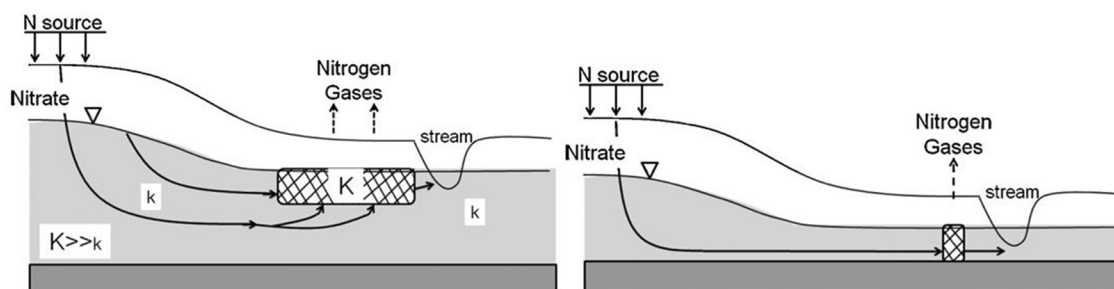
2.5.1 Výhody

Denitrifikační bioreaktory jsou pasivní technologií s řadou výhod, jako jsou nízké pořizovací náklady, minimální údržba a provozní náklady, dlouhá životnost, malý zábor orné půdy. Nízké náklady jsou dány jednoduchostí technologie. Největší položkou při výstavbě je materiál náplně, kdy je možné použít odpadový materiál ze zemědělství nebo lesnictví. Technologie také může fungovat bez elektrické energie, pouze na základě hydraulického spádu protékající vody. Oproti jiným přirozeným způsobům čištění odpadních vod jsou schopny odstranit až 99% NO_3^- (Cameron & Schipper, 2010).

Při použití vhodného materiálu je životnost bioreaktoru v řádu let, bez nutnosti doplňování náplně a další rozsáhlejší údržby. Na některých lokalitách v USA se používají již více než 15 let, aniž by bylo nutné doplnění náplně a bez výrazné údržby za všech sezónních podmínek, včetně samovolného uvedení do provozu po období sucha či mrazu (van Driel *et al.*, 2006). Moorman *et al.* (2010) uvádí ztrátu náplně rozkladem méně než 20 % za dobu 9 let provozu bioreaktoru, tedy poločas rozkladu 36,6 let při dodržení dostatečné výšky náplně pro zajištění anoxických podmínek. Long *et al.* (2011) na základě výsledků ze 14 let starého bioreaktoru předpovídají vyčerpání C_{org} z náplně za 66 let.

2.5.2 Forma bioreaktorů

Denitrifikační bioreaktory mohou být realizovány jako denitrifikační lože (denitrification beds) nebo denitrifikační clony (denitrification walls) (Obr. 2.5.1).

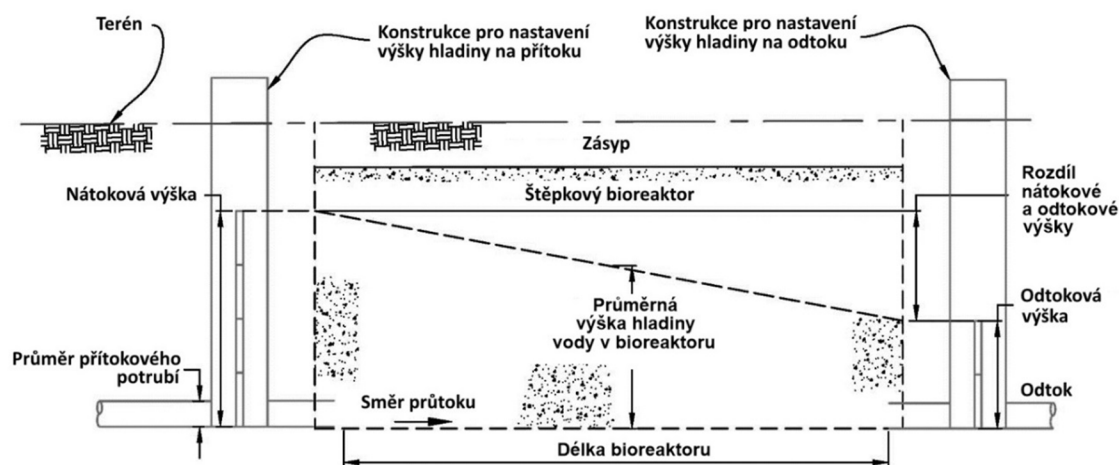


Obr. 2.5.1. Umístění denitrifikačních bioreaktorů ve formě lože (vlevo) a clony (vpravo) bez použití drenážního potrubí (Schipper *et al.*, 2010a)

Denitrifikační lože jsou kontejnerové systémy, do kterých je sveden odtok ze zemědělských ploch. Odtok je sveden pomocí drenáže, nebo voda protéká na základě hydraulického gradientu při vyšší hydraulické vodivosti materiálu v bioreaktoru. Denitrifikační clony jsou propustné bariéry, vertikálně zanořené do země kolmo k proudění podzemní vody. Oba tyto systémy bývají obvykle umístěny v místě vtoku podpovrchového odtoku do vod povrchových. (Schmidt & Clark, 2012; Schipper *et al.*, 2010b)

Způsob návrhu denitrifikačních bioreaktorů doposud není sjednocen, takže existuje více způsobů návrhu, ze kterých vychází odlišné parametry navržených bioreaktorů. Bioreaktory mohou být navrhovány na základě zvoleného HRT pro určité procento špičkového průtoku (Christianson *et al.*, 2011a). Návrh na celý špičkový průtok by byl neekonomický (van Driel *et al.*, 2006). Obdobný postup je využíván i v oficiálním programu pro stát Iowa v USA (Iowa NRCS, 2010). Dalším způsobem je návrh založený na vztahu mezi plochou bioreaktoru, plochou pole a efektivitou odstranění $N-NO_3^-$ (University of Illinois, 2011). Možností je také stechiometrický přístup, který při návrhu vychází z rovnice denitrifikace a stanovuje množství potřebného C pro denitrifikaci. Tento přístup ale nezohledňuje další mikrobiologické procesy probíhající v bioreaktoru, spotřebovávající dostupný C_{org} . (Wildman, 2001)

Schéma denitrifikačního lože a potřebné parametry jsou uvedeny na Obr. 2.5.2.



Obr. 2.5.2. Schéma denitrifikačního lože s použitím drenážního potrubí (Christianson, 2011, upraveno)

U denitrifikačního lože by šířka bioreaktoru měla být v rozmezí $1/3$ – $1/5$ jeho délky a nátoková výška v rozmezí 1–2 m. Hydraulický gradient v bioreaktoru by měl být větší nebo roven 0,008 (Christianson, 2011).

Např. pro pole o velikosti 8,29 ha ležícím v katastrálním území Brno-Chrlice byl stanoven návrhový průtok 5,834 l/s a dle metody (Christianson, 2011) modifikované pro podmínky ČR byl navržen bioreaktor o objemu 1 224 m³, o délce 60,9 m, šířce 13,0 m, nátokové výšce 1,5 m a odtokové výšce 1,1 m. Tento bioreaktor by zabíral 1 % plochy odvodňovaného pole a měl by být schopen snížit koncentraci N-NO₃⁻ ze vstupní koncentrace 30 mg/l na 1 mg/l. (Hrich *et al.*, 2018)

2.5.3 Drenážní vody

Vody protékající denitrifikačními bioreaktory jsou obvykle mělké podzemní vody. Přirozeně je chemické složení podzemních vod utvářeno chemismem infiltrujících srážek a povrchových vod a půdním a horninovým prostředím, kterým voda protéká. Při kontaktu s horninami a půdou dochází k rozpouštění minerálů, výměně iontů, sorpci a dalším chemickým procesům. Probíhají zde i biochemické procesy, např. nitrifikace v půdě a redukce NO₃⁻ a posléze i SO₄²⁻ v hlubších vrstvách. Pro mělké podzemní vody ve svrchní oxidační zóně s krátkým oběhem je typická převaha HCO₃⁻, SO₄²⁻, Ca a Mg a z biochemických procesů zejména nitrifikace. Konkrétní složení se však může lišit v závislosti na lokalitě. (Pitter, 2015)

Teplota podzemních vod se obvykle shoduje s roční průměrnou teplotou vzduchu, i když směrem do hloubky stoupá v závislosti na geotermickém stupni a ve vyšších vrstvách horninového prostředí a půdy může být ovlivněna teplotou aktuální. Denní změny teploty se projevují do hloubky asi 0,5–1 m (Pitter, 2015). Průměrná roční teplota v ČR je okolo 7 °C, i když se v různých oblastech pohybuje zhruba mezi 0,5 °C (Sněžka) a 10 °C (Praha-Klementinum). (ČHMÚ, 2019)

Hodnota pH podzemních se nejčastěji pohybuje mezi 5,5–7,5 (z důvodu uplatnění vápenato-uhličitanové rovnováhy). Hodnota však může být i vyšší či nižší v závislosti na horninovém prostředí nebo biochemických procesech probíhajících v půdě. Celková mineralizace podzemních vod se obvykle pohybuje ve stovkách mg/l, i když při mělkém oběhu může být i nižší. Podzemní vody se také vyznačují vyšší koncentrací volného

CO₂ (obvykle jednotky až desítky mg/l), který může mít biogenní ale i hlubinný původ. (Pitter, 2015)

Běžnou složkou podzemních vod jsou také N-látky, zejména NO₃⁻, v menší míře může být obsažen také NH₄⁺. Do podzemních vod se N může dostávat přirozeně fixací N biogenními procesy a společně se srážkovou vodou. Může také docházet k vyplavování NO₃⁻ z půd, které je v období vegetačního klidu podstatně vyšší než v období vegetačním. Na koncentraci NO₃⁻ má značný vliv klimatický a půdní charakter oblasti a jeho vhodnost pro N-fixující a nitrifikační bakterie. Koncentrace v podzemních vodách se obvykle mění v závislosti na vegetačním období, kdy v letním období jsou z vody odčerpávány vegetací a v zimním období jsou obvykle vyplavovány z půdy z důvodu slabého zadržování v půdním sorpčním komplexu. (Pitter, 2015)

Na koncentraci NO₃⁻ v podzemních vodách mají přímý vliv i zemědělské praktiky, jako je způsob obdělávání půdy, aplikace hnojiva a chov dobytka. N-látky uvolněné z půdního horizontu z důvodu nízké komplexační schopnosti snadno migrují do podložní zvodně, či do povrchových vodních těles. Použití drenáže způsobuje přímý odtok takto kontaminovaných vod do vod povrchových. (Blowes *et al.*, 1994, Pitter, 2015)

V podzemních vodách v ČR je koncentrace NO₃⁻ různá v závislosti na jejich genezi. Např. v okolí Českých Budějovic koncentrace N-NO₃⁻ jen výjimečně překračují 10 mg/l. Oproti tomu na jihu a jihovýchodě Jižní Moravy se průměrná koncentrace N-NO₃⁻ pohybuje okolo 15 mg/l, ale lze zjistit i hodnoty přes 100 mg/l (Pitter, 2015). Vyhláška č. 70/2018 Sb. stanovuje nejvyšší mezní hodnotu NO₃⁻ v pitné vodě 50 mg/l, tedy zhruba 11,3 mg/l N-NO₃⁻, takže je tato mezní hodnota mnohdy překročena a je nutné zařadit odstraňování NO₃⁻ při úpravě vody na pitnou. Při srovnání s technologiemi pro čištění odpadních vod se však jedná o relativně nízké koncentrace NO₃⁻ a společně s kolísavostí koncentrace a průtoku během roku nastává problém při čištění těchto vod (Christianson *et al.*, 2012a).

2.5.4 Průběh denitrifikace v bioreaktorech

Přestože podzemní vody poskytují vhodné anoxické prostředí pro denitrifikaci, obvykle k ní nedochází z důvodu absence donoru elektronů. Denitrifikační bioreaktory jsou vyplněny organickým materiálem, jehož rozklad zajišťuje dostatek C_{org} , který slouží jako donor elektronů pro redukci NO_3^- . Díky osídlení denitrifikačními bakteriemi dochází k přeměně NO_3^- na plynné formy N a ty následně unikají do atmosféry. Takto je koncentrace NO_3^- , ale i celkově N, ve vodách je snižována. (Passeport *et al.*, 2013)

Vzhledem k tomu, že výskyt denitrifikačních bakterií je v životním prostředí běžný, zejména v půdě, není obvykle třeba bioreaktory inokulovat (Schipper *et al.*, 2010a). Denitrifikační bakterie mohou být také obsaženy přímo v materiálu náplně (Moorman *et al.*, 2010). Případně je možné provést inokulaci přidavkem malého množství půdy (Christianson *et al.*, 2011b).

Hlavním procesem odbourávání NO_3^- je heterotrofní denitrifikace, přičemž r_D je limitována koncentrací O_2 , a C. Aby se NO_3^- mohly stát akceptorem elektronů, je zapotřebí anoxické prostředí. Toho je dosaženo přítomností C_{org} , který zabezpečí vyčerpání O_2 během rozkladu organické hmoty. Proces je zabezpečován především fakultativně anaerobními bakteriemi, které C_{org} využívají současně jako donor elektronů, substrát a nosič. (Schipper *et al.*, 2010a) Zastoupení druhů bakterií se mění s hloubkou, ve směru toku vody v bioreaktoru a také v průběhu roku (Andrus, 2011).

Konkurenčními procesy v denitrifikačních bioreaktorech mohou být DNRA (přeměna NO_3^- na NH_4^+) a asimilace N mikroorganismy (který je však využívám zejména ve formě NH_4^+). Při těchto procesech však nedochází k odstranění N z vody v plynné formě, ale pouze k jeho transformaci či imobilizaci (Schipper *et al.*, 2010b). Dle výzkumů však DNRA tvoří pouze malou část. Při statickém testu s dřevní štěpkou bylo zjištěno maximální odstranění N- NO_3^- pomocí DNRA 9 % z odstranění N- NO_3^- odstraněného denitrifikací (Gibert *et al.*, 2008). V dalších výzkumech na denitrifikačních kolonách (Greenan *et al.*, 2006) a denitrifikačních bioreaktorech (Schipper & Vojvodic-Vukovic, 1998; Schipper *et al.*, 2010b) nebylo zjištěno uvolňování NH_4^+ vlivem DNRA vůbec. Také vliv asimilace N mikroorganismy je uvažován jako zanedbatelný, např. dle Greenan *et al.* (2006) tvoří necelá 2 % odstraněného N- NO_3^- .

2.5.5 Provozní parametry bioreaktorů

Provozní parametry denitrifikačních bioreaktorů a jsou v reálných podmínkách velmi závislé na počasí a celkovému klimatu oblasti. Lze je však ovlivnit některými stavebními opatřeními, např. HRT lze ovlivnit návrhem delší průtočné dráhy v bioreaktoru, či vybudováním obtoku pro převedení větších průtoků. Obtok také zajistí vyšší stálost HRT při nepravidelných průtocích (Christianson *et al.*, 2012a).

Hlavním parametrem řídícím r_D je obvykle dostupnost C_{org} pro denitrifikanty, která je ovlivněna výběrem materiálu náplně, ale i provozními parametry, jako je HRT, teplota a vstupní koncentrace $N-NO_3^-$. Dostupnost C_{org} snižována také konkurenčními procesy, jako aerobní rozklad organické hmoty.

HRT je určena průtokem, objemem bioreaktoru a pórovitostí náplně. Příliš dlouhá HRT není žádoucí z důvodu naddimenzování rozměrů bioreaktoru, a tím většího záboru půdy a zvýšení nákladů na výstavbu bioreaktoru. Dlouhá HRT může také podpořit nežádoucí jevy v bioreaktoru, jako je přílišný pokles ORP, redukce SO_4^{2-} na H_2S , methylace rtuti (Shih *et al.*, 2011), nebo nadměrné vyluhování organických látek z náplně (Cameron & Schipper, 2010; Schmidt & Clark, 2013). Prodlužování HRT vede také k poklesu ORP. Při nízkém ORP a vyčerpání NO_3^- mohou sloužit jako akceptor elektronů SO_4^{2-} . Jejich využití je spojeno s produkcí vyšších koncentrací rozpustného C_{org} a vznikem H_2S . (Schipper, 2010b) Naopak příliš krátká HRT nemusí být dostatečná ke snížení koncentrace O_2 na úroveň umožňující průběh denitrifikace (Christianson *et al.*, 2012a). Chun *et al.* (2009) uvádí, že při HRT kratších než 5 h se účinnost odstranění $N-NO_3^-$ pohybuje mezi 10 a 40 % a se 100% odstraněním lze počítat až při HRT od 15,6 do 19,2 h. Addy *et al.* (2016) dospěli k obdobným výsledkům pomocí metaanalýzy 57 bioreaktorů z různých studií, kde u HRT menší než 6 h bylo odstranění NO_3^- nižší než při delších HRT. Příliš krátká HRT v období s vyššími průtoky může být vyřešena řízeným obtokem bioreaktoru (Addy *et al.*, 2016). Denitrifikační bioreaktory jsou odlišnou technologií než např. ČOV, dochází u nich zejména k odstraňování NO_3^- , které by bez jejich výstavby odtékaly do recipientu, takže obtoku u nich není problémem.

Denitrifikační bioreaktory jsou obvykle řízeny kinetikou nultého řádu, tzn. denitrifikační rychlost není závislá na koncentraci NO_3^- (Schipper *et al.*, 2010a), což bylo prokázáno experimentálně u kolonových testů s dřevními materiály různého stáří

(Robertson, 2010). Při nízkých koncentracích, zhruba pod 0,1 mg/l N-NO₃⁻, však může být koncentrace NO₃⁻ limitním faktorem (Addy *et al.*, 2016). Podobný efekt jako nízká koncentrace NO₃⁻ na vstupu může mít i příliš dlouhá HRT, kdy dojde k úplnému vyčerpání NO₃⁻. V bioreaktorech nelimitovaných NO₃⁻ je obvykle denitrifikační rychlost řízena dostupností C_{org} a roste s rostoucí teplotou a HRT (Cameron & Schipper, 2010; Schmidt & Clark, 2013). Při vyšší vstupní koncentraci N-NO₃⁻ obvykle dochází k nárůstu denitrifikační účinnosti až do bodu vyčerpání kapacity bioreaktoru (do nedostatku C_{org}) (Malá *et al.*, 2017).

Rychlost biochemických reakcí, jako je denitrifikace, se obvykle zvyšuje s rostoucí teplotou. Zvyšování účinnosti denitrifikace i denitrifikační rychlosti spolu s teplotou bylo pozorováno také u denitrifikačních bioreaktorů (Hoover *et al.*, 2016). Teplota drenážní vody vstupující do bioreaktoru závisí na ročním období a klimatické oblasti. Během zimy se v našich podmínkách blíží bodu mrazu (v závislosti na hloubce drenáže) a v letním období může vystoupat až k 15 °C (Christianson *et al.*, 2012b). Odstraňování NO₃⁻ může probíhat i při teplotách 2–4 °C (Robertson *et al.*, 2009), ale při vyšších teplotách je několikanásobně vyšší (Hoover, 2012). Bioreaktory s teplotami pod 6 °C vykazovaly nižší odstranění NO₃⁻, než při vyšších teplotách (Addy *et al.*, 2016).

Možné je využít prodloužení HRT pro zachování dostatečné denitrifikační rychlosti např. v případě provozu bioreaktorů při nízkých teplotách a během vysokých průtoků (Addy *et al.*, 2016).

2.5.6 Náplň bioreaktoru

Jedním z nejdůležitějších faktorů řídících proces denitrifikace je organický materiál náplně bioreaktoru. Materiál náplně by měl poskytovat dostatečnou koncentraci C_{org} a uvolňování by mělo být pozvolné a dlouhodobé. Biologická rozložitelnost ovlivňuje průběh uvolňování organických látek, kdy u rychleji rozložitelných materiálů dochází k uvolňování vyšších koncentrací organických látek zvláště v náběhové fázi provozu.

Výběr materiálu by měl být proveden také na základě ceny, hydraulické vodivosti, trvanlivosti a chemického složení. Je snahou využívat odpadní organické materiály, které mají nulovou nebo velmi nízkou pořizovací cenu.

Hydraulická vodivost důležitým parametrem náplně, s ohledem na poměrně vysoké průtoky, které mohou v bioreaktoru nastat. V případě úpravy podpovrchového odtoku bez drenáže může nízká hydraulická vodivost vést až ke vzniku preferenčního obtoku bioreaktoru. Příznivější hydraulickou vodivost mají materiály o větší zrnitosti. Trvanlivost materiálu je podmíněna nejen stálým přísunem C_{org} pro denitrifikační bakterie, ale i dlouhodobým zachováním hydraulické vodivosti. (Christianson *et al.*, 2012a)

Z hlediska chemického složení náplně je podstatný zejména vhodný poměr C:N. Uvolňování N z náplně reaktoru je nežádoucí, proto jsou preferovány materiály s co nejvyšším poměrem C:N. Z materiálů se také nesmí při kontaktu s vodou uvolňovat látky vykazující ekotoxicitu.

Pro denitrifikační bioreaktory jsou využívány náplně z různých materiálů. Jako nejvhodnější se ukazují dřevní materiály (štěpka, hobliny, piliny, kůra), zejména proto, že jsou běžně dostupné za nízkou cenu, mají vysokou hydraulickou vodivost a poměr C:N od 30:1 do 300:1 (Schipper *et al.*, 2010a). Denitrifikační rychlosti se v bioreaktorech s dřevním materiálem pohybují v rozmezí 2 až 10 g/(m³·d) a u dřevní štěpky různého stáří se výrazně neliší.

Výsledky laboratorních i terénních zařízení napovídají, že je možné s dřevní štěpkou dosahovat stálých r_D v horizontu desetiletí. (Robertson, 2010). Long *et al.* (2011) uvádí u 14 let provozovaného bioreaktoru účinnost denitrifikace 92 % při vstupní koncentraci 2,6 mg/l. Na základě metaanalýzy 57 bioreaktorů však ty které byly provozované méně než 13 měsíců vykazovaly vyšší r_D , než déle provozované bioreaktory. Mezi bioreaktory se stářím 13–24 měsíců a staršími než 25 měsíců však nebyl významný rozdíl (Addy *et al.*, 2016).

Značné rozdíly se projevily zejména u různých druhů dřevin. Výhodou tvrdého dřeva proti měkkému je skutečnost, že si déle uchová své fyzikální vlastnosti, nevýhodou je naopak horší dostupnost a vyšší cena. (Schipper *et al.*, 2010b) Z hlediska dosahovaných denitrifikačních rychlostí ani vyluhování látek však nelze rozlišovat dřeviny pouze na měkké a tvrdé. Rozdíly se projevují mezi různými druhy stromů nezávisle na těchto skupinách a to jak u množství vyluhovaných látek (zejména látek fenolické povahy, taninu a ligninu), tak i jejich toxicity. (Svensson *et al.*, 2014a)

Několik studií uvádí, že zrnitost dřevní štěpky a její specifický povrch výrazně neovlivňují r_D (Schmidt & Clark, 2013; Cameron & Schipper, 2010). Denitrifikační reakce se neomezuje jen na povrch náplně, ale probíhá v celé svrchní vrstvě částic štěpky, ve které žijí bakterie a difuzí do ní pronikají živiny. Tato povrchová vrstva je černá, zatímco střed částic štěpkového materiálu má světlou barvu. Zrnitost ale ovlivňuje pórovitost a tedy i HRT.

V laboratorním a poloprovozním měřítku byly testovány i labilnější substráty jako celulóza, vojtěška, pšeničná sláma, rýžové lusky, kukuřičná sláma a klasy, lepenka, noviny, bavlna, kompost, mulč, zelený odpad, mořské řasy, rákos, melasa atd. S těmito substráty je možné dosáhnout vyšších r_D , vyžadují však častější doplňování vzhledem k jejich rychlejšímu rozkladu. Ten vede také k sesedání materiálu a snižování hydraulické vodivosti. (Schipper *et al.*, 2010b)

2.5.7 Stavba a složení dřeva

Dřevo vzniká činností kambia, dělivého pletivo zajišťující růst kmene, které se v procesu růstu dělí a vytváří na vnitřní straně buňky dřeva a na vnější straně kůru. Uprostřed kmene se nachází dřeň, měkké řídké pletivo u průměru 2–5 mm. Dřevo je hlavní částí kmene a spolu s dření tvoří zhruba 70–93 % objemu stromu. Dřevo se rozlišuje na běl a jádro. Běl je světlejší a přiléhá ke kambiu. Její základní funkcí je transport vody a živin a ukládání zásobních látek. Je méně odolná než jádro, propustná pro kapaliny a snadno podléhá hnilobě. Jádro je středová část dřeva, je tmavší a vzniká vyřazením části kmene z fyziologických procesů. Jádro obsahuje jádrové látky – u jehličnanů jsou to pryskyřice a u listnáčů gumy, alkaloidy atd. (Gandelová *et al.*, 2012).

Dřevo je složitým komplexem makromolekulárních látek. Hlavní složkou jsou organické látky, ale v menším množství i látky anorganické. Organické látky jsou tvořeny zejména C (49,5 %), O (44,2 %), H (6,3 %) a N (0,12 %), jejichž zastoupení je v různých dřevinách velmi podobné. Hlavní složky dřeva celulóza, lignin a hemicelulózy tvoří buněčné stěny (90–97% obj. dřeva). Průvodní látky – sacharidy, glykosidy, tuky, proteiny, barviva atd., jsou obsaženy převážně v buněčných dutinách. Anorganické látky přítomné ve dřevě se vyskytují ve velmi malých množstvích (0,2–0,5 % obj., u tropických dřevin i 5–10 % obj.).

Jehličnaté a listnaté dřevo se liší v poměru hlavních složek organických sloučenin, jehličnaté stromy mají obvykle větší podíl ligninu a méně hemicelulóz. U jádrového a bělového dřeva je rozdíl v zastoupení hlavních složek dřeva minimální, větší rozdíl je v obsahu tříslovin a pryskyřic. Větve většiny dřevin obsahují méně celulózy a více ligninu a hemicelulóz než dřevo kmene, také kůra obsahuje více ligninu a kůrový lignin má složitější stavbu než dřevní. (Jankovský *et al.*, 1999)

Celulóza je základní stavební látkou buněčné stěny. Jedná se o polysacharid vzniklý řetězením molekul β -D-glukózy s chemickým vzorcem $(C_5H_{10}O_5)_n$. Stupeň polymerace je 200–3 500 (pro dřeva mírného pásu obvykle více než 1 000). Makromolekuly celulózy se spojují do svazků a dále do větších útvarů nazývaných fibrily, které tvoří kostru buněčné stěny. Mikroprostory mezi nimi jsou vyplněné ligninem, hemicelulózou a vodou. Čistá celulóza je nerozpustná ve vodě a slabších kyselinách a zásadách.

Hemicelulózy jsou polysacharidy s chemickým složením blízkým celulóze, ale s kratším řetězcem makromolekul (stupeň polymerace 150–250, i méně). Jsou podstatně reaktivnější a chemicky méně stálé, snadno ze dřeva hydrolyzují. Dělí se na pentozany $(C_5H_8O_4)_n$ a hexozany $(C_6H_{10}O_5)_n$. Pentozany mají především mechanickou funkci a hexozany jsou spíše zásobními látkami. Listnaté dřevo obsahuje zejména pentozany (převážně xylén a arabán) a jehličnaté dřevo obsahuje více hexozanů (převážně manán a galaktán). Polysacharidická složka dřevní hmoty složená z hemicelulózy a celulózy je nazývána holocelulóza.

Lignin je amorfní polymer, jehož struktura není přesně známa. Jedná se o aromatický podíl dřeva, jehož základní jednotkou jsou deriváty fenypropanu, který je různě substituován na benzenovém jádře. Lignin vyvolává zdřevnatění (lignifikaci) a mechanicky zpevňuje buněčnou stěnu, omezuje bobtnání a omezuje průnik vody přes buněčné stěny (je hydrofobní). Oproti celulóze snadno podléhá vlivu zásad, kyselin a jiných látek. (Stevanovic, 2016) Vyšší obsah ligninu obvykle značí i vyšší obsah všech fenolických látek ve dřevě (Samis *et al.*, 1999).

Průvodními látkami rozpustnými ve vodě jsou látky minerální a kovy. Anorganické látky ve dřevě jsou zejména Ca, K a Mg soli a částečně také HCO_3^- , PO_4^{3-} a SO_4^{2-} , z nichž je asi 25 % vyluhovatelných vodou. Dále volné cukry, škroby, pektiny a tuky (hlavně v jehličnanech), které tvoří zásobní látky a snižují trvanlivost dřeva. Ve vodě

rozpuštěné jsou také saponiny (jedovaté látky, zejména v tropických dřevích), alkaloidy (v syrovém stavu jedovaté, např. chinin, strychnin, kokain, botulin, taxin), laktoreziny (mléčné šťávy blízké pryskyřicím, tropické rostliny, např. kaučuk), proteiny (tvoří protoplazmu, snadno se rozkládají a hníjí).

Dalšími průvodními látkami jsou pryskyřičné látky – éterické oleje, balzámy a silice, které vzájemně tvoří roztok. Éterické oleje a silice vyprchávají ze dřeva současně s vodní párou. Těkavou součástí pryskyřic jsou terpeny skládající se ze dvou a více isoprenových jednotek. Jejich netěkavou součástí jsou zejména pryskyřičné kyseliny. V našich podmínkách se pryskyřice vyskytují jen u většiny jehličnanů. (Jankovský *et al.*, 1999)

Součástí dřeva jsou fenolické látky, které mají často ochrannou funkci (fungicidní, insekticidní...). Jedná se např. o lignany, flavonoidy, silbeny a taniny (třísloviny). Taniny jsou přítomny ve všech dřevinách (zejména v kůře, listech a kořenech), liší se ale jejich obsah. Nejvíce taninů obsahuje dub a hodně také smrk. Fenolické látky, spolu s mastnými kyselinami, vznikají také přirozeným rozkladem dřeva (např. oxidací a hydrolýzou) (Samis *et al.*, 1999). Fenolické látky obsažené ve dřevě jsou obvykle specifické v závislosti na druhu dřeviny. Jsou přítomné ve všech dřevních pletivech, ale nejvíce v kůře, protože kůra obvykle obsahuje více ligninu než jádrové dřevo (Samis *et al.*, 1999). Zde mohou tvořit více jak 10 % hmotnosti (Taylor *et al.*, 1996). Ve vodě dobře rozpustnými fenolickými sloučeninami jsou převážně hydrolyzovatelné taniny nebo elagitaniny, jako např. estery a kyselina gallová.

Některé z organických sloučenin v dřevních výluzích, jako jsou taniny, ligniny, fenoly, tropoloniny a kyseliny obsažené v pryskyřicích, se mohou podílet na toxicitě výluhu (Samis *et al.*, 1999). Fenoly a terpenoidy, jako třeba kyselina isopimarová (IA) a kyselina dehydroabietová (DHAA), představují největší ohrožení pro vodní organismy. (Makris & Banerjee, 2002)

2.5.8 Rozklad organické náplně

Rozklad organické hmoty je souborem abiotických a biotických procesů – chemické reakce, vyluhování a volatilizace, rozměňování a katabolismus. Významnou roli však hraje vyluhování (zejména anorganické ionty a rozpustné organické sloučeniny) a katabolismus. Katabolismus je rozklad organických sloučenin pomocí biologického působení zejména mikroorganismů (houby a částečně i bakterie). Jedná se o jeden z hlavních mechanismů úplného rozkladu organických látek na CO_2 , H_2O a anorganické živiny (např. NH_4^+). Rozměňování a rozpad urychlují rozklad díky zvětšování povrchu částic, čímž zvyšují jejich dostupnost pro další procesy. (Bärlocher & Boddy, 2016)

Faktory ovlivňujícími rozklad organické hmoty, např. dřeva, je teplota, vlhkost, koncentrace O_2 a dostatek živin. K rozkladu ligninu enzymatickými procesy dochází v aerobních podmínkách, takže rozklad ponořeného dřeva může být inhibován nedostatkem O_2 . Obdobně je tomu také u dřeva s vysokou saturací vodou, kde je proces závislý na rychlosti difuze O_2 dovnitř částice. V podmínkách a nízkou koncentrací O_2 dochází k hnilobě s velmi pomalým rozkladem. Naopak ale i velmi nízká vlhkost může rozklad limitovat. Optimální pro rozklad je tedy vhodná vlhkost, nebo střídání zatopených a nezatopených podmínek. Také zvýšená koncentrace N nebo P může být příčinou zrychlení rozkladu. Rychlost rozkladu dřeva je závislá i na jeho kvalitě. Dřevo s vyšší hustotou nebo s obsahem látek s inhibičním účinkem (např. dub, jasan, buk) se rozkládá mnohem pomaleji než ostatní druhy (např. olše, topol, vrba). Bělové dřevo podléhá rozkladu rychleji, jádrové obvykle obsahuje více inhibičních látek. (Bärlocher & Boddy, 2016)

Anaerobní rozklad je obvykle řízen rychlostí oxidace sacharidů. V případě denitrifikace musí být C obsažený v dřevním materiálu (převážně ve formě celulózy) nejprve převeden do rozpuštěné formy pomocí hydrolýzy aby se stal dostupným zdrojem energie pro organotrofní denitrifikanty. Takto dostupný labilní C_{org} může být spotřebován mikroorganismy a přeměněn na nový organický substrát, nebo může být oxidován do anorganické formy (např. CO_2). Tyto biochemické procesy ovlivňují pH pórové vody. (Nordstöm & Herbert, 2018)

2.5.9 Náběhová fáze a nežádoucí vyluhování látek z náplně

Přes řadu výhod se však tato metoda stále potýká s nedořešenými problémy. Nejvíce kritická je náběhová fáze bioreaktoru, kdy dochází k náběhu denitrifikace, ale také k uvolňování vysokých koncentrací snadno rozpustného C_{org} a $N\text{-NH}_4^+$ z materiálu náplně (Robertson & Anderson, 1999; Gibert *et al.*, 2008; Cameron & Schipper, 2010; Schipper *et al.*, 2010a; Hoover *et al.*, 2016). Čerstvé dřevo obsahuje 1 až 2 % hm. rozpustných organických složek, které při náběhu reaktoru mohou způsobovat tmavou barvu výluhu a BSK₅ řádově ve stovkách mg/l. Tento stav může přetrvávat i několik měsíců. (Schmidt & Clark, 2012) Vyluhování organických látek může způsobit kyslíkový deficit v recipientu a nepříznivě ovlivnit biotu (Schipper *et al.*, 2010a).

Počáteční fáze provozu se vysokými koncentracemi organických látek na odtoku odlišuje od ustálené fáze, kdy je vyluhování náplně téměř zanedbatelné (Healy *et al.*, 2012). Délka náběhové fáze je obvykle odlišná v závislosti na druhu náplně a provozních parametrech. Schmidt & Clark, 2012 uvádí délku období se zvýšeným uvolňováním C mezi 60 a 200 d. A např. Gibert *et al.* (2008) uvádí u kolonových testů délku náběhové fáze a ustálení parametrů po 45 d. Následující výsledky ukazují koncentrace látek na odtoku z denitrifikačních kolon v laboratorních podmínkách naplněných různými materiály: snížení CHSK_{Cr} pod 1000 mg/l a BSK₅ pod 600 mg/l po 5 týdnech provozu (piliny a mulčovací kůra) (Robertson, (2010); snížení koncentrace $N\text{-NH}_4^+$ pod 0,3 mg/l a BSK₅ pod 10 mg/l po 2 měsících provozu bioreaktoru (borová štěpka o 5 různých zrnitostech, štěpka z eukalyptu, kukuřičné klasy, zelený odpad, pšeničná sláma) (Cameron & Schipper (2010); snížení TKN pod 0,2 mg/l a BSK₅ pod 15 mg/l také po 2 měsících provozu (laboratorní kolony – borová a eukalyptová štěpka) (Koslow (2014).

Průběh vyluhování lze ovlivnit výběrem materiálu náplně. Při použití dřevní náplně, jako jsou piliny nebo štěpka, v prvních měsících provozu dochází ke zvýšenému vyluhování látek (např. C_{org} a N_{org}), koncentrace však nejsou tak vysoké, jako při použití labilních materiálů, které vykazují také vysoké hodnoty NH_4^+ (Koslow, 2014). Na vyluhování má kromě použitého druhu dřeviny vliv například i velikost částic a způsob skladování materiálu před použitím (Svensson *et al.*, 2014a; Cameron & Schipper, 2010; Hoover *et al.*, 2016). Velikost částic významně neovlivňuje r_D

(Schmidt & Clark, 2013), takže z tohoto hlediska jsou výhodnější větší částice s pozvolnějším vyluhováním.

Intenzivní vyluhování lze také omezit změnou provozních podmínek jako je zkrácení doby zdržení, kdy kratší HRT má za následek kratší kontakt vody s náplní a tím uvolnění nižších koncentrací N-NH_4^+ a BSK_5 . Další možností je nastartování procesu v chladnějším ročním období, protože nižší teplota obecně způsobuje pomalejší mikrobiální rozklad organické náplně, a tedy i pozvolnější vyluhování organických látek. Řešením může být i využití odtékajících vod na jiné účely, nebo recirkulace odtoku z bioreaktoru v prvních měsících provozu, čímž by bylo zabráněno vypouštění nevyhovujících vod do recipientu. (Cameron & Schipper, 2010)

Důležité je brát v úvahu také to, že délka náběhové fáze bioreaktoru s nadměrným vyluhováním organických látek je relativně krátká (týdny), ve srovnání s celkovou délkou provozu (roky až desetiletí), po kterou může bioreaktor odstraňovat NO_3^- s minimálními negativními důsledky.

2.5.10 Ekotoxicita látek vyluhovaných z náplně

Na odtoku z denitrifikačních kolon byly také zjištěny látky v koncentracích, které jsou potenciálně toxické pro vodní organismy (Schmidt & Clark, 2013). Např. již 1% roztok 35-d výluhu topolu osiky může být akutně toxický pro pstruhy, dafnie nebo bakterie (Taylor *et al.*, 1996). Tyto látky mohou také negativně ovlivňovat organismy v recipientu, ale i mikrobiálnímu osídlení přímo v bioreaktoru. Přestože se jedná o přírodní látky, úpravou dřeva, jako je nasekání nebo nařezání na malé částice, dochází k vyluhování v kratším čase a ve vyšších koncentracích. Největší množství organických látek se vyluhuje během prvních 24 hodin (Svensson *et al.*, 2014a).

Látkami s toxickým účinkem potenciálně vyluhovatelným ze dřeva jsou fenolické sloučeniny, taniny, lignin a pryskyřičné kyseliny (Samis *et al.*, 1999; Makris & Banerjee, 2002). Přírodní kresoly (methylfenoly) a jejich deriváty se například vyskytují v olejích různých druhů rostlin, jako je jasmín a lilie, ale také u jehličnanů a dubů (WHO, 1996). Nízkomolekulární sloučeniny fenolické povahy mohou vznikat i během přirozeného rozkladu organické hmoty (Pitter, 2015; Michałowicz & Duda, 2007). V dřevních výluzích lze nalézt i thymol. Jedná se o monoterpenický fenol

s antimikrobiálními a antifungálními schopnostmi, který je přítomen v esenciálních olejích tymiánu a dalších druhů rostlin (Marchese *et al.*, 2016).

Nízkomolekulární fenoly (relativní molekulová hmotnost do 1000) jsou nestabilní ve vodním prostředí a dochází u nich k biochemické a chemické oxidaci (Pitter, 2015). Například kresoly podléhají volatilizaci, zavázání do sedimentů a biodegradaci, takže je ve vodním prostředí obvyklá pouze velmi nízká koncentrace (WHO, 1996). Biodegradace je hlavním mechanismem odbourávání kresolů, ale v anaerobním prostředí sedimentů a podzemních vod může odbourání trvat i v řádu týdnů až měsíců (U.S. Department of Health and Human Services, 2008).

Toxický vliv organických sloučenin závisí na více faktorech. Průchod fenolických látek do organismu je závislý na schopnosti difuze sloučeniny do buňky skrz buněčnou membránu. Difuze je silně závislá na hydrofobicitě sloučeniny, kdy s rostoucí hydrofobicitou roste i schopnost prostupu fenolických sloučenin přes buněčnou membránu a tím se zvyšuje i toxicita (Michałowicz & Duda, 2007).

Existují významné rozdíly v ekotoxicitě mezi různými druhy dřevin. Výsledky výluhu pilin z dubu, borovice, javoru a buku vykazují rozdíly v hodnotách C_{org} , BSK₇, pH, zbarvení a koncentraci fenolů, taninu a ligninu. Bylo zjištěno, že borovice a zejména dub mohou uvolňovat sloučeniny nebezpečné pro akvatické prostředí, zatímco javor a buk ne. (Svensson *et al.*, 2014a)

Toxicita výluhu je sice obvykle závislá na celkové koncentraci organických látek, ale důležitá je také přítomnost organických sloučenin s toxickým účinkem (Rex *et al.*, 2016). Vysoké koncentrace organických látek tedy nemusí nutně znamenat vysokou toxicitu, i když mohou negativně ovlivnit akvatické organismy spotřebou rozpuštěného O₂. Rex *et al.* (2016) zkoumal 6 druhů dřevních štěpek (topol, borovice, hybridní bílý smrk a dvě směsi). Všechny studované výluhy vykazovaly toxicitu na *Vibrio fischeri* v testu MicrotoxTM. Topolová štěpka vyprodukovala nejvyšší výluh s nejvyšší koncentrací organických látek, fenolů a NH₄⁺, který však obsahoval nejnižší koncentrace IA a DHAA. To poukazuje na fakt, že vysoká koncentrace organických látek nemusí nutně znamenat vysokou toxicitu.

TOC a CHSK_{Cr} poskytují informaci o celkovém množství organických látek, ale nevypovídají nic o jejich složení (Svensson *et al.*, 2014b). Přesto lze nalézt vztah mezi koncentrací organických látek a ekotoxicitou. Např. Kannepalli *et al.* (2016) našel

statistický významný vztah mezi prodloužením etap vývoje embryí *Danio rerio* a CHSK_{Cr} , který pozoroval u vzorků výluhu z mulče a dřevních materiálů. Naopak ale Libralato *et al.* (2007) žádný statisticky významný vztah mezi složením (rozpuštěný O_2 , pH a CHSK_{Cr}) a ekotoxicitou (krevety *Artemia franciscana* a embrya ústřice *Crassostrea gigas*) nezjistil.

2.5.11 Využití vod z náběhové fáze

I přes výběr vhodného materiálu náplně a optimalizaci provozních parametrů může stále docházet k přílišnému vyluhování organických látek v náběhové fázi bioreaktoru. Možným řešením je použití těchto vod na zavlažování odvodňované zemědělské plochy, a tedy zamezit jejich vypouštění do recipientu. U závlahy by mělo docházet k částečnému odparu, odčerpání části živin rostlinami a půdními mikroorganismy a, po průtoku horninovým prostředím, k opětovnému návratu do bioreaktoru. Zejména spotřeba biogenních prvků mikroorganismy v prokysličené vrstvě půdy může být značná a zvýšením poměru C:N (zvýšení koncentrace organických látek) také dochází k imobilizaci forem N zavázáním do biomasy (Šantrůčková, 2014). Koloběh vody by měl být udržitelný po délku náběhové fáze bioreaktoru.

Ekotoxicita odtoku z denitrifikačních bioreaktorů byla studována mnohem častěji na akvatických organismech než na terestrických. Je např. známa toxicita taninů pro mikroorganismy a přežvýkavce, ale pro rostliny není informací mnoho. Svensson *et al.* (2014b) zjistili, že výluh z dubu nemá žádný efekt na *Lactuca sativa* při testu klíčivosti. Feldmane (2010) studoval vliv mulče z dřevní štěpky na růst višně (výška stromků, součet délek výhonků, objem koruny a výnos sklizně). Výsledky naznačují, že použití mulče způsobuje zpomalení růstu v prvních dvou letech, ale významně zrychluje růst ve třetím roce. Ale i přesto stromy s použitím mulče vykazují nižší výnosy.

2.5.12 Odstavení v bezdeštném období

V suchém období s minimálními srážkami, nebo zcela bez srážek může docházet k zastavení průtoku vody bioreaktorem. Názory na provoz, zda bioreaktory udržovat stále zatopené i v období s nízkým průtokem, se různí. Dle článku Fenton *et al.* (2014) je doporučena stagnace vody v bioreaktoru, tedy provoz jako stále zatopeného, dle ústního sdělení Laury Christianson (Assistant Professor of Water Quality, University of Illinois), která se dlouhodobě zabývá touto problematikou, se naopak doporučuje

bioreaktory během suchého období udržovat vypuštěné. I v další literatuře nejsou názory jednotné, nebo zde tato informace není uvedena. Zatopení bioreaktorů při nízkých průtocích způsobuje prodloužení hydraulické doby zdržení (HRT), a to vede k vyššímu vyluhování organických látek a N-NH_4^+ z náplně (Cameron *et al.*, 2010; Schmidt *et al.*, 2013). Vyšší dostupnost C_{org} je sice žádoucí pro denitrifikaci, ale také dochází k přílišnému poklesu ORP. (Schipper *et al.*, 2010a) Studie zabývající se srovnáním způsobů odstávky a jejich vlivem na provoz denitrifikačních bioreaktorů dosud nebyly publikovány.

3. CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Cílem disertační práce je výzkum možností využití technologie denitrifikačních bioreaktorů pro odstraňování NO_3^- ze zemědělských smyvů v podmínkách ČR. V rámci práce bude provedena řada experimentů v laboratorních podmínkách pro srovnání různých materiálů náplně běžně dostupných v ČR a optimalizaci technologických parametrů bioreaktoru. Dále budou zkoumány možnosti zmírnění negativního vlivu bioreaktorů na vodní prostředí, např. výběrem materiálu náplně, provozními parametry, způsobem odstávek v bezdeštném období a použitím odtékajících vod na zavlažování.

4. MATERIÁL A METODY

4.1 Testované materiály

Materiály náplně bioreaktorů testované v této práci byly vybrány dále na základě výzkumu Schipper *et al.* (2010a), který uvádí jako nejvhodnější dřevní materiály, a výzkumu Robertson (2010), který zjistil dlouhou životnost u bioreaktorů s náplní z dřevní štěpky. Vybrány tedy byly zejména dřevní materiály – štěpka z jádrového dřeva, kůra a mulč.

Dalším parametrem výběru byla dostupnost dřevin v podmínkách ČR a nízká pořizovací cena. Vybrány byly běžně dostupné materiály použitelné v praxi. Použité materiály jsou popsány v příloze 1.

Pro statické testy vyluhovatelnosti byly z důvodu lepší možnosti srovnání vzorků mezi sebou materiály prosety na sítích (viz kapitola 4.2), ale pro kolonové testy byly materiály použity v původním stavu.

4.2 Statické testy vyluhovatelnosti

Materiály pro statické testy vyluhovatelnosti jsem nejprve prosela na sítích s normovanou velikostí ok pro zjištění velikostní frakce a ponechala v laboratorních podmínkách v kontaktu se vzduchem pro zajištění přirozeného vyschnutí a zamezení zapařování. Poté byly uskladněny v uzavřených igelitových pytlech.

Před vyluhováním jsem stanovila sušinu a vlhkost materiálu. Vzorek materiálu jsem vložila do předem vyžíhaného a zváženého keramického kelímku. Vzorek i s kelímkem jsem zvážila a poté vysušila při 105 °C do konstantní hmotnosti. Po vychladnutí v exsikátoru jsem vzorek opět zvážila a vypočetla sušinu a vlhkost dle vzorců:

$$s = \frac{m_5}{m_3} \cdot 100 \quad (4.1)$$

$$v = \frac{m_3 - m_5}{m_3} \cdot 100 \quad (4.2)$$

kde s (%) je obsah sušiny, v (%) je vlhkost materiálu, m_3 (g) je hmotnost materiálu před vysušením a m_5 (g) je hmotnost vysušeného materiálu.

Dle stanovené sušiny jsem následně vypočetla navážku materiálu a objem vody pro vyluhování. Poměr S/L (sušina/voda) byl vždy 1/10. Výpočet jsem provedla dle následujících vzorců:

$$m = \frac{m_T}{s} \cdot 100 \quad (4.3)$$

$$V = V_T - (m - m_T) \quad (4.4)$$

kde m (g) je skutečná navážka materiálu, m_T (g) je teoretická navážka pro poměr S/L 1/10 pokud by materiál neobsahoval žádnou vlhkost, s (%) je obsah sušiny materiálu, V (ml) je skutečný objem přidané vody a V_T (ml) je teoretický objem vody pro poměr S/L 1/10 pokud by materiál neobsahoval žádnou vlhkost.

Materiály jsem vyluhovala 24 h na rotační třepače při rychlosti 5 otáček za minutu a následně jsem výluh dekantovala (fotodokumentace v příloze 2). Pro vyluhování byly použity materiály s původní vlhkostí (kromě testu materiálů upravených, které byly předem vysušeny) a deionizovaná voda. Vyluhování bylo prováděno v nádobách o objemu 2 000 ml.

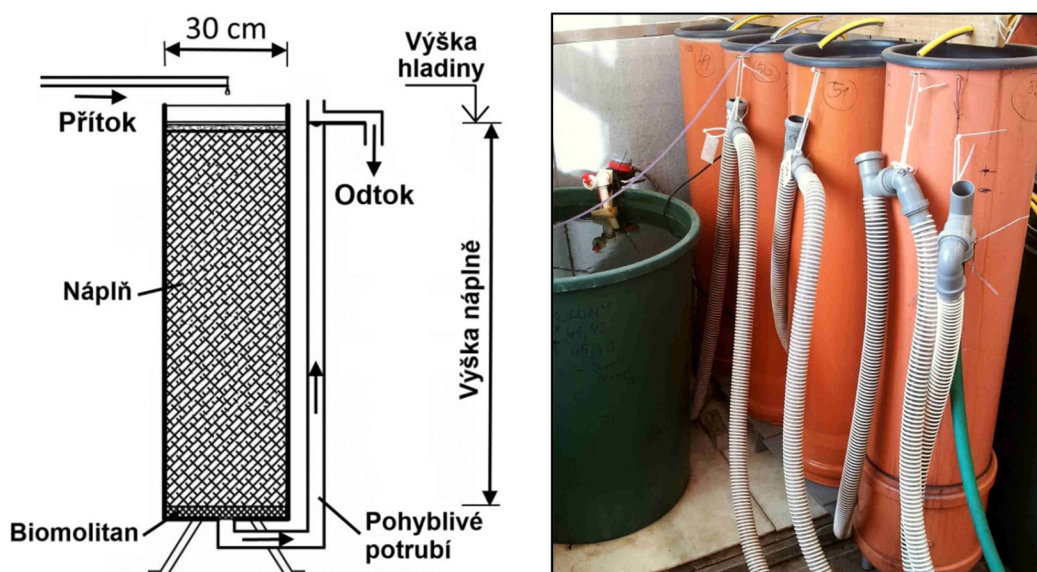
Trojnásobné statické výluhy jsem provedla obdobně jako výluhy jednorázové. Po dekantaci prvního výluhu jsem k vyluhovanému materiálu doplnila deionizovanou vodu do původního objemu (na základě úbytku hmotnosti po dekantaci). Poté jsem vzorek třepala dalších 24 h na rotační třepače při rychlosti 5 otáček za minutu a následně jsem výluh dekantovala. Tento postup se dvakrát opakoval.

Při testování materiálů upravených vysušením jsem materiály sušila 6 h při teplotě 105 °C. Poté byly materiály ponechány v kontaktu se vzduchem v laboratorních podmínkách pro dosažení konstantní přirozené vlhkosti. Následně jsem stanovila sušinu materiálů pro výpočet navážky a vyluhovala materiály 24 h shodným způsobem jako výluhy neupravených materiálů.

4.3 Provoz denitrifikačních kolon

Simulaci denitrifikačních bioreaktorů v laboratorním měřítku jsem prováděla na denitrifikačních kolonách, kde jsem sledovala změnu fyzikálně-chemických parametrů vody po průtoku, zejména odstranění N-NO_3^- a vyluhování látek z náplně.

Kolony (Obr. 4.3.1) byly sestaveny z vertikálně umístěných trub o průměru 30 cm a naplněny materiálem náplně o výšce zhruba 70–100 cm (přesná výška byla změřena). Dno kolony bylo vybaveno perforovanou přepážkou a biomolitanem (filtrační pěna) pro zajištění volného odtoku a současně zachycení částic náplně. Při testování odstávek byla použita také horní perforovaná přepážka, zamezující pohybu náplně směrem vzhůru po opětovném naplnění vodou. Voda v kolonách protékala směrem odshora dolů. V kolonách byla udržována stálá hladina pomocí ohebného potrubí. Hladina byla při běžném provozu udržována nad horní hranicí náplně.



Obr. 4.3.1. Schéma denitrifikační kolony a foto skutečných testovacích kolon

Kolony byly protékány odstátou vodovodní vodou obohacenou NO_3^- (přidávanými ve formě KNO_3) pro zajištění požadované koncentrace N-NO_3^- a nebyly nijak uměle inokulovány mikroorganismy. Dávkovaná voda byla předem připravena v barelu, kde byla neustále promíchávána. Zde došlo k odplynění vody (např. odstranění volného chloru). Voda byla do kolon dávkována ve 12 intervalech za den pro zajištění požadované HRT. Průtoky u jednotlivých kolon byly zjišťovány pomocí objemové metody měření průtoku a pravidelně kontrolovány. Další fotodokumentace v příloze 2.

V případě testování odstávky kolon byly kolony ponechány buď zatopené (mokrý odstávka), nebo vypuštěné (suchá odstávka). V případě mokré odstávky byla odpařená voda v kolonách průběžně doplňována a na konci odstávky byl celý objem volné vody v koloně vypuštěn. Oba druhy kolon byly poté napuštěny novou připravenou vodou a opětovně zprovozněny.

Dle naměřených parametrů kolon, provozních parametrů a koncentrace $N-NO_3^-$ jsem vypočetla následující provozní parametry.

Střední doba zdržení vody:

$$HRT = \frac{Vn}{Q} \cdot \frac{n_n}{100} \quad (4.5)$$

kde HRT (d) je střední doba zdržení, V_n (m^3) je objem náplně, Q (m^3/d) je průtok a n_n (%) je pórovitost náplně.

Hmotnostní tok:

$$\dot{m} = c_m \cdot Q \quad (4.6)$$

kde \dot{m} (mg/d) je hmotnostní tok, c_m (mg/l) je hmotnostní koncentrace a Q (l/d) je průtok.

Denitrifikační rychlost (hmotnost odstraněného $N-NO_3^-$ za čas vztažená k objemu náplně):

$$r_D = \frac{\dot{m}(N-NO_3^-)_{in} - \dot{m}(N-NO_3^-)_{out}}{V_n} \quad (4.7)$$

kde r_D ($g/(m^3 \cdot d)$) je specifická rychlost denitrifikace, $\dot{m}(N-NO_3^-)_{in}$ (g/d) je hmotnostní tok $N-NO_3^-$ do bioreaktoru, $\dot{m}(N-NO_3^-)_{out}$ (g/d) je hmotnostní tok $N-NO_3^-$ z bioreaktoru a V_n (m^3) je objem náplně kolony.

Účinnost denitrifikace:

$$\eta = \frac{N-NO_3^-_{in} - N-NO_3^-_{out}}{N-NO_3^-_{in}} \cdot 100 \quad (4.8)$$

kde η (%) je účinnost denitrifikace, $N-NO_3^-_{in}$ (mg/l) je koncentrace $N-NO_3^-$ na přítoku do kolony, $N-NO_3^-_{out}$ (mg/l) je koncentrace $N-NO_3^-$ na odtoku z kolony.

Rychlost vyluhování $CHSK_{Cr}$:

$$r_{CHSK} = \frac{\dot{m}(CHSK_{Cr})_{out}}{V_n} \quad (4.9)$$

kde r_{CHSK} (mg/(l·d)) je rychlost vyluhování CHSK_{Cr} , $m(\text{CHSK}_{\text{Cr}})_{\text{out}}$ (g/d) je hmotnostní tok CHSK_{Cr} z bioreaktoru (hmotnostní tok do bioreaktoru je uvažován jako nulový) a V_n (m^3) je objem náplně kolony.

4.4 Stanovení fyzikálně-chemických parametrů

V případě statických testů vyluhovatelnosti jsem výluh pro všechna stanovení fyzikálně-chemických parametrů přefiltrovala přes 15 μm filtr. Pro stanovení N-ox a N-NO_2^- jsem všechny vzorky (statické výluhy i odtok z kolon) vyčiřila a následně přefiltrovala přes 15 μm filtr. Pro stanovení N-NH_4^+ byl u všech vzorků nejprve destilován NH_3 pro odstranění zákalu a zbarvení.

Odstranění zákalu čiřením jsem provedla přidávkem 5 ml $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ a 5 ml NaOH na 100 ml vzorku. Poté jsem směs zamíchala a vzniklou sraženinu nechala usadit. Roztok jsem následně přefiltroval přes 15 μm filtr. Koncentrace v takto vyčiřeném vzorku byly přepočteny dle ředění přidávanými chemikáliemi.

U vzorků jsem přenosným multimetrem Hach HQ40d s příslušnými sondami změřila T, pH a κ . Koncentrace N-ox jsem stanovila přístrojem Hach optical Nitratax plus sc Sensor na základě měření absorpce v UV oblasti.

CHSK_{Cr} , BSK_5 , N-NO_2^- , N-NH_4^+ , TKN, DOC a TP jsem stanovila následovně: CHSK_{Cr} – fotometrické stanovení semimikrometodou s dichromanem draselným; BSK_5 – standardní zředovací metodou s přidávkem allylthiomočoviny; N-NO_2^- – fotometrické stanovení α -naftolem s kyselinou sulfanilovou; N-NH_4^+ – fotometricky indofenolovou metodou; TKN – kyselým rozkladem za působení kyseliny sírové a katalyzujících tablet Kjeltabs ST (Thompson & Capper) s vyhodnocením uvolněného N-NH_4^+ fotometricky indofenolovou metodou po destilaci NH_3 za zásaditého pH (přídavek $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) do roztoku HCl; DOC – vytěšňovací metodou pomocí květového testu LCK385 a LCK386 (Hach); TP – mineralizací za působení přípravku Oxisolv (Merck) s následným fotometrickým stanovením uvolněných orthofosforečnanů pomocí molybdenanu a kyseliny askorbové. Rozbory jsem prováděla podle standardních operačních postupů Ústavu chemie FAST VUT v Brně.

Jako N-NH_4^+ je vždy uváděna celková koncentrace amoniakálního dusíku ($\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NH}_3$), protože je nelze použitou analytickou metodou rozlišit.

Další koncentrace jsem dopočetla z naměřených hodnot dle následujících rovnic:

$$N-NO_3^- = N-ox - N-NO_2^- \quad (4.10)$$

$$N_{org} = TKN - N-NH_4^+ \quad (4.11)$$

$$TN = N-NO_2^- + N-NO_3^- + TKN \quad (4.12)$$

Nízkomolekulární monobazické fenolické sloučeniny byly stanoveny plynovou chromatografií s hmotnostním detektorem (GC-MSD), typu Agilent 6890N a Agilent 5975C) v SIM módu. Detekční limit byl 100 ng/l. Stanovení fenolických sloučenin bylo provedeno na zakázku v laboratořích Povodí Moravy, s. p..

4.5 Ekotoxikologické biotesty

Pro stanovení ekotoxicity výluhů jsem provedla ekotoxikologické biotesty na hrotnatce velké (*Daphnia magna*), zelené řase *Raphidocelis subcapitata*, hořčici bílé (*Sinapis alba*) a ředkvi seté (*Raphanus sativus*) (fotodokumentace v příloze 3). Biotesty na *Daphnia magna* a *Raphidocelis subcapitata* jsem prováděla na Oddělení experimentální fykologie a ekotoxikologie Botanického ústavu AV ČR, v.v.i..

Testovací organismy byly vybrány jako zástupci různých trofických úrovní obývajících různé ekosystémy, které jsou však relevantní pro odtok z denitrifikačních bioreaktorů v podmínkách ČR. Protože byla kromě odtoku do recipientu zkoumána také možnost využití těchto vod na závlahu, byly kromě sladkovodních akvatických organismů (*Daphnia magna* a *Raphidocelis subcapitata*) zařazeny také organismy terestrické (*Sinapis alba* a *Raphanus sativus*).

Výluhy jsem testovala vždy čerstvé (stáří max. 1 den) a neředěné (případně s minimálním ředěním daným postupem biotestu). U výluhů jsem stanovila pouze inhibici neředěného výluhu a nestanovovala jsem hodnota EC₅₀ z důvodu nestálosti vzorku, u kterého kvůli vysokému obsahu organických látek docházelo k rozkladu a změně toxicity po několika dnech i při uchování v chladu. Z důvodu nedostatečné homogenity vyluhovaného materiálu také nebylo možné připravit nový výluh o stejných parametrech.

Vzorky nebyly před provedením biotestů provzdušňovány ani u nich nebylo upravováno pH z důvodu zjištění komplexní ekotoxicity výluhu v případě jeho vypouštění do recipientu, nebo použití při závlaze. Pro provedení biotestů na *Daphnia magna* a *Raphidocelis subcapitata* byly vzorky před použitím přefiltrovány přes 15 µm filtr. Výskyt částic u *Daphnia magna* může zapříčinit zdánlivě vyšší toxicitu, protože se jedná o organismy filtrující potravu. U testu *Raphidocelis subcapitata* mohou částice ovlivnit měření fluorescence.

Zkoušku inhibice pohyblivosti perlooček *Daphnia magna* Straus jsem provedla dle ČSN EN ISO 6341. Jednalo se o zkoušku akutní toxicity s délkou 48 h. Biotest byl proveden ve 30-jamkových destičkách, kde bylo inkubováno vždy 5 juvenilů v 10 ml výluhu obohaceného živinami, nebo ve stejném množství standardního roztoku. Každý vzorek i kontrola byly testovány ve 4 opakováních. Do vzorku byly přidány zásobní roztoky živin o celkovém objemu 10 ml na litr vzorku, vzorek měl tedy koncentraci 99 %. Juvenilové dafnie byly inkubovány potmě a počty imobilizovaných jedinců byly odečteny po 24 a 48 h. Procento imobilizace jsem vypočetla následovně:

$$I = \frac{n_{im}}{n} \cdot 100 \quad (4.13)$$

kde I (%) je imobilizace, n_{im} (-) je počet imobilizovaných dafnií a n (-) je původní počet dafnií v testu.

Test inhibice růstu zelené řasy *Raphidocelis subcapitata* (syn. *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Selenastrum capricornutum*) jsem provedla dle ČSN EN ISO 8692. Pro kultivaci bylo použito 50% ZBB médium (Zehnder médium, Bristol Bold médium a voda v poměru 1:1:2). Biotest byl proveden v 96-jamkových mikrotitračních destičkách s objemem 250 µl. Ke 125 µl výluhu bylo vždy přidáno 125 µl 100% ZBB média s inokulem řas (zhruba 200 000 buněk na ml – měřeno v Bürkerově komůrce). Testovaný vzorek byl tedy 2x naředěn. Každý vzorek i kontrola byly testovány v 6 opakováních. Hustota řas byla stanovena po 24, 48 a 72 h, a to nepřímo měřením fluorescence. Fluorescence byla měřena na vlnových délkách 485 nm (excitace) a 670 nm (emise), za pomoci přístroje GENios s firmwarem XFLUOR4 v módu Fluorescence Top. Před měřením byly vždy vzorky pomocí přístroje promíchány. Měření souběžně probíhalo i u výluhů se stejným ředěním pomocí média, ale bez

inokula řas, které byly inkubovány za stejných podmínek, a tato hodnota byla následně použita pro eliminaci vlivu zbarvení vzorku. Inhibici jsem vypočetla následovně:

$$I = \frac{f_C - (f_S + f_E)}{f_C} \cdot 100 \quad (4.14)$$

kde f_C je průměrná fluorescence kontroly po 72 h, f_S je průměrná fluorescence vzorku po 72 h a f_E je úbytek fluorescence způsobený zbarvením vzorku.

Test na semenech hořčice bílé (*Sinapis alba*) jsem provedla dle Metodického pokynu odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů (MŽP, 2007). Vždy 30 semen bylo umístěno na filtrační papír v Petriho misce a zalito 10 ml vzorku obohaceného živinami, nebo standardním roztokem. Každý vzorek i kontrola byly testovány ve 3 opakováních. Do vzorku byly přidány zásobní roztoky živin o celkovém objemu 10 ml na litr vzorku. Po 72 h byly změřeny délky kořene a zapsán počet nevyklíčených semen. Inhibici délky kořene jsem vypočetla následovně:

$$I = \frac{d_C - d_S}{d_C} \cdot 100 \quad (4.15)$$

kde I (%) je inhibice, d_C (mm) je průměrná délka kořene u kontroly a d_S (mm) je průměrná délka kořene u vzorku.

Výsledky ekotoxikologických biotestů jsem zařadila do tří kategorií – netoxický, mírně toxický a toxický (Tab. 4.5.1). Celkovou toxicitu výluhu jsem hodnotila podle baterie těchto tří testů na základě nejhoršího výsledku.

Tab. 4.5.1. Kategorie hodnocení toxicity na základě inhibice/imobilizace *Sinapis alba*, *Daphnia magna* a *Raphidocelis subcapitata*

	<i>Sinapis alba</i>	<i>Daphnia magna</i>	<i>Raphidocelis subcapitata</i>
Netoxický	< 30 %	< 10 %	< 30 %
Mírně toxický	30–50 %	10–50 %	30–50 %
Toxický	≥ 50 %	≥ 50 %	≥ 50 %

Pro stanovení dlouhodobějšího účinku výluhu na růst suchozemských rostlin jsem provedla test na ředkvi seté (*Raphanus sativus*). Test jsem provedla dle metodiky testování vlivu chemických látek na růst sazenic terestrických rostlin (OECD, 2006).

Délka testu byla 5 týdnů v případě statických výluhů a 4 týdny v případě odtoku z kolon. Testován byl 24 h statický výluh materiálů provedený shodným způsobem jako předchozí, ale pro vyluhování byla použita vodovodní voda. Jako kontrola byla použita odstátá vodovodní voda odebraná ve stejnou dobu jako voda na výluhy. Každý výluh byl testován v 10 nádobách ve dvou opakováních. Každá nádoba měla objem 200 ml a byla vyplněna substrátem s hnojivem (zásobní hnojivo garantováno výrobcem na dobu 6 týdnů). V každé nádobě bylo umístěno 5 semen ředkve. Nádoby byly zalévány stejným objemem výluhu, nebo odstáté vodovodní vody. Po 7 dnech byly rostliny zredukovány na 3 nejvitálnější jedince. U rostlin byl sledován vzhled a počet listů v průběhu růstu. Na konci testu byla stanovena sušina nadzemní části rostlin. Inhibici výtěžku biomasy nadzemní části jsem vypočetla následovně:

$$I = \frac{m_C - m_S}{m_C} \cdot 100 \quad (4.16)$$

kde m_C (g) je průměrná hmotnost sušiny nadzemní části u kontroly a m_S (g) je průměrná hmotnost sušiny nadzemní části u vzorku.

Výslednou inhibici jsem dále zařadila do kategorie dle Tab. 4.5.2.

Tab. 4.5.2. Kategorie hodnocení toxicity na základě inhibice *Raphanus sativus*

<i>Raphanus sativus</i>	
Netoxický	< 30 %
Mírně toxický	30–50 %
Toxický	≥ 50 %

4.6 Sustainability index

Vliv denitrifikačních bioreaktorů jsem posoudila podle metody Sustainability index (Fenton *et al.*, 2014). Jedná se o holistický přístup posouzení, který bere v úvahu pozitivní i negativní důsledky, kterým připisuje určitou váhu na základě platné legislativy v posuzovaném území.

Sustainability index sem vypočetla dle rovnice:

$$SI = a \times B(1) + b \times B(2) + c \times B(3) \dots \quad (4.17)$$

kde SI (-) je sustainability index, a–c atd. (-) jsou váhy jednotlivých ukazatelů znečištění, B(1)–B(3) atd. (mg/(l·d)) jsou bilance vybraných ukazatelů znečištění a 1–3 jsou vybrané ukazatele znečištění.

Bilanci B jsem získala dle rovnice:

$$B = \dot{m}_{in} - \dot{m}_{out} \quad (4.18)$$

kde \dot{m}_{out} (mg/(l·d)) je výstupní hmotnostní tok a \dot{m}_{in} (mg/(l·d)) je vstupní hmotnostní tok, které jsem vypočetla dle rovnice 4.4. Kladné hodnoty B tedy znamenají zvyšování hmotnostního toku dané látky při průtoku bioreaktorem (např. vyluhování látek z náplně) a záporné hodnoty naopak snižování hmotnostního toku při průtoku bioreaktorem (např. odstraňování NO_3^-).

Jako ukazatele znečištění jsem zvolila koncentrace N-NO_3^- , N-NH_4^+ a CHSK_{Cr} . Ukazatele byly vybrány na základě porovnání různých kombinací uvedených v článku Bílková *et al.* (2017). Váhy jsem vypočetla dle ročního průměru přípustného znečištění, daného Nařízením vlády č. 401/2015 Sb., které stanovuje hodnoty přípustného znečištění povrchových vod. U ukazatele N-NO_3^- byla přiřazena váha o hodnotě 1. Další váhy byly stanoveny na základě principu – čím přísnější je legislativní požadavek, tím vyšší je váha. Tedy dle vzorce:

$$\text{Váha} = N - \text{NO}_3^-_{\text{připust.}} - \text{ukazatel}_{\text{připust.}} \quad (4.19)$$

kde $\text{N-NO}_3^-_{\text{připust.}}$ (mg/l) je roční průměr přípustného znečištění N-NO_3^- , pro nějž byla přiřazena váha 1, a $\text{ukazatel}_{\text{připust.}}$ (mg/l) je roční průměr přípustného znečištění dalších ho ukazatele, pro nějž je váha vypočítávána.

Legislativní požadavky a vypočtené váhy vybraných ukazatelů jsou uvedeny v Tab. 4.6.1.

Tab. 4.6.1. Roční průměr přípustného znečištění dle Nařízení vlády č. 401/2015 Sb. u vybraných ukazatelů kvality povrchové vody a jejich váhy

Ukazatel	Přípustné znečištění - roční průměr, mg/l	Váha pro výpočet SI
CHSK _{Cr}	26	0,21
N-NO ₃ ⁻	5,4	1
N-NH ₄ ⁺	0,23	23,5

4.7 Předpovědní model

Výpočet exponenciálního modelu, který byl použit pro předpověď rychlosti vyluhování CHSK_{Cr}, byl převzat z článku Schmidt & Clark (2013). Rovnice modelu je následující:

$$r_{CHSK}(t) = r_{CHSK}(0) \cdot e^{-rt} + \theta \quad (4.20)$$

kde $r_{CHSK}(t)$ (mg/(l·d)) je rychlost vyluhování CHSK_{Cr} v čase t , $r_{CHSK}(0)$ (mg/(l·d)) je rychlost vyluhování CHSK_{Cr} v čase 0, r (-) je exponenciální rychlostní konstanta vyluhování, t (d) je čas a θ (mg/(l·d)) je asymptotická rychlost vyluhování.

Parametry rovnice modelu byly stanoveny následovně – za $r_{CHSK}(0)$ byla brána skutečná rychlost vyluhování při prvním měření; asymptotická rychlost θ byla vypočtena jako průměr r_{CHSK} tří posledních měření; rychlostní konstanta r byla stanovena pomocí funkce Řešitel v programu MS Excel tak, aby byla minimalizována čtvercová chyba mezi naměřenými daty a daty modelu.

5. VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Výběr materiálu náplně

V první fázi testování byly materiály srovnány na základě statického testu vyluhovatelnosti, který ukazuje pouze krátkodobé vyluhování látek. Vyluhování náplně bioreaktoru je okamžitě po spuštění nejintenzivnější a může působit největší zátěž pro recipient. Statické výluhy sice nevypovídají o reálných parametrech vod odtékajících z denitrifikačních bioreaktorů (z důvodu např. vyluhování deionizovanou vodou a třepání při vyluhování), ale jsou dobře použitelné pro srovnání materiálů mezi sebou. Při krátkodobém vyluhování je také minimalizován rozklad náplně, a biochemické procesy s tím související, který ovlivňuje vývoj složení výluhu. Ze dřeva se vyluhují ve vodě rozpustné látky jako je lignin (včetně fenolické složky), pektiny, pryskyřičné látky, třísloviny, volné cukry a škroby a z menší části i látky minerální.

5.1.1 Testované materiály

Pro testování bylo vybráno 6 dřevních materiálů použitelných jako náplň denitrifikačních bioreaktorů – směs kůry z borovice a modřínu a štěpky z jádrového dřeva dubu, topolu, buku, akátu a smrku. Vlastnosti materiálů a parametry vyluhování jsou uvedeny v Tab. 5.1.1. Statický test vyluhovatelnosti byl proveden dle metodiky uvedené v kapitole 4.2.

Tab. 5.1.1. Parametry testovaných materiálů a jejich vyluhování

		Směs	Dub	Topol	Buk	Akát	Smrk
Velikostní frakce	mm	1,4–22,4	>1,4	1,4–22,4	1,4–22,4	1,4–22,4	1,4–22,4
Sušina	hm. %	85,9	90,9	87,9	89,6	91,4	90,3
Vlhkost	hm. %	14,1	9,1	12,1	10,4	8,6	9,7
Navážka materiálu	g	209,5	198,0	204,7	201,0	196,9	199,3
Objem vody	ml	1 771	1 782	1 775	1 779	1 783	1 781

5.1.2 Výsledky

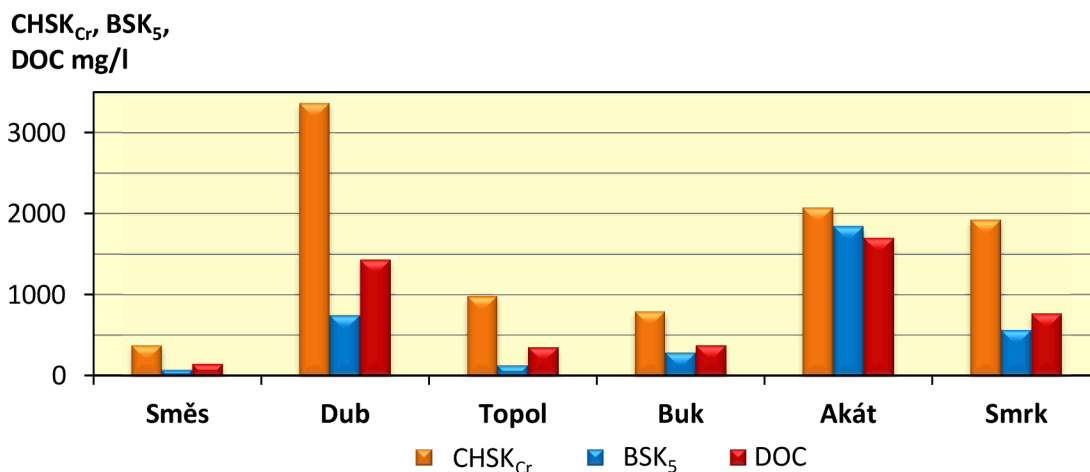
Fyzikálně chemické parametry statických výluhů jsou uvedeny v Tab. 5.1.2.

Tab. 5.1.2. Fyzikálně-chemické parametry filtrovaných výluhů neupravených materiálů

		Směs	Dub	Topol	Buk	Akát	Smrk
<i>V</i>	ml	1 606	1 416	1 380	1 545	1 440	1 463
<i>T</i>	°C	21,6	21,6	21,6	22,4	22,1	21,9
pH	-	4,72	4,11	6,81	5,84	5,50	4,64
κ	$\mu\text{S/cm}$	176	486	657	378	2 290	255
CHSK _{Cr}	mg/l	380	3 370	990	800	2 080	1 930
BSK ₅	mg/l	75	750	130	290	1 850	570
DOC	mg/l	149	1 435	358	380	1 705	770
N-ox	mg/l	1,9	-	5,9	13,5	16,9	19,5
N-NO ₂ ⁻	mg/l	0,1	0,9	0,2	0,3	0,6	0,8
N-NO ₃ ⁻	mg/l	1,8	-	5,7	13,2	16,3	18,7
N-NH ₄ ⁺	mg/l	0,7	0,9	0,5	0,7	0,8	0,7
TKN	mg/l	10,1	6,4	7,3	5,7	4,3	6,4
N _{org}	mg/l	9,4	5,5	6,8	5,0	3,5	5,7
TN	mg/l	12,0	-	13,2	19,2	21,2	25,9
TP	mg/l	10,2	9,8	16,5	25,5	-	10,3

5.1.3 Vyluhování organických látek

Obsah CHSK_{Cr}, BSK₅ a DOC ve výluhu (Obr. 5.1.1) byl u testovaných materiálů rozdílný. Největší vyluhovatelnost organických látek byla zjištěna u dubu a akátu, kde se jednalo zejména o extrémní hodnotu CHSK_{Cr} 3 370 mg/l (dub) a extrémní hodnoty BSK₅ 1 850 mg/l a DOC 1 705 mg/l (akát). Smrk také vykazoval zvýšené hodnoty, zejména CHSK_{Cr} 1 930 mg/l. Vyluhovatelnost organických látek z topolu a buku byla nižší než u dubu, akátu a smrku a byla vzájemně podobná. Nejnižší hodnoty byly naměřeny u výluhu ze směsi borovice a modřínu (CHSK_{Cr} 380 mg/l, BSK₅ 75 mg/l a DOC 149 mg/l). Vyluhování látek z dřevního materiálu by mělo být závislé na druhu dřeviny a typu pletiva, které určuje strukturu materiálu, složení a vyluhovatelnost organických látek s různou rozložitelností a toxicitou (Svensson *et al.*, 2014a). Vyluhování mohlo být kromě použitého druhu dřeviny ovlivněno i převažující velikostí a tvarem částic, které nebyly u všech testovaných materiálů zcela totožné (viz obrázky v příloze 1). Vybrané materiály by však měly představovat materiály reálně použitelné v denitrifikačních bioreaktorech s nízkou cenou a snadnou dostupností.



Obr. 5.1.1. Parametry výluhů neupravených materiálů – CHSK_{Cr}, BSK₅ a DOC

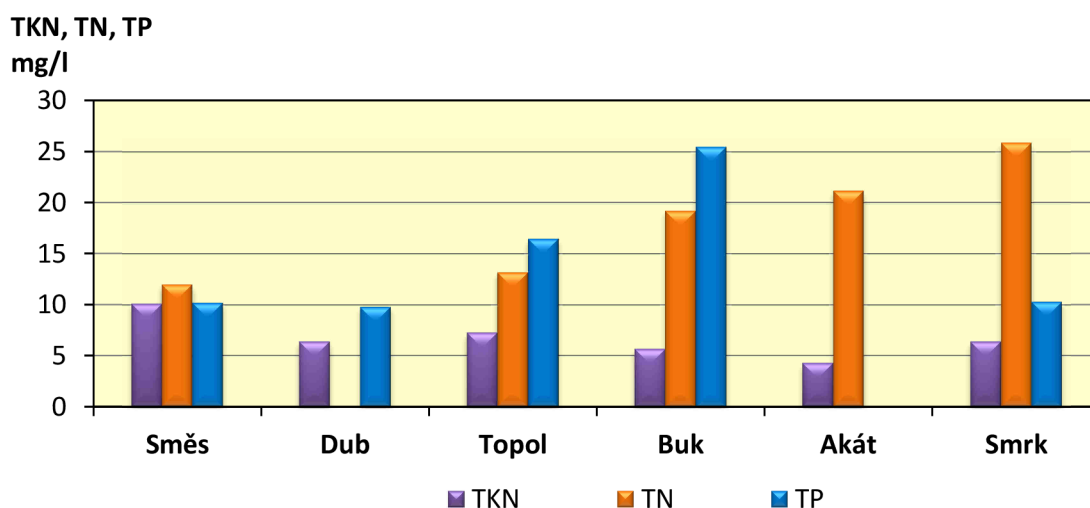
Pro organické látky, vyluhované z testovaných materiálů, vychází poměr BSK/CHSK, který určuje rozložitelnost obsažených organických látek, průměrně 0,25. Do výpočtu průměru nebyl zahrnut akát s odlišnou hodnotou 0,9, tedy s větším poměrem biologicky snáze rozložitelných látek. Průměrný přepočítávací koeficient DOC/CHSK vyšel 0,4 a u akátu 0,8. Shodné poměry u výluhů nasvědčují obsahu organických látek podobného charakteru, které se nejspíše u akátu liší. Jak bylo řečeno výše, výsledek nemusí být ovlivněn pouze druhem dřeviny ale i konkrétním charakterem použitého vzorku.

Vyluhování organických látek z náplně by mělo být minimální, ale dostatečné pro průběh denitrifikace. Stechiometrická spotřeba donoru elektronů pro redukci N-NO₃⁻ na N₂, vyjádřená jako TSK, je 2,855 g/g. Vyjádřit minimální koncentraci organických látek potřebných pro denitrifikaci jako DOC je obtížné, protože se v případě dřevních výluhů jedná o komplikovanou směs organických látek. V bioreaktoru také dochází k souběžné spotřebě C_{org} na denitrifikaci a vyluhování C_{org} z náplně, čímž je znemožněno měření spotřeby *in situ*.

Příliš vysoké hodnoty vyluhovaných organických látek jsou nežádoucí nejen z důvodu možné toxicity vyluhovaných látek, ale především proto, že rozklad organických látek má vliv na kyslíkový režim recipientu a může způsobit kyslíkový deficit. Vliv na kyslíkový režim mají zejména biologicky rozložitelné organické látky zjištěné ve formě BSK₅, takže největší riziko z testovaných výluhů představuje akát.

5.1.4 Vyluhování nutrientů

Obsah TKN, TN a TP je uveden na Obr. 5.1.2. Hodnota N-ox u výluhu z dubu nemohla být naměřena, protože i po vyčiření měl vzorek žluté zabarvení způsobené organickými látkami a měřicí přístroj ukazoval nadhodnocené výsledky. Tím pádem nemohly být vypočteny ani hodnoty N-NO_3^- a TN. Rušivým vlivem při měření N-ox pomocí UV absorpce jsou látky absorbující na podobné vlnové délce, tedy okolo 220 nm. Jedná se např. o huminové kyseliny a fulvokyseliny (Pellerin *et al.*, 2013). Hodnota TP u výluhu z akátu nebyla naměřena, protože výluh byl i po mineralizaci zakalen a nedošlo úplnému rozkladu organických látek, takže byly výsledky nadhodnoceny.



Obr. 5.1.2. Parametry výluhů neupravených materiálů – TKN, TN a TP (hodnoty TN u dubu a TP u akátu nebyly stanoveny)

Dle výsledků nejsou rozdíly ve vyluhování nutrientů u jednotlivých materiálů výrazné. Koncentrace TKN, který je součtem N-NH_4^+ a N_{org} , se u všech výluhů pohybují v rozmezí 4,3 a 10,1 mg/l. Koncentrace N-NH_4^+ byly nízké (do 1 mg/l) takže TKN byl dán zejména obsahem N_{org} . Koncentrace TN se u všech výluhů pohybovala mezi 12,0 a 25,9 mg/l. Hodnoty TP byly v rozmezí 9,8 a 25,5 mg/l. Největší vyluhování TN se projevilo u smrku a největší vyluhování TP u buku. Je však pravděpodobné, že hodnoty, které nebyly naměřeny u dubu (TN) a akátu (TP), nabývaly ještě vyšších hodnot.

Kannepalli *et al.* (2016) u výluhu dřevní štěpky uvádí koncentrace TP 10–260 mg/kg sušiny (severoamerické dřeviny mírného pásu) a TN 780 mg/kg sušiny (směs jedle a borovice), což odpovídá zhruba TP 1–26 mg/l a TN 78 mg/l při 100 g sušiny na litr. V případě vlastních výsledků byly hodnoty TP obdobné a TN vyšlo nižší, avšak výsledky jsou jen obtížně srovnatelné z důvodu rozdílných a nepřesně specifikovaných druhů dřevin. Kannepalli *et al.* (2016) také uvádí výsledky materiálu ze skládky, na který působily atmosférické vlivy, které mohly způsobit nižší vyluhování látek než u čerstvého materiálu.

5.1.5 Hodnota pH a konduktivita výluhu

Výluhy jednotlivých dřevin vykazovaly odlišné vlastnosti již dle parametrů pH a konduktivity. Hodnoty pH byly naměřeny v rozmezí 4-6, kdy nejnižší pH bylo naměřeno u dubu (4,11). Výjimkou byl výluh z topolu, u kterého bylo naměřeno pH 6,81, takže jako jediný spadá do rozmezí optimálního pH pro průběh denitrifikace, které je 6-9 (Pitter, 2015). Při použití přírodních vod by byla tlumivá kapacita vyšší a pokles pH by nebyl tak výrazný jako při použití deionizované vody. I celkové vyluhování látek by bylo nižší, takže v tomto případě se jedná o extrémní hodnoty. Nejvyšší hodnota konduktivity byla naměřena u akátu (2 290 $\mu\text{S}/\text{cm}$), která několikanásobně převyšovala ostatní testované materiály i hodnoty obvyklé pro povrchové vody, které se pohybují v desítkách až stovkách $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Pitter, 2015). Vody s extrémně vysokými hodnotami konduktivity mohou negativně ovlivňovat denitrifikační bakterie v bioreaktoru, nebo organismy v recipientu.

Hodnota konduktivity vypovídá o obsahu elektrolytů, tedy anorganických iontů a ionizovatelných organických látek, pH může být ovlivněno např. obsahem huminových látek (Pitter, 2015), takže v dřevních výluzích mohou tyto hodnoty vypovídat o obsahu vyluhovaných látek a jejich charakteru. Dle naměřených hodnot konduktivita výluhu pouze velmi zhruba koresponduje s obsahem vyluhovaných organických látek, kde nejnižší hodnota konduktivity (176 $\mu\text{S}/\text{cm}$) byla naměřena u směsi borovice s modřínem a nejnižším množstvím vyluhovaných organických látek. Nejvyšší konduktivita (2 290 $\mu\text{S}/\text{cm}$) byla zjištěna u výluhu z akátu s nejvyššími hodnotami BSK₅ a DOC. Ale například topol vykazuje vyšší konduktivitu výluhu než dub a smrk, přestože se z něj vyluhovalo menší množství organických látek. To napovídá o vyluhování látek jiného charakteru.

5.1.6 Fenolické látky ve výluhu

Dále byly ve výluzích stanoveny koncentrace nízkomolekulárních monobazických fenolických sloučenin – fenol, *o*-, *m*- a *p*-kresol (methylfenol). Výsledky jsou uvedeny v Tab. 5.1.3.

Tab. 5.1.3. Koncentrace nízkomolekulárních monobazických fenolických sloučenin ve výluzích neupravených materiálů (Schrimpelová *et al.*, 2018a)

	Směs	Dub	Topol	Buk	Akát	Smrk
fenol	ng/l	< 100	15 834	< 100	< 100	< 100
<i>o</i>-kresol	ng/l	< 100	< 100	< 100	< 100	1 358
<i>m</i>-kresol	ng/l	< 100	924	< 100	< 100	6 496
<i>p</i>-kresol	ng/l	< 100	780	< 100	708	6 032

Sledované fenolické sloučeniny byly zjištěny v relativně vysokém množství (stovky až tisíce ng/l) ve výluzích dubu a smrku, v nichž byla také zjištěna přítomnost thymolu a smrkový výluh obsahoval také *p*-ethylfenol a *p*-valerylfenol. Výluh dubu obsahoval téměř 16 000 ng/l fenolu, který nebyl zjištěn v ostatních výluzích. Zajímavé je, že koncentrace *m*- a *p*-kresolu byly v případě dubu nižší než 1 000 ng/l, zatímco u smrku byly zhruba sedminásobně vyšší a navíc obsahoval *o*-kresol (1 358 ng/l) a další fenolické látky. Výluh z buku obsahoval *p*-kresol (708 ng/l).

Obsah kresolů je očekáván zejména u jehličnanů, případně dubu (WHO, 1996), což se u dubu a smrku potvrdilo. Ve výluhu směsi kůry borovice s modřínem ale žádné fenolické látky zjištěny nebyly, přesto že se jedná o kůru jehličnanů, u které by byl obsah fenolických látek předpokládán (Samis *et al.*, 1999; Taylor *et al.*, 1996). Je však možné, že použitý materiál nebyl dostatečně čerstvý a u fenolických látek došlo k rozkladu či volatilizaci ještě před provedením výluhu.

Vyluhování nízkomolekulárních fenolických látek bylo v souladu s vyluhováním organických látek ve formě CHSK_{Cr}, BSK₅ a DOC. Jedinou výjimkou byl výluh z akátu, který vykazoval vysoké vyluhování organických látek, ale nebyla v něm zjištěna žádná ze sledovaných fenolických sloučenin. Je však možné, že akát obsahoval jiné fenolické sloučeniny, než sledované. Celkový obsah organických látek v dřevním výluhu s obsahem fenolických sloučenin korelovat nemusí (Taylor *et al.*, 1996).




5.1.7 Ekotoxicita výluhu

Ekotoxicita výluhů byla stanovena pomocí ekotoxikologických biotestů provedených na *Sinapis alba*, *Daphnia magna* a *Raphidocelis subcapitata* (dle metodiky uvedené v kapitole 4.5). Důležité je však brát v úvahu to, že výluhy nemají shodné složení jako odtok z kolon (např. z důvodu vyluhování destilovanou vodou a krátkodobého, ale intenzivního vyluhování). Jedná se o výluhy za definovaných laboratorních podmínek, jejichž výhodou je možnost srovnání materiálů mezi sebou.

Hodnoty inhibice výluhů jsou uvedeny v Tab. 5.1.4 a naměřené hodnoty použité pro výpočet inhibice jsou uvedeny v přílohách 5 až 7.

Tab. 5.1.4. Výsledky ekotoxikologických biotestů výluhů neupravených materiálů v % inhibice a celkové výsledky baterie testů (Schrimpelová & Malá, 2017, Schrimpelová et al., 2017b)

	Směs	Dub	Topol	Buk	Akát	Smrk
<i>Sinapis alba</i>	-4	62	13	29	94	20
<i>Daphnia magna</i>	0	100	40	10	100	5
<i>Raphidocelis subcapitata</i>	-19	47	-53	45	27	17
Celkový výsledek baterie testů	netoxický	toxický	mírně toxický	mírně toxický	toxický	netoxický

	netoxický
	mírně toxický
	toxický

Výluh byl toxický v případě dubu a akátu, u kterých byla zjištěna toxicita pro *Sinapis alba* a *Daphnia magna*. Akát měl také nejvyšší množství nevyklíčených semen *Sinapis alba* a u dvou ze tří misek byla patrná plíseň (Obr. 5.1.3). Topol a buk vykazovaly mírnou toxicitu pro *Daphnia magna* (topol) a *Raphidocelis subcapitata* (buk). Směs borovice s modřínem a smrk byly pro všechny testovací organismy netoxické, a to i přesto, že se jednalo převážně o kůru, která by měla obsahovat vyšší koncentrace fenolických látek než jádrové dřevo. Vliv však mohla mít i degradace materiálu před použitím.



Obr. 5.1.3. Toxický účinek výluhu akátu na *Sinapis alba* – vlevo výluh, vpravo kontrola

U testovaných výluhů nebylo záměrně upraveno pH, takže výsledky mohou být tímto ovlivněny. Předepsané pH pro tento biotest je 6–9. Nejnižší pH o hodnotě 4,11 měl výluh dubu, který vykazoval 100 % toxicitu. Ale např. smrk o pH 4,64 a směs borovice s modřínem o pH 4,72 toxicitu nevykazovaly a naopak topol s pH v daném rozmezí (7,39) vykazoval mírnou toxicitu.

Z výsledků vyplývá, že korýši (*Daphnia magna*) byli citlivější než vyšší rostliny (*Sinapis alba*). To odpovídá obdobnému experimentu publikovanému Taylor *et al.* (1996), kteří testovali toxicitu výluhu z topolu osiky na korýších (*Daphnia magna*) a vyšších rostlinách (test klíčivosti *Lactuca sativa*). Nízká toxicita pro řasy *Raphidocelis subcapitata* mohla být způsobena tím, že byla koncentrace testovaného výluhu pouze 50%, což bylo dáno postupem testování v mikrotitračních destičkách.

Toxicita výluhů vyšla v souladu se zjištěním Kannepalli *et al.* (2006), kteří zjistili vztah mezi toxicitou dřevních výluhů a $CHSK_{Cr}$. V případě tohoto experimentu výluhy s nejvyšším obsahem organických látek stanovených ve formě $CHSK_{Cr}$, ale i BSK_5 a DOC, vykazovaly toxický účinek. Např. u testu na *Sinapis alba* byla zjištěna silná korelace mezi inhibicí a obsahem organických látek ve formě $CHSK_{Cr}$ a BSK_5 (Schrimpelová *et al.*, 2017a). Výjimku tvořil smrk, u kterého i přes vyšší koncentrace $CHSK_{Cr}$ toxicita zjištěna nebyla. Rex *et al.* (2016) tvrdí, že toto pravidlo nemusí platit vždy a Libralato *et al.* (2007) žádný vztah v obdobném experimentu nenašli.

Dle Taylor *et al.* (1996) je toxicita závislá na obsahu fenolických sloučenin. Tato hypotéza byla splněna u dubu (toxický pro *Sinapis alba* a *Daphnia magna* a mírně toxický pro *Raphidocelis subcapitata*). Akát se projevil jako toxický, ale nebyly zde

naměřeny žádné ze sledovaných fenolických sloučenin. Je však možné, že výluh obsahoval jiné fenolické sloučeniny, které nebyly stanoveny. Přestože ve výluhu smrku byl naměřen *o*-, *m*- i *p*-kresol, toxicita u něj nebyla zjištěna. Ve výluhu smrku byla také zjištěna přítomnost thymolu, *p*-ethylfenolu a *p*-valerylfenolu, jednalo se však pouze o kvalitativní analýzu, takže neznáme přesnou koncentraci.

Tab. 5.1.5 uvádí hodnoty EC₅₀ převzaté z obdobných biotestů s *Daphnia magna* pro jednotlivé testované fenolické sloučeniny. Pro *Dafnia magna* byl nalezen největší počet výsledků pro všechny sloučeniny, protože se jedná o běžný testovací organismus a standardizovaný test. Je patrné, že u všech výluhů materiálů byla naměřena výrazně nižší koncentrace fenolických látek (setiny až tisíce mg/l), než jsou hodnoty EC₅₀ získané z databáze. Výluh akátu však vykazoval inhibici 100 %, i přestože u něj byly všechny stanovované fenolické látky pod limitem detekce. Také dub vykazoval 100% inhibici, a to při naměřené koncentraci fenolu pouhých 0,016 mg/l. V databázi byla zjištěna hodnota NOEL pro fenol 2,2 mg/l (U.S. EPA – ECOTOX), takže toxicita výluhu z dubu, co se týče fenolu, není předpokládána. Toxicita tedy byla nejspíše způsobena jinými než zjišťovanými organickými sloučeninami. Tomu napovídá i fakt, že smrk měl obsah *m*- a *p*-kresolu mírně vyšší než dub (smrk 0,006 mg/l a dub 0,001 mg/l u obou sloučenin), přesto byl smrk pro *Daphnia magna* netoxický.

Tab. 5.1.5. Převzaté hodnoty EC₅₀ pro sledované sloučeniny testované na *Daphnia magna* (U.S. EPA – ECOTOX)

	Počet výsledků v databázi	Průměr	EC ₅₀ , mg/l	
			Min.	Max.
fenol	36	27,6	4,2	100
<i>o</i>-kresol	9	13,9	5,0	23,8
<i>m</i>-kresol	1	18,8	-	-
<i>p</i>-kresol	3	10,1	1,4	21,1

Ekotoxikologická data pro *Raphidocelis subcapitata* byla v databázi nalezena pouze pro fenol (Tab. 5.1.6). Fenol byl zjištěn pouze u dubu (0,016 mg/l), při testování byla navíc koncentrace pouze poloviční (dáno metodikou testu). Přestože byly naměřené koncentrace fenolu výrazně nižší než hodnoty nalezené v databázi, tak dub dosahoval téměř 50% inhibice.

Tab. 5.1.6. Převzaté hodnoty EC_{50} pro fenol testovaný na *Raphidocelis subcapitata* (U.S. EPA – ECOTOX)

	Počet výsledků v databázi	Průměr	EC_{50} , mg/l	
			Min.	Max.
fenol	22	75,5	0,061	150

Ekotoxicita pro semena vyšších rostlin (inhibice růstu kořene, na filtračním papíru v Petriho misce) byla z databáze zjištěna pouze pro fenol a o-kresol a jednalo se o odlišné druhy rostlin (Tab. 5.1.7). U zjištěných dat se vždy jedná o hodnoty EC_{50} v řádech desítek až stovek mg/l. U smrku tedy byly zřejmě naměřené koncentrace natolik nízké, že nezpůsobily toxicitu pro *Sinapis alba*. U dubu však byla zjištěna toxicita 62 % i přesto, že koncentrace fenolu byla pouze 0,016 mg/l. Výluh z akátu byl pro *Sinapis alba* toxický i přes nedetekované koncentrace stanovovaných fenolických sloučenin.

Tab. 5.1.7. Převzaté hodnoty EC_{50} pro fenol a o-kresol testované na semenech vyšších rostlin (U.S. EPA – ECOTOX)

	Testovací organismus	Trvání testu, h	EC_{50} , mg/l
fenol	<i>Brassica rapa</i> var. <i>amplexicaulis</i> (vodnice)	120	125,6
	<i>Panicum miliaceum</i> (proso seté)	120	120
	<i>Lepidium sativum</i> (řeřicha setá)	48	81,18
o-kresol	<i>Brassica rapa</i> var. <i>amplexicaulis</i> (vodnice)	120	54,9

Předvídat toxický efekt výluhů na základě fyzikálně-chemického složení je obtížné, protože studované dřevní výluhy jsou tvořené směsí organických látek, ze kterých jsme stanovili pouze několik vybraných. Také u nich může docházet ke vzájemnému ovlivňování, a to jak k synergismu (zesílení efektu), tak i antagonismu (zeslabení efektu) (Newman, 2014). Na výsledek mohly mít také vliv další parametry výluhu, jako například vysoký osmotický tlak způsobený velkým obsahem rozpuštěných látek, a podmínky testu.

5.1.8 Trojnásobné statické výluhy

Při vyluhování náplně denitrifikačních bioreaktorů nezáleží pouze na počátečním vyluhování, u kterého mohou vysoké koncentrace ohrozit ekosystém recipientu, ale také na vyluhování při dlouhodobém provozu. Vyluhované množství se obvykle časem ustálí na určité koncentraci – pokud je příliš vysoká, tak bude nadměrná koncentrace zbytečně zatěžovat recipient, příliš nízká koncentrace organických látek může být naopak nedostatečná pro denitrifikaci a může negativně ovlivnit funkci bioreaktoru.

Za účelem vyhodnocení dalšího vývoje vyluhování byly provedeny trojnásobné statické výluhy. Jednalo se o tři po sobě jdoucí statické testy vyluhovatelnosti (3×24 h) dle metodiky v kapitole 4.2, takže se stále jednalo o relativně krátkodobé vyluhování. Testovány byly čtyři perspektivní materiály – směs borovice s modřínem a topolová, buková a smrková štěpka (viz Tab. 5.1.1). První výluh byl shodný s výluhy uvedenými v kapitole 5.1.2.

Fyzikálně chemické parametry trojnásobného statického výluhů jsou uvedeny v Tab. 5.1.8 a 5.1.9. Z výsledků je patrné, že s každým výluhem došlo ke snížení koncentrací vyluhovaných látek. Spolu s tím docházelo také ke snižování konduktivity. Hodnota pH byla v průběhu vyluhování téměř stejná.

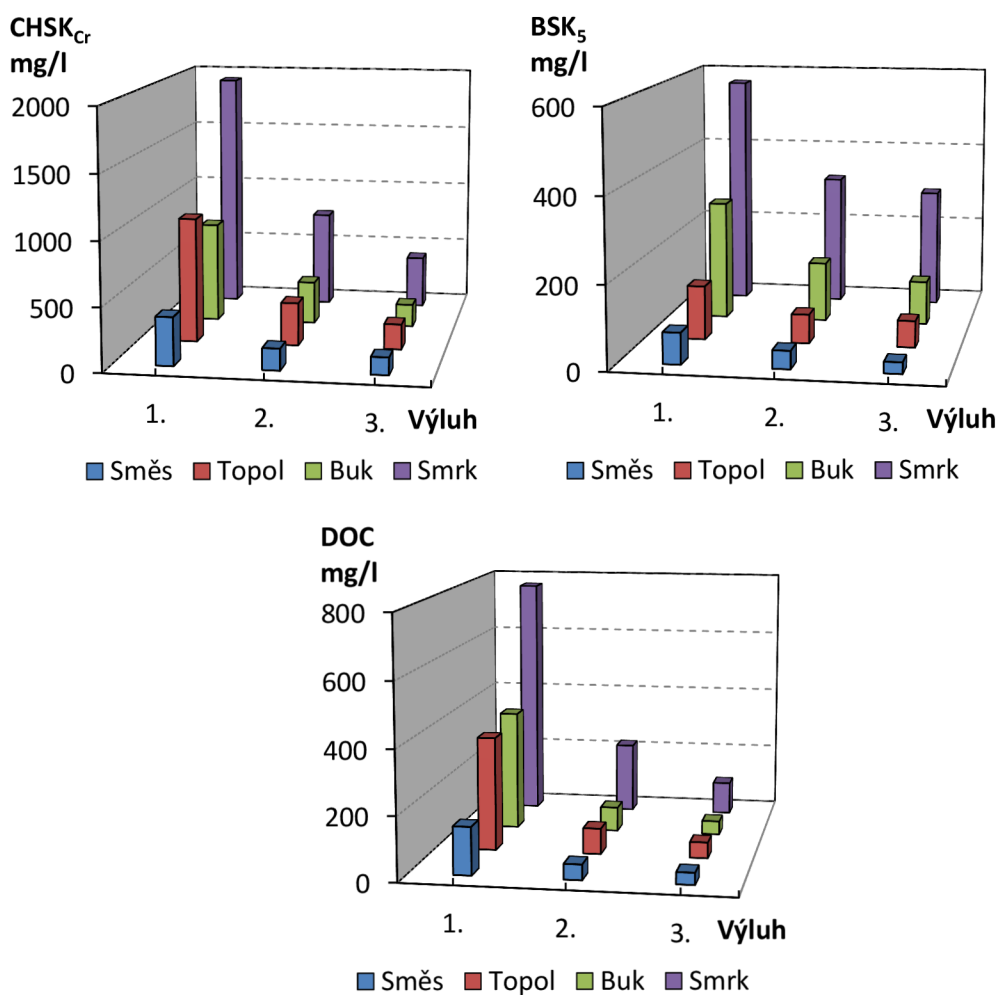
Tab. 5.1.8. Fyzikálně-chemické parametry trojnásobných filtrovaných výluhů – směs borovice s modřínem a topol

Pořadí výluhu		Směs			Topol		
		1.	2.	3.	1.	2.	3.
V	ml	1606	1605	1601	1380	1375	1373
T	°C	21,6	21,2	21,2	21,6	21,2	21,2
pH	-	4,72	4,44	4,70	6,81	6,76	6,66
κ	$\mu\text{S/cm}$	176	66	44	657	285	185
CHSK _{Cr}	mg/l	380	170	136	990	340	200
BSK ₅	mg/l	75	43	27	130	70	64
DOC	mg/l	149	48	37	358	81	50
N-ox	mg/l	1,9	1,1	0,5	5,9	1,7	1,2
N-NO ₂ ⁻	mg/l	0,1	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0
N-NO ₃ ^{-*}	mg/l	1,8	1,1	0,5	5,7	1,7	1,2
N-NH ₄ ⁺	mg/l	0,7	0,1	0,1	0,5	0,2	0,1
TKN	mg/l	10,1	2,8	2,8	7,3	3,8	4,2
N _{org} [*]	mg/l	9,4	2,7	2,7	6,8	3,6	4,1
TN [*]	mg/l	12,0	3,9	3,3	13,2	5,5	5,4
TP	mg/l	10,2	2,1	1,2	16,5	4,6	3,0

Tab. 5.1.9. Fyzikálně-chemické parametry trojnásobných filtrovaných výluhů – buk a smrk

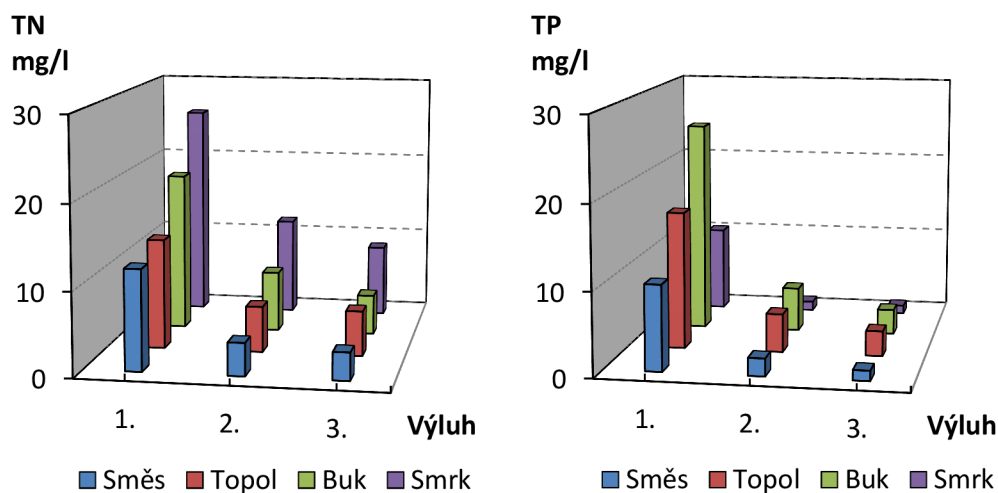
Pořadí výluhu		Buk			Smrk		
		1.	2.	3.	1.	2.	3.
V	ml	1545	1543	1546	1463	1468	1465
T	°C	22,4	21,2	21,2	21,9	21,2	21,2
pH	-	5,84	5,86	5,91	4,64	4,42	4,61
κ	$\mu\text{S/cm}$	378	123	79	255	60	35
CHSK _{Cr}	mg/l	800	340	180	1930	770	415
BSK ₅	mg/l	290	145	106	570	320	290
DOC	mg/l	380	77	43	770	224	103
N-ox	mg/l	13,5	3,8	2,5	19,5	8,1	6,2
N-NO ₂ ⁻	mg/l	0,3	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0
N-NO ₃ ^{-*}	mg/l	13,2	3,8	2,5	18,7	8,1	6,2
N-NH ₄ ⁺	mg/l	0,7	0,1	0,1	0,7	0,1	0,1
TKN	mg/l	5,7	3,5	2,3	6,4	3,7	2,5
N _{org} [*]	mg/l	5,0	3,4	2,2	5,7	3,6	2,4
TN [*]	mg/l	19,2	7,3	4,8	25,9	11,8	8,7
TP	mg/l	25,5	5,3	3,0	10,3	1,1	1,0

Hodnoty $CHSK_{Cr}$, BSK_5 a DOC (Obr. 5.1.4.) se s každým výluhem snižovaly, ale u každého materiálu jiným způsobem. Zatímco směs borovice s modřínem měla velmi nízké hodnoty u všech tří výluhů, u dalších materiálů bylo snížení mnohem výraznější, zejména u $CHSK_{Cr}$ a DOC. U směsi se ve třetím výluhu oproti výluhu prvnímu snížilo $CHSK_{Cr}$ pouze třikrát a DOC čtyřikrát, u ostatních materiálů to bylo více než čtyřnásobné snížení u $CHSK_{Cr}$ a sedminásobné snížení u DOC. V případě třetího výluhu měla směs borovice s modřínem nejnižší koncentrace (136 mg/l $CHSK_{Cr}$, 27 mg/l BSK_5 a 37 mg/l DOC) a smrk koncentrace nejvyšší (415 mg/l $CHSK_{Cr}$, 290 mg/l BSK_5 a 103 mg/l DOC).



Obr. 5.1.4. Parametry trojnásobných statických výluhů neupravených materiálů – $CHSK_{Cr}$, BSK_5 a DOC

Koncentrace TN a TP na Obr. 5.1.5. také měly snižující se tendenci, pokles koncentrací u směsi borovice s modřínem však byl výraznější než v případě organických látek. Směs borovice s modřínem vykazovala ve 3. výluhu nejnižší koncentrace TN (3,3 mg/l TN). Nejnižší koncentrace TP byly zjištěny u smrku (1,0 mg/l), který má v ostatních parametrech hodnoty nejvyšší (také nejvyšší TN – 8,7 mg/l). Nejvíce TP se ve 3. výluhu vyluhovalo z buku (3,0 mg/l).



Obr. 5.1.5. Parametry trojnásobných statických výluhů neupravených materiálů – TN a TP

Tab. 5.1.10 ukazuje celkové vyluhování jednotlivých látek jako součet hmotnosti ve všech vyluzích vztážený na hmotnost sušiny materiálu. Z těchto výsledků je patrné nejvyšší vyluhování organických látek a TN ze smrku a největší vyluhování TP z buku. Nejnižší vyluhování vykazovala směs borovice s modřínem, kromě TP, kde byl nepatrně nižší smrk. Topol a buk vycházely podobně, i když buk vykazoval mírně vyšší BSK₅, TN a TP.

Tab. 5.1.10. Množství látek vyluhovaných celkem při trojnásobném výluhu vztážené na hmotnost sušiny materiálu

		Směs	Topol	Buk	Smrk
CHSK _{Cr}	g/kg	6,86	15,30	13,20	31,15
BSK ₅	g/kg	1,45	2,94	5,41	11,80
DOC	g/kg	2,34	4,89	4,90	10,97
TN	mg/kg	192	241	313	464
TP	mg/kg	135	241	338	124

Vzhledem k obsahu vyluhovaných látek, kdy vyluhování N a P je nežádoucí, se jeví jako nejvhodnější materiál směs borovice s modřínem. Tomu napovídá i průběh vyluhování, kde směs měla vyluhování nejvíce pozvolné. Je však možné, že vyluhování organických látek u tohoto materiálu nebude dostatečné pro denitrifikaci. V tom případě by byl vhodnější některý s materiálů s vyššími koncentracemi organických látek.

5.1.9 Shrnutí

Statické testy vyluhovatelnosti, které jsou prováděny v laboratorních podmínkách, jsou užitečným nástrojem pro srovnání materiálů mezi sebou z hlediska vyluhovatelnosti i toxicity výluhů. Přesto je nutné brát v úvahu to, že se jedná o umělé výluhy, které se neshodují se skutečným složením odtoku z reálných bioreaktorů.

U výluhů získaných statickými testy byla zjištěna rozdílnost složení, značící odlišnost v krátkodobém vyluhování látek z testovaných materiálů. Vyluhování mohlo být kromě použitého druhu dřeviny ovlivněno i velikostí a tvarem částic, které nebylo u všech materiálů zcela totožné.

Nežádoucí vysoké vyluhování organických látek bylo zjištěno u dubu, akátu a částečně i smrku, střední vyluhování u topolu a buku a nízké vyluhování u směsi borovice s modřínem. Zda je však u směsi vyluhování natolik nízké, aby limitovalo denitrifikaci, nelze pouze na základě statických testů říci.

Toxicita výluhů ve většině případů korespondovala s celkovým obsahem organických látek, kdy v případě nejvyššího CHSK_{Cr} , BSK_5 i DOC naměřeného u dubu a akátu byla zjištěna také toxicita těchto výluhů. Směs borovice s modřínem s nejnižším obsahem organických látek ve výluhu byla stanovena jako netoxická, a to i navzdory tomu, že se jednalo o kůru.

U toxicity ale mělo zřejmě výrazný vliv také složení organických látek, protože např. smrk i přes vyšší obsah organických látek toxicitu nevykazoval. Rozdílné složení organických látek také naznačovala rozdílná hodnota pH a konduktivity výluhu, ne vždy korespondující s celkovým obsahem organických látek. I přítomnost testovaných fenolických látek byla u různých materiálů také odlišná a ne vždy odpovídala toxicitě (akát toxický, ale nebyly naměřeny fenolické látky), což mohlo být způsobeno obsahem

jiných toxických látek, které nebyly analyzovány. Výsledky tedy ukazují výraznou rozdílnost složení a vlastností organických látek ve výluhu jednotlivých materiálů.

Na základě obsahu vyluhovaných látek a toxicity, se jako nejvhodnější materiál náplně denitrifikačních bioreaktorů jeví směs borovice s modřínem s nejnižším a nejvíce pozvolným vyluhováním. Je však možné, že vyluhování organických látek u tohoto materiálu není dostatečné pro denitrifikaci. V tom případě by byl vhodnější některý s materiálů se středním vyluhováním, i když mnohdy mírně vyšší toxicitou, jako topol, buk a smrk. Dub a akát se jeví jako nevhodné z důvodu vysokého vyluhování látek a toxicity výluhu. Při výběru náplně bioreaktoru by však měl být posuzován konkrétní použitý materiál, který se může lišit nejen použitou dřevinou, ale i tvarem částic a poměrem kůry a jádrového dřeva.

5.2 Úprava materiálu náplně vysušením

U perspektivních materiálů testovaných v kapitole 5.1, kde byl proveden 24h výluh neupravených materiálů, byl zjišťován také vliv úpravy vysušením před vyluhováním. Materiály jsem před vyluhováním sušila 6 h při teplotě 105 °C. Cílem bylo zjistit, zda bude mít upravený materiál vhodnější parametry výluhu pro použití v denitrifikačních bioreaktorech, zejména zda dojde ke snížení vyluhování v náběhové fázi provozu bioreaktoru.

Pro úpravu byly vybrány tři materiály s přiměřeným vyluhováním organických látek – topolová, buková a smrková štěpka (viz Tab. 5.2.1). Směs borovice s modřínem nebyla vybrána z důvodu příliš nízkého vyluhování a dub s akátem naopak vyluhování příliš vysokého a toxicity. Materiály byly upraveny vysušením dle metodiky v kapitole 4.2. Následně byly srovnány parametry statických výluhů upravených a neupravených materiálů, které byly provedeny shodným způsobem.

Tab. 5.2.1. Parametry testovaných materiálů a jejich vyluhování

		Topol	Buk	Smrk
Velikostní frakce	mm	1,4–22,4	1,4–22,4	1,4–22,4
Sušina	hm. %	94,3	94,6	93,8
Vlhkost	hm. %	5,7	5,4	6,2
Navážka materiálu	g	159,1	158,5	159,8
Objem vody	ml	1 491	1 492	1 490

5.2.1 Výsledky

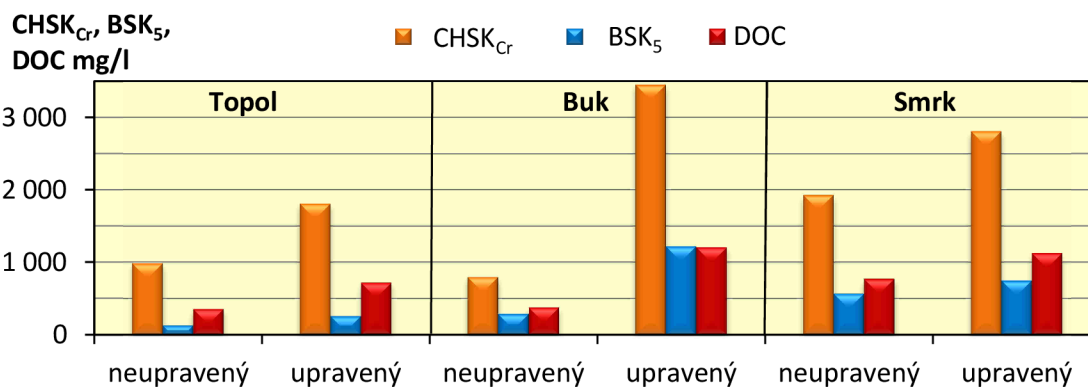
Fyzikálně-chemické parametry statických výluhů upravených materiálů jsou uvedeny v Tab. 5.2.2.

Tab. 5.2.2. Fyzikálně-chemické parametry filtrovaných výluhů upravených materiálů

		Topol	Buk	Smrk
V	ml	1 161	1 296	1 206
T	°C	23,9	23,9	23,8
pH	-	7,08	5,11	4,57
κ	$\mu\text{S/cm}$	836	625	251
CHSK _{Cr}	mg/l	1 810	3 450	2 810
BSK ₅	mg/l	260	1 220	750
DOC	mg/l	720	1 205	1 125
N-ox	mg/l	2,6	19,0	10,8
N-NO ₂ ⁻	mg/l	0,1	0,1	0,1
N-NO ₃ ^{-*}	mg/l	2,5	18,9	10,7
N-NH ₄ ⁺	mg/l	0,1	0,4	0,3
TKN	mg/l	1,9	3,2	0,3
N _{org} [*]	mg/l	1,8	2,8	0,0
TN [*]	mg/l	4,5	22,2	11,1
TP	mg/l	13,8	22,9	7,0

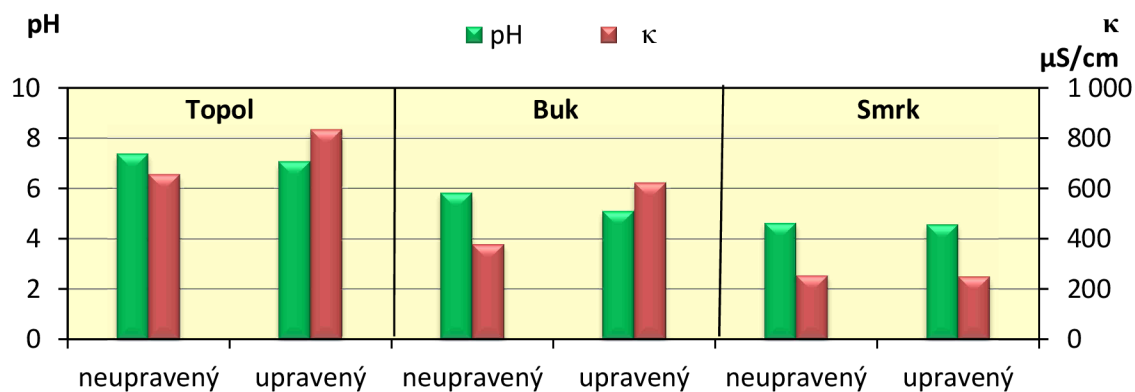
5.2.2 Srovnání fyzikálně chemických parametrů neupravených a upravených výluhů

Při srovnání vyluhování organických látek u neupravených a upravených materiálů (Obr. 5.2.1) je patrné, že u všech testovaných materiálů došlo ke zvýšení koncentrace CHSK_{Cr}, BSK₅ i DOC ve výluhu úpravou materiálu vysušením. K největšímu vyluhování došlo u upraveného buku, u kterého byl také rozdíl mezi neupraveným a upraveným materiálem největší, více než trojnásobný. Poměr BSK/CHSK u upravených materiálů vyšel podobně jako u neupravených, tedy průměrně 0,25.



Obr. 5.2.1. Parametry filtrovaných výluhů neupravených a upravených materiálů – CHSK_{Cr}, BSK₅ a DOC

Hodnoty pH a konduktivity neupravených a upravených materiálů (Obr. 5.2.2) výluhů se téměř shodovaly. Výrazný rozdíl byl pouze u konduktivity výluhu z buku, která úpravou stoupla z 378 $\mu\text{S}/\text{cm}$ na 625 $\mu\text{S}/\text{cm}$. To bylo nejspíše způsobeno výrazným nárůstem koncentrace organických látek, které konduktivitu mohou ovlivňovat.



Obr. 5.2.2. Parametry filtrovaných výluhů neupravených a upravených materiálů – pH a konduktivita.

Ekotoxicita u výluhů upravených materiálů (Tab. 5.2.3, přílohy 8 až 10) byla ve všech případech obdobná, nebo vyšší než u materiálů neupravených. Výrazně vzrostla zejména u smrku, u kterého došlo ke změně celkového výsledku baterie testů z netoxického na toxický, toxicita se projevila u dvou testovacích organismů. U buku také došlo ke změně kategorie z mírně toxického na toxický a byl toxický pro všechny testovací organismy. Topol byl v obou případech mírně toxický (pouze pro *Daphnia magna*) a úprava neměla na toxicitu výrazný vliv.

Tab. 5.2.3. Výsledky ekotoxikologických biotestů výluhu neupravených a upravených materiálů v % inhibice a celkové výsledky baterie testů

	Topol		Buk		Smrk	
	neupravený	upravený	neupravený	upravený	neupravený	upravený
<i>Sinapis alba</i>	13	-11	29	69	20	69
<i>Daphnia magna</i>	40	25	10	100	5	95
<i>Raphidocelis subcapitata</i>	-53	-5	45	53	17	26
Celkový výsledek baterie testů	mírně toxický	mírně toxický	mírně toxický	toxický	netoxický	toxický

Zvýšení toxicity nejspíše souvisí se zvýšením obsahu organických látek, které bylo u buku nejvyšší. Zvýšit se však mohl i podíl organických látek s vyšší toxicitou, což je pravděpodobné u smrku, u kterého se celkový obsah navýšil jen mírně. Zjištění je tedy v souladu s předchozími výsledky.

5.2.3 Shrnutí

Materiály upravené vysušením u většiny sledovaných parametrů vykazují jejich zhoršení. Došlo zejména k vyššímu vyluhování organických látek a zvýšení toxicity, které je nežádoucí. Největší rozdíly se projevily u výluhu z buku a nejnižší u topolu.

Vyluhování látek z náplně bioreaktorů by nemělo být nadměrně vysoké, úprava materiálů vysušením před použitím jako náplň bioreaktoru se tedy nejeví jako perspektivní. Možné využití by bylo u materiálů s příliš nízkou vyluhovatelností organických látek. To zda bude vyšší vyluhování dlouhodobé je však diskutabilní a na základě statického testu vyluhovatelnosti nelze určit. Nepříliš perspektivní je tento způsob úpravy také s ohledem na zvýšení nákladů a obtížnější logistiku.

5.3 Náběhová fáze provozu bioreaktoru

Náběhová fáze (start-up fáze) je počáteční fází provozu bioreaktoru, kdy dochází k nastartování denitrifikace. V této fázi také dochází k uvolňování vysokých koncentrací lehce vyluhovatelných organických látek z náplně, které mohou působit problémy v recipientu.

V rámci testování náběhové fáze byly zprovozněny denitrifikační kolony simulující skutečné bioreaktory v laboratorních podmínkách. Popis denitrifikačních kolon je uveden v kapitole 4.3. Testovanými materiály byla směs borovice s modřínem, mulč a topolová, buková a smrková štěpka. Parametry náplně a provozní parametry kolon jsou uvedeny v Tab. 5.3.1. Kolony byly najížděny postupně, proto se od sebe některé parametry provozu značně liší a jsou jen omezeně srovnatelné. Denitrifikační kolony byly provozovány po dobu 9 týdnů, což je přibližná délka náběhu kolon, a parametry na odtoku byly stanovovány v týdenních intervalech.

Tab. 5.3.1. Parametry náplně a provozní parametry denitrifikačních kolon v náběhové fázi

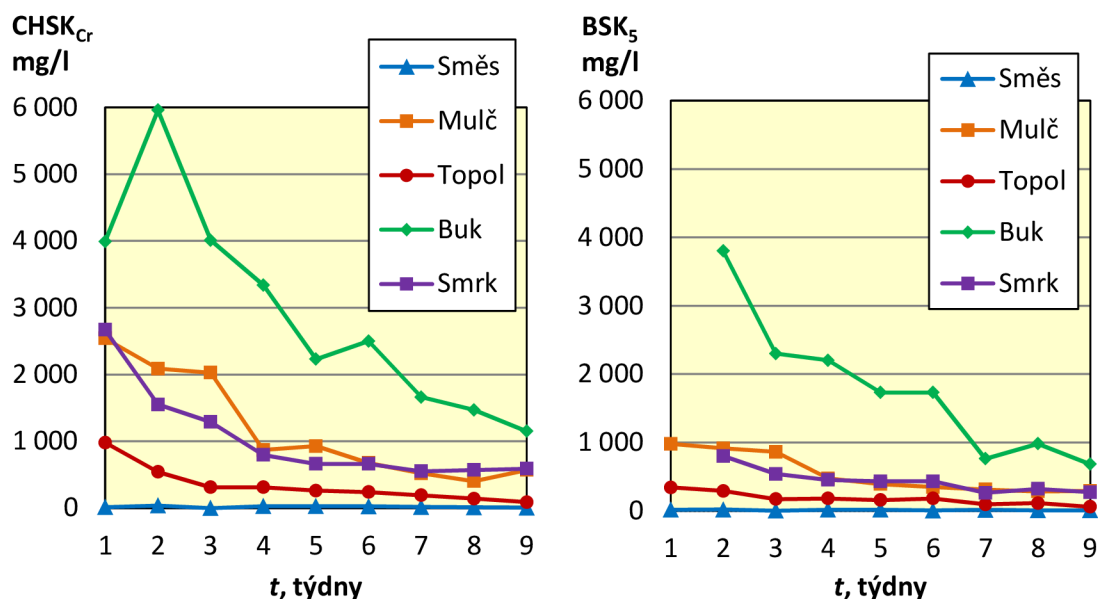
	Směs	Mulč	Topol	Buk	Smrk
Pórovitost, %	68,2	22,3	53,5	72,0	74,4
Výška náplně, m	0,89	0,89	0,86	0,90	0,90
Objem náplně, m ³	0,063	0,063	0,061	0,064	0,064
Q, l/d	5,7→16,7	5,6	20,9	3,2	3,6
HRT, d	7,5→2,6	2,5	1,6	14,2	13,2
Teplota, °C	18±1	18±1	16±1	20±1	20±1
N-NO ₃ na vstupu, mg/l	35±3	36±3	42±2	8,5±0,5	8,5±0,5

Pozn.: u směsi borovice s modřínem byl v 6. týdnu zvýšen průtok a současně zkrácena HRT

5.3.1 Vyluhovatelnost látek z náplně v náběhové fázi bioreaktoru

Složení vody na odtoku je ovlivněno více faktory, jako je vyluhování látek z náplně a fyzikálně-chemické a biochemické přeměny, např. denitrifikace. Vliv samotného vyluhování tedy nelze zcela odlišit. Pro jednoduchost jsou koncentrace CHSK_{Cr}, BSK₅, N-NH₄⁺ a TKN přisouzeny vyluhování, které je nejvíce ovlivňuje.

Koncentrace $CHSK_{Cr}$ a BSK_5 na odtoku v závislosti na čase od spuštění bioreaktoru se snižují, až dochází k jejich ustálení na relativně nízkých hodnotách (Obr. 5.3.1). Toto zjištění koresponduje s výsledky dalších autorů (Robertson, 2010; Cameron & Schipper, 2010; Koslow, 2014). Vyluhování látek z náplně po náběhové fázi by mělo být téměř zanedbatelné (Healy *et al.* (2012), průběh vyluhování je však závislý na druhu použitého materiálu (Svensson *et al.*, 2014a) a HRT, které byly odlišné od tohoto experimentu.



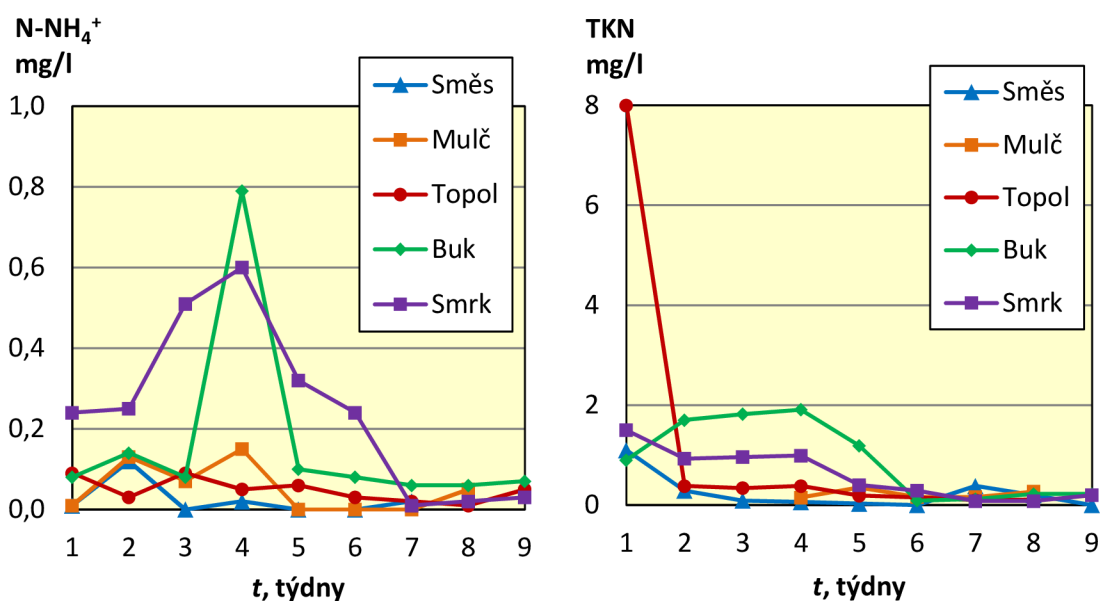
Obr. 5.3.1. Vývoj $CHSK_{Cr}$ a BSK_5 na odtoku z kolony v náběhové fázi

Mulč, topol a smrk měly velmi podobný průběh vyluhování s ustálením hodnot zhruba po 3–4 týdnech provozu. U topolu však byly zjištěny zhruba poloviční koncentrace než u mulče a smrku ($CHSK_{Cr}$ pod 310 mg/l a BSK_5 pod 180 mg/l). Krajnými případy byla směs borovice a modřínem a buková štěpka, kdy směs vykazovala nejnižší, téměř zanedbatelné, vyluhování a buk naopak nejvyšší. U směsi se hodnoty $CHSK_{Cr}$ i BSK_5 se pohybovaly v jednotkách až desítkách mg/l po celých 9 týdnech experimentu ($CHSK_{Cr}$ max. 37 mg/l a BSK_5 max. 17 mg/l). U buku bylo počáteční vyluhování několikanásobně vyšší než u ostatních materiálů ($CHSK_{Cr}$ 6 000 mg/l a BSK_5 téměř 4 000 mg/l). Ani po 9 týdnech provozu nedošlo k ustálení hodnot, které byly zejména v případě $CHSK_{Cr}$ stále klesající (v 9. týdnu byly koncentrace $CHSK_{Cr}$ 1 150 mg/l a BSK_5 680 mg/l). Jak velmi nízké vyluhování organických látek u směsi, tak i nadměrné vyluhování u buku může být nežádoucí,

protože nízké koncentrace mohou být nedostatečné pro průběh denitrifikace a naopak vysoké mohou působit problémy v recipientu.

Koncentrace N-NH_4^+ a TKN na odtoku (Obr. 5.3.2) byly po celou náběhovou fází velmi nízké. Vyluhování N-NH_4^+ bylo u všech materiálů nízké po celou dobu provozu a nepřevyšovalo hodnoty 0,8 mg/l. Od 7. týdne byly koncentrace N-NH_4^+ ustáleny pod 0,1 mg/l. Vzhledem k tomu, že např. u emisních standardů pro vypouštění odpadních vod jsou uvedeny limitní koncentrace N-NH_4^+ v řádu desítek mg/l (Nařízení vlády č. 401/2015 Sb.) a hodnoty naměřené v tomto experimentu byly v řádu desetin mg/l, jsou tyto hodnoty téměř zanedbatelné.

Koncentrace TKN na odtoku u všech materiálů dosahovaly velmi nízkých hodnot, pod 2 mg/l, a po 6 týdnech provozu došlo k ustálení hodnot pod 0,4 mg/l. Výjimkou byl topol, který měl v 1. týdnu vyšší hodnotu TKN (8 mg/l), tedy několikanásobně vyšší než u ostatních materiálů (0,9–1,5 mg/l). U mulče bylo TKN stanovováno až od 4. týdne, takže počáteční vyluhování nebylo zjištěno.



Obr. 5.3.2. Vývoj koncentrací N-NH_4^+ a TKN na odtoku z kolony v náběhové fázi

Koncentraci vyluhovaných látek však mohla, kromě použitého materiálu, ovlivnit také délka HRT, případně teplota. Při delší HRT je totiž předpokládáno vyšší vyluhování látek z náplně, protože protékající voda je déle v kontaktu s materiálem a vyšší teplota zrychluje průběh biochemických reakcí (Cameron & Schipper, 2010; Schmidt & Clark, 2013). Např. Cameron & Schipper (2010) uvádí ustálení koncentrací

N-NH₄⁺ a TKN na odtoku po 2 měsících a BSK₅ po 6 měsících u kolon naplněných štěpkou z jádrového dřeva eukalyptu a pilin borovice, ale HRT byla mnohem vyšší než v tomto případě (37,5 h).

Při srovnání vyluhovaných látek na odtoku z kolon v prvních týdnech vyluhování s 24h statickým výluhem (Tab. 5.3.2) je patrné, že u kolon s malým průtokem a dlouhou HRT jsou koncentrace CHSK_{Cr}, BSK₅ na odtoku z kolony vyšší, než u statického výluhu stejného materiálu (buk a smrk). Při vyšších průtocích je vyluhování u kolon podobné (topol), nebo nižší (směs). Koncentrace N-NH₄⁺ a TKN byly na odtoku z kolon téměř ve všech případech nižší. Tento poznatek má význam při využití statických testů pro predikci chování náplně v dynamickém systému reálného bioreaktoru. Mulč není uveden, protože na něm nebyly provedeny statické výluhy.

Tab. 5.3.2. Srovnání CHSK_{Cr} a BSK₅ na odtoku z kolon v 1. týdnu provozu a ve 24h statickém výluhu

	Směs		Topol		Buk		Smrk	
	kolona	výluh	kolona	výluh	kolona	výluh	kolona	výluh
Q, l/d	5,7	-	20,9	-	3,2	-	3,6	-
HRT, d	7,5	-	1,6	-	14,2	-	13,2	-
Teplota, °C	18±1	21,6	16±1	21,6	20±1	22,4	20±1	21,9
CHSK_{Cr}	14	380	980	990	3 990	800	2 670	1930
BSK₅	14	75	340	130	3 800 ¹⁾	290	800 ¹⁾	570
N-NH₄⁺	0,0	0,7	0,1	0,5	0,1	0,7	0,2	0,7
TKN	1,1	10,1	8,0	7,3	0,9	5,7	1,5	6,4

Pozn.: ¹⁾ uvedena hodnota z 2. týdne (1. týden nebyla hodnota stanovena)

Tab. 5.3.3 uvádí parametry kolon, které mohly ovlivnit vyluhování, CHSK_{Cr} a BSK₅ na začátku a na konci náběhové fáze (v 1. a 9. týdnu) a jejich celkové vyluhování za 9 týdnů. Z tabulky jsou patrné značné rozdíly mezi jednotlivými materiály, které však mohly být ovlivněny i odlišnými provozními parametry kolon. Avšak i při podobném průtoku a HRT jsou parametry na odtoku odlišné (např. dvojice směs s mulčem a buk se smrkem), což ukazuje různé vyluhování u různých materiálů. V případě shodných materiálů by měla delší HRT způsobit vyšší koncentrace vyluhovaných látek, ale celkové vyluhování by mělo být zhruba stejné. Dle výsledků je však celkové vyluhování u různých materiálů velmi různé, což napovídá o vlivu použitého materiálu na vyluhování. Vliv provozních parametrů je patrný např. u topolu,

u kterého bylo celkové vyluhování vyšší než u smrku, přestože koncentrace na odtoku byly u smrku vyšší. U těchto dvou materiálů je výrazný rozdíl v HRT i teplotě, kde u topolu byl splněn předpoklad nižších koncentrací při delší HRT a nižší teplotě. U některých kolon je vliv vybraného materiálu výrazný. Např. směs borovice s modřínem měla vyluhování výrazně nejnižší, což bylo velmi pravděpodobně způsobeno vlastnostmi materiálu, protože provozní teplota byla průměrná a ani změna HRT v 6. týdnu (ze 7,5 d na 2,5 d) nijak vyluhování neovlivnila. Nejvyšší koncentrace látek u buku sice mohly být způsobeny velmi dlouhou HRT a mírně vyšší teplotou, ale celkové vyluhování za 9 týdnů u něj bylo také nejvyšší. Při srovnání hodnot buku se smrkem, který byl provozován s podobnými parametry, jsou vyšší koncentrace a i vyšší celkové vyluhování u buku patrné. Obecně ale dle výsledků neplatí, že by HRT a teplota korespondovaly s celkovým obsahem vyluhovaných látek, což naznačuje, že druh použitého materiálu má na vyluhování v náběhové fázi významný vliv (Bílková *et al.*, 2018). Testy vlivu HRT u kolon se stejným materiálem jsou uvedeny dále v kapitole 5.5.

Tab. 5.3.3. Provozní parametry ovlivňující vyluhování, koncentrace $CHSK_{Cr}$ a BSK_5 na začátku a na konci náběhové fáze a jejich celkové vyluhování za 9 týdnů

	Směs	Mulč	Topol	Buk	Smrk	
Q, l/d	5,7→16,7	5,6	20,9	3,2	3,6	
HRT, d	7,5→2,6	2,5	1,6	14,2	13,2	
Teplota, °C	18±1	18±1	16±1	20±1	20±1	
CHSK_{Cr}	koncentrace 1. týden, mg/l	14	2 540	980	3 990	2 670
	koncentrace 9. týden, mg/l	6	570	88	1150	590
	celkové vyluhování, g/m³	145	6 620	7 348	9 324	3 676
BSK₅	koncentrace 1. týden, mg/l	14	978	340	3 800 ¹⁾	800 ¹⁾
	koncentrace 9. týden, mg/l	5	289	56	680	270
	celkové vyluhování, g/m³	82	3 015	3 780	6 372 ²⁾	1 692 ²⁾

Pozn.: celkové vyluhování bylo vypočteno jako součet hmotnostních toků v jednotlivých týdnech vztažených na 1 m³ náplně.

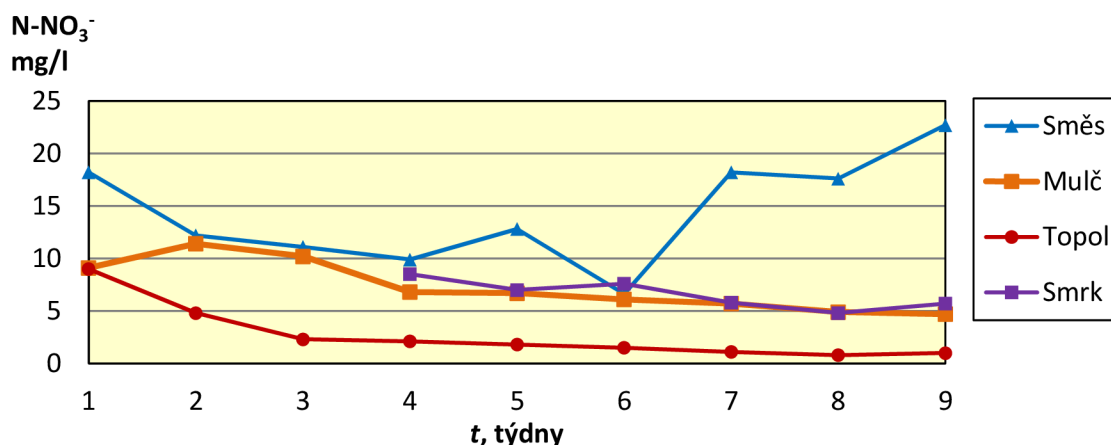
¹⁾ Uvedena hodnota z 2. týdne (1. týden nebyla hodnota stanovena),

²⁾ v 1. týdnu byl uvažován stejný hmotnostní tok jako v 2. týdnu z důvodu chybějících dat.

5.3.2 Průběh denitrifikace v náběhové fázi bioreaktoru

V náběhové fázi provozu bioreaktoru by mělo docházet k nárůstu účinnosti denitrifikace, spolu s nárůstem počtu denitrifikačních mikroorganismů a ustálením vhodných podmínek.

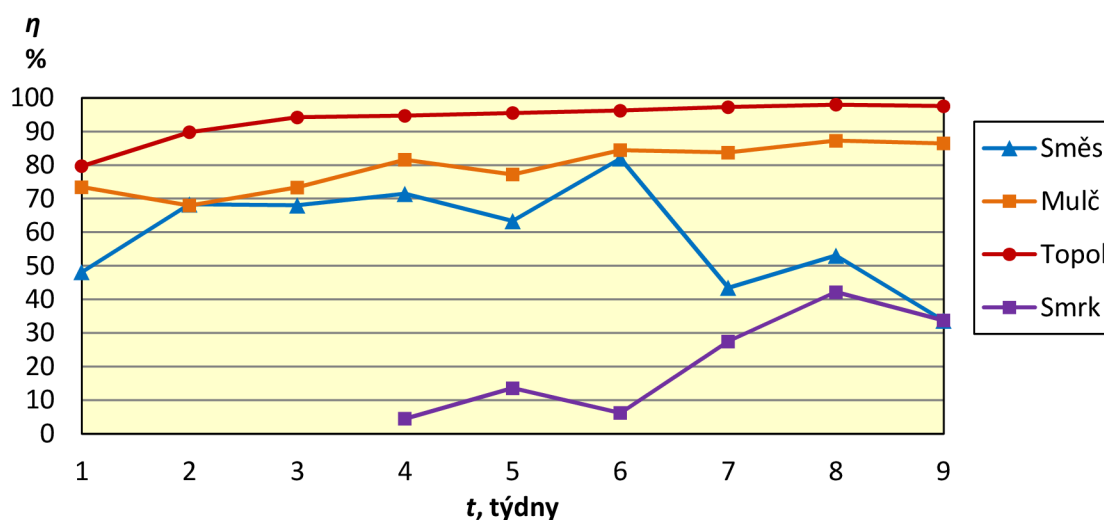
Během náběhové fáze byl u všech kolon patrný pokles koncentrace N-NO_3^- na odtoku (Obr. 5.3.3). Hodnoty N-NO_3^- u smrku před 4. týdnem a u buku po celých 9 týdnů nejsou uvedeny, protože stanovení N-NO_3^- nemohlo být provedeno z důvodu žlutého zbarvení vzorku i po vyčiření. Koncentrace N-NO_3^- na odtoku z kolony byly u směsi a topolu nižší než koncentrace na přítoku již v prvním týdnu měření, u mulče začaly hodnoty klesat od 2. týdne. Koncentrace N-NO_3^- byly v 9. týdnu sníženy až k hodnotám okolo 5 mg/l u mulče (ze vstupní koncentrace okolo 35 mg/l) a na 1 mg/l u topolu (ze vstupní koncentrace okolo 42 mg/l). U směsi borovice s modřínem je patrný vliv změny HRT v 6. týdnu, kdy došlo ke zkrácení HRT ze 7,5 d na 2,6 d, které způsobilo zvyšování koncentrací na odtoku.



Obr. 5.3.3. Vývoj N-NO_3^- na odtoku z kolony v náběhové fázi

Účinnost denitrifikace během náběhové fáze (Obr. 5.3.4) vykazovala rostoucí tendenci, spojenou zřejmě s nárůstem a adaptací denitrifikačních mikroorganismů, kdy nárůst byl největší po náběhu bioreaktoru a poté docházelo k ustálení hodnot. Nejvyšší účinnosti dosahoval topol (nad 80 % s maximem 97,5 % v 9. týdnu) s nejvyšší vstupní koncentrací N-NO_3^- a nejkratší HRT. Takto vysoká účinnost byla dosažena i přesto, že kolony nebyly nijak uměle inokulovány. Zajímavé je, že mulč s podobnými provozními parametry i dostatečně vysokou koncentrací organických látek na odtoku vykazoval nižší denitrifikační účinnost. To mohlo být způsobeno menší vhodností materiálu a

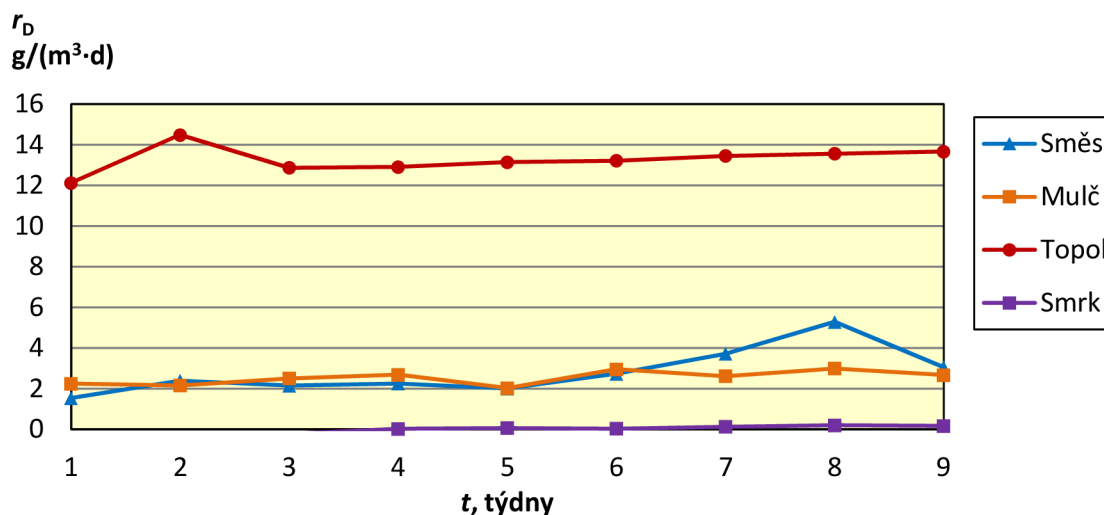
prostředí pro denitrifikační bakterie. U směsi, která měla zprvu podobnou denitrifikační účinnost jako mulč, je patrný vliv zkrácení HRT, kde od 6. týdne došlo ke snižování účinnosti (z 82 % na 33 %). Mulč však měl při téměř shodné HRT (2,5 d) vysokou účinnost, takže se u směsi pravděpodobně stalo limitujícím faktorem nedostatečné vyluhování organických látek z náplně, které bylo u směsi při všech experimentech velmi nízké. Smrk vykazoval nejhorší výsledky, které však mohly být způsobeny nejnižší použitou vstupní koncentrací N-NO_3^- , takže u vyšší koncentrace by výsledky mohly vycházet lépe.



Obr. 5.3.4. Vývoj účinnosti denitrifikace v náběhové fázi

Denitrifikační rychlost, tedy hmotnost odstraněného N-NO_3^- za čas vztažená k objemu náplně, je dána koncentrací N-NO_3^- na přítoku a na odtoku a průtokem. Významný vliv má použitý materiál náplně, ze kterého se uvolňuje C_{org} , potřebný pro denitrifikaci. Náplň také poskytuje plochu pro osídlení denitrifikačními bakteriemi, jejichž činnost může být látkami uvolněnými z náplně ovlivněna. Rychlosti denitrifikace během náběhové fáze (Obr. 5.3.5) byly velmi mírně rostoucí. Denitrifikační rychlost se obvykle v denitrifikačních bioreaktorech pohybuje mezi 2 a 10 $\text{g}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ (Robertson, 2010). Denitrifikační rychlosti se u topolu pohybovaly nad tímto rozmezím a u mulče a směsi okolo jeho dolní hranice. Kromě rozdílu koncentrací N-NO_3^- byly denitrifikační rychlosti závislé také na průtoku bioreaktorem. Nejvyšší hodnoty u topolu (nad 12 $\text{g}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$) byly dosaženy i přes velmi krátkou HRT. Při vyšší vstupní koncentraci u topolu by mohla být denitrifikační rychlost i vyšší a při nedostatku organických látek pro denitrifikaci by bylo stále možné

HRT prodloužit. Vzájemně podobná denitrifikační rychlost u směsi a mulče, byla způsobena podobným průtokem, který byl zhruba čtyřikrát nižší než u topolu, čemuž odpovídá i nižší denitrifikační rychlost. U směsi je patrný mírný nárůst denitrifikační rychlosti po zvýšení průtoku a tím i zkrácení HRT v 6. týdnu. V případě smrku byla dosažena maximální denitrifikační rychlost pouze $0,2 \text{ g}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, také ovlivněná nejmenším průtokem.



Obr. 5.3.5. Vývoj denitrifikační rychlosti v náběhové fázi

Ukazatele denitrifikace v kolonách na konci náběhové fáze a celkové odstranění N-NO_3^- za 9 týdnů provozu je uvedeno v Tab. 5.3.4. Nejlepších výsledků dosáhl topol, u kterého byla nejnižší koncentrace N-NO_3^- na konci náběhové fáze a nejvyšší denitrifikační rychlost i účinnost. Také celkové odstranění N-NO_3^- u topolu značně převyšovalo ostatní. Toho bylo dosaženo také díky nejvyšší koncentraci N-NO_3^- na vstupu a nejkratší HRT (1,6 d) a navzdory nejnižší teplotě. U mulče byla koncentrace N-NO_3^- na odtoku i účinnost mírně horší, než u topolu, i když tyto hodnoty byly stále velmi dobré. I přes nízkou účinnost denitrifikace u směsi borovice s modřínem, celkové odstranění N-NO_3^- u směsi bylo podobné jako u mulče. U buku a smrku nebylo celkové odstranění N-NO_3^- stanoveno, protože u nich převažovalo vyluhované množství nad odstraněným. Buk měl však výsledky výrazně nejhorší, protože u něj ani po 9 týdnech provozu nedošlo ke snížení koncentrace N-NO_3^- na odtoku pod koncentrací na přítoku.

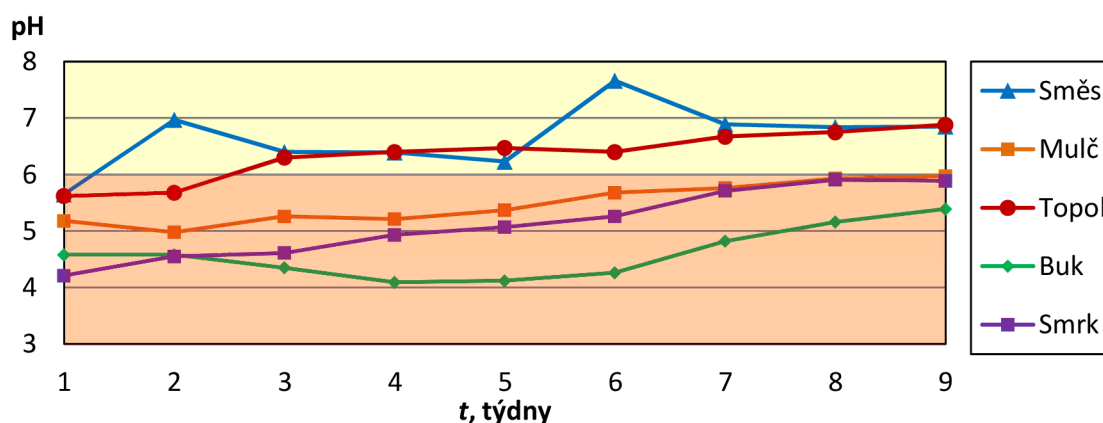
Tab. 5.3.4. Provozní parametry, ukazatele denitrifikace na konci náběhové fáze a celkové odstranění $N-NO_3^-$ za 9 týdnů

	Směs	Mulč	Topol	Buk	Smrk
Q, l/d	5,7→16,7	5,6	20,9	3,2	3,6
HRT, d	7,5→2,6	2,5	1,6	14,2	13,2
Teplota, °C	17	17	15	19	19
N-NO ₃ na vstupu, mg/l	34,2	34,7	40,8	8,6	8,6
N-NO ₃ na výstupu, mg/l	22,8	4,7	1,0	10,6	5,7
r_D , g/(m ³ ·d)	3,0	2,7	13,6	-	0,2
η , %	33	86	98	-	34
Celkové odstranění N-NO ₃ ⁻ , g/m ³	25,1	22,8	119,4	-	-

Pozn.: u směsi borovice s modřínem byl v 6. týdnu zvýšen průtok a současně zkrácena HRT. Celkové odstranění $N-NO_3^-$ bylo vypočteno jako suma rozdílů hmotnostních toků $N-NO_3^-$ na přítoku a na odtoku z kolony v jednotlivých týdnech vztažených na 1 m³ náplně.

5.3.3 Hodnota pH a koncentrace rozpuštěného O₂ na odtoku

Hodnota pH na odtoku z bioreaktoru (Obr 5.3.6) se pohybovala v rozmezí 4,1 a 7,7, přičemž optimální pH pro denitrifikaci je mezi 6 a 9 (Pitter, 2015). Hodnoty měly mírně rostoucí tendenci, která naznačuje zvyšující se účinnost denitrifikace, při které se pH zvyšuje, a současně úbytek organických látek ve výluhu, které pH snižují, což pozorovali také Cameron & Schipper (2010) v obdobném experimentu. V jejich případě bylo pH na počátku provozu 2,5 (eukalyptus) a 4,3 (borovice) a poté došlo k ustálení hodnot okolo 6,5. Další výzkumy uvádí u kolon naplněných směsí drtě větví a kůry s pískem pH v rozmezí 6,6 a 7,7 (Gibert *et al.*, 2008) a v kolonách naplněných borovou štěpkou pH mezi 7,3 a 8,5 (Healy *et al.*, 2012).



Obr. 5.3.6. Vývoj pH na odtoku z kolony v náběhové fázi s vyznačením optima (6 až 9)

V optimálním rozmezí pH se po většinu experimentu pohybovala pouze směs borovice s modřínem a topolová štěpka. Topol vykazoval velmi dobré parametry denitrifikace, ale u směsi, i přes optimální pH, byla nejspíše denitrifikace limitována jinými faktory (viz výše). U mulče byla i přes podobnost provozních parametrů s topolem zjištěna mírně nižší účinnost denitrifikace, která mohla být způsobena právě nižším než optimálním pH. Hodnoty pH u smrku byly zhruba podobné jako u mulče, což koresponduje i s podobným vyluhováním organických látek, ale denitrifikace u smrku byla ovlivněna velmi nízkou koncentrací N-NO_3^- na vstupu. Nejnížší pH bylo zjištěno u buku, který měl nejvyšší koncentrace vyluhovaných organických látek.

Koncentrace rozpuštěného O_2 na odtoku z kolon byla i na konci experimentu vysoká u všech kolon (1,7 až 2,9 mg/l). Lze předpokládat, že došlo k obohacení vzorku vody O_2 během odběru, které ovlivnilo měření. I přes přítomnost O_2 na odtoku docházelo u 4 z 5 kolon k odstraňování N-NO_3^- . K denitrifikaci dochází především na povrchu částic organického materiálu náplně, ale částečně i uvnitř. Mohlo tedy dojít ke vzniku gradientu koncentrace O_2 v částicích a jejich těsném okolí, jak naznačuje Gerardi (2002). Gibert *et al.* (2008) v podobném experimentu uvádí koncentraci rozpuštěného O_2 na odtoku z denitrifikačních kolon na konci náběhové fáze okolo 1 mg/l.

5.3.4 Shrnutí

Výsledky testů náběhové fáze na denitrifikačních kolonách ukazují rozdíly mezi použitými materiály. Vliv však pravděpodobně měla také délka HRT, která nebyla u všech kolon shodná, a také vstupní koncentrace N-NO_3^- . Mírně se u kolon lišila také teplota, její vliv však nebyl výrazný.

Ve sledovaném počátečním období provozu o délce 9 týdnů, což je přibližná délka náběhové fáze bioreaktoru, se koncentrace látek vyluhovaných z náplně snižovala a zvyšovala se účinnost denitrifikace. U většiny kolon během sledovaného období došlo k ustálení parametrů na odtoku. Výjimkou byl buk, který vykazoval nejvyšší vyluhovaná množství (zejména CHSK_{Cr} a BSK_5) a u kterého nedošlo k ustálení ani po 9 týdnech. Opačným případem byla směs borovice s modřínem s nejnižším vyluhovaným množstvím, u které se koncentrace na odtoku během sledovaného období téměř neměnily. Mulč, topol a smrk se pohybovaly ve středních hodnotách a ustálení

bylo poměrně rychlé (do 4 týdnů). Topol měl sice po směsi druhé nejnižší koncentrace organických látek na odtoku, ale nejnižší vyluhované množství za 9 týdnů bylo u smrku.

Nejvyšší dosažená účinnost denitrifikace v 9. týdnu byla zjištěna v případě kolony naplněné topolovou štěpkou, která měl nejvyšší vstupní koncentrací N-NO_3^- a nejkratší HRT. Topol také vykazoval nejvyšší denitrifikační rychlost okolo $14 \text{ g}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$. Koncentrace na odtoku byla u topolu snížena až na 1 mg/l . Také mulč vykazoval dobré výsledky, i když jeho denitrifikační rychlost byla oproti topolu snížena nižší vstupní koncentrací N-NO_3^- a menším průtokem.

Směs borovice s modřínem vykazovala dobré parametry denitrifikace až do zkrácení HRT, které způsobilo zvyšování koncentrací na odtoku a snižování účinnosti denitrifikace. Denitrifikaci zřejmě omezil nedostatek organických látek způsobený malým vyluhováním z náplně, protože obdobné provozní parametry byly i u jiných materiálů, které dosahovaly lepších výsledků.

Nejhorší parametry denitrifikace vykazoval smrk. Jednalo se zejména o nízkou denitrifikační účinnost a rychlost, která byla ze všech kolon nejnižší. Buk nebyl uveden vůbec z důvodu zbarvení vzorku znemožňujícího stanovení N-NO_3^- .

Dle celkového odstranění N-NO_3^- si nejlépe vedl topol, ale výsledky byly ovlivněny různými provozními parametry a buk se smrkem nemohly být do hodnocení zahrnuty. Zajímavé je, že u směsi bylo odstraněno o něco více N-NO_3^- než u mulče, přestože ze směsi bylo vyluhováno mnohem méně organických látek. Dobrá účinnost u směsi však vyžaduje zajištění delší HRT.

Hodnota pH na odtoku byla ovlivněna především obsahem organických látek a denitrifikací, výsledné pH se tedy postupně se snižováním koncentrace vyluhovaných látek a s náběhem denitrifikace zvyšovalo. Optimální pH pro denitrifikaci (6–8) bylo naměřeno u smrku a topolu, ale ani nižší hodnoty zjištěné u mulče (5–6) nezabránilo dosažení dobré účinnosti a rychlosti denitrifikace.

Pro lepší zjištění vlivu materiálu náplně by bylo potřeba provést experimenty se stejnými provozními parametry, u kterých by se ostatní vlivy eliminovaly. I přesto jsou však rozdíly mezi materiály patrné.

5.4 Odstávky bioreaktorů v bezdeštném období

V případě delšího období provozu denitrifikačních bioreaktorů s minimálními srážkami, nebo zcela bez srážek může docházet k zastavení průtoku vody denitrifikačním bioreaktorem a samovolnému odstavení bioreaktoru. V tomto období je možné udržovat bioreaktory stále zatopené (mokrý odstávka), nebo vypuštěné (suchá odstávka), kdy obě tyto možnosti mají své klady i zápory.

Z provozních důvodů (rekonstrukce laboratoří) byla na kolonách testována odstávka o délce 21 týdnů. Testováno bylo 12 kolon, kdy byla polovina kolon ponechána během odstávky napuštěná a polovina byla vypuštěna. Polovina kolon byla naplněna borovou mulčovací kůrou a polovina smrkovou, koncentrace N-NO_3^- na přítoku byla cca 40 mg/l (4 kolony) a 20 mg/l (8 kolon), HRT bylo v rozmezí 0,6 až 4,0 d. Před odstávkou byly kolony v provozu téměř 5 týdnů. Po 21 týdenní odstávce došlo ke zhoršení účinnosti denitrifikace téměř u všech kolon (průměrná účinnost před odstávkou byla 70,9 % a 4 dny po odstávce 37,1 %). S dalším provozem se účinnost ještě více snižovala místo toho, aby docházelo k nárůstu a obnovení procesu (8 týdnů po odstávce byla účinnost průměrně 30,8 %). Takto dlouhá odstávka se tedy ukázala jako příliš dlouhá a nedošlo k obnovení účinnosti denitrifikace.

Na základě předchozího experimentu byly testovány kratší odstávky s nově naplněnými kolonami. Odstávky byly postupně prodlužovány pro zjištění vlivu délky odstávky a nejdelší možné délky. Do provozu bylo uvedeno 8 denitrifikačních kolon naplněných topolovou štěpkou (Tab. 5.4.1). Kolony byly provozovány současně, takže i při shodné teplotě, která byla v rozmezí 15 až 25 °C.

Tab. 5.4.1. Parametry náplně kolon pro sledování vlivu odstávek

	Topol
Pórovitost, %	53,5
Výška náplně, m	0,86
Objem náplně, m ³	0,061

Koncentrace $N-NO_3^-$ na vstupu a způsoby odstávky jsou uvedeny v Tab. 5.4.2 (dvě kolony byly vždy stejné).

Tab. 5.4.2. Koncentrace $N-NO_3^-$ na vstupu a způsoby odstávky dvojic kolon

Označení kolon	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2
$N-NO_3^-$ na vstupu, mg/l	20		40		20		40	
Kolony během odstávky	zatopené		zatopené		vypuštěné		vypuštěné	

Etapy provozu a HRT jsou uvedeny v Tab. 5.4.3. Celkem bylo provedeno 5 odstávek o délce 2, 2, 3, 4 a 6 týdnů a mezi nimi bylo 6 etap provozu kolon. Ve 2. etapě došlo ke změně HRT (17. týden), dále bylo HRT měněno vždy před spuštěním další etapy (před 4. a před 5. etapou). Dvojice kolon měly vždy stejné HRT (různý průtok byl pouze u kolon C1 a C2 od 3. do 23. týdne a kolon D1 a D2 od 17. do 23. týdne).

Tab. 5.4.3. Etapy provozu kolon a HRT v jednotlivých etapách mezi odstávkami

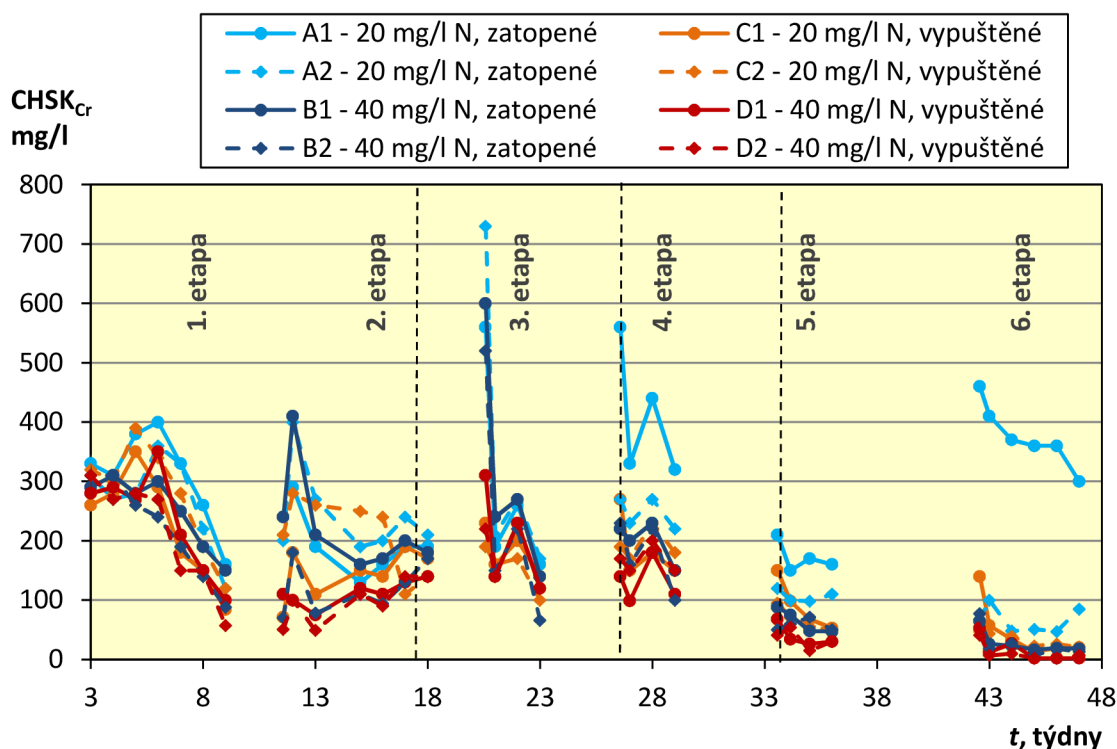
	Trvání od začátku provozu	Délka, týdny	HRT, d							
			A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2
1. etapa	3. – 9. týden	6	1,70		1,46		1,59 2,44		1,43	
Odstávka		2								
2. etapa	11. – 16. týden	7	1,70		1,46		1,59 2,44		1,43	
	17. – 18. týden		1,98		1,87		1,79 1,33		2,44 1,99	
Odstávka		2								
3. etapa	20. – 23. týden	3	1,98		1,87		1,79 1,33		2,44 1,99	
Odstávka		3								
4. etapa	26. – 29. týden	3	1,82		1,76		1,90		1,88	
Odstávka		4								
5. etapa	33. – 36. týden	3	1,89		2,05		1,94		1,90	
Odstávka		6								
6. etapa	42. – 47. týden	5	1,89		2,05		1,94		1,90	

Parametry na odtoku byly stanovovány v týdenních intervalech a také 4 dny po odstávce, takže v prvním týdnu po odstávce byly provedeny dva odběry (kromě BSK_5 , které bylo stanoveno vždy pouze v týdenních intervalech). Uvedeny jsou výsledky od 3. týdne po zprovoznění bioreaktoru, po jeho alespoň částečném zaběhnutí.

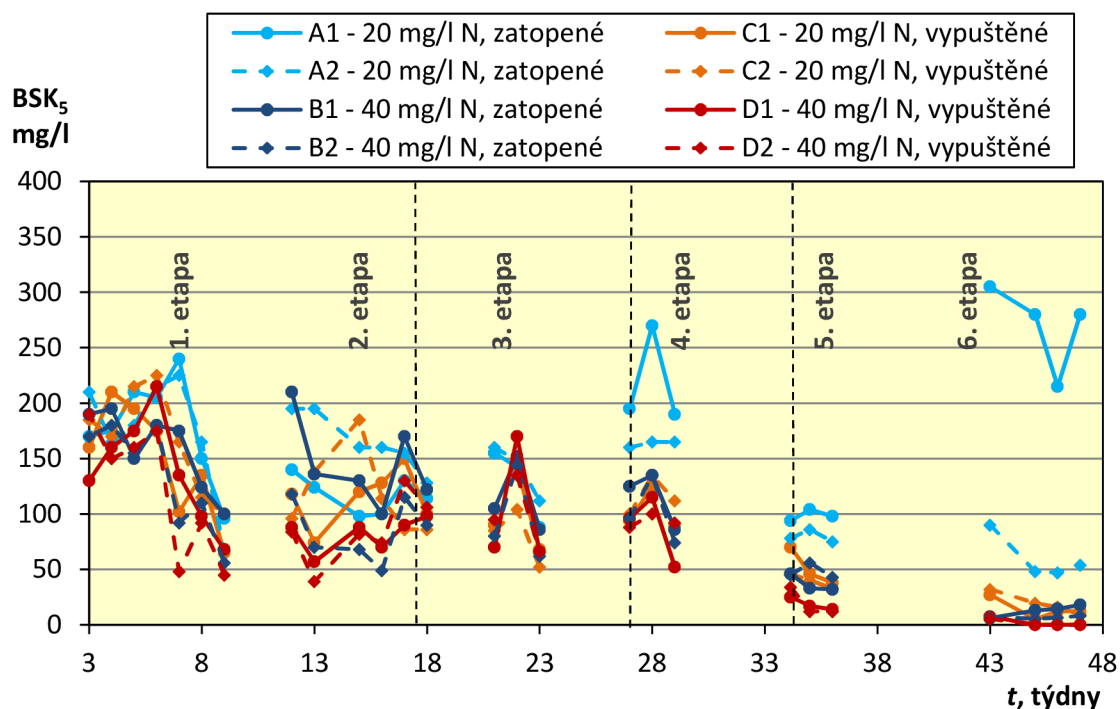
5.4.1 Vliv způsobu odstávky na vyluhování látek z náplně

Po odstávce, podobně jako u náběhu bioreaktoru, jsou očekávány zvýšené koncentrace vyluhovaných látek a jejich pozvolné snižování až na ustálenou hodnotu, i když oproti náběhu bioreaktoru by koncentrace měly být nižší. U kolon vypuštěných během odstávky se přepokládá rychlejší mikrobiální rozklad náplně z důvodu vyšší koncentrace O_2 , a tedy vyšší uvolňování látek, pokud naopak nedojde k nedostatku vlhkosti pro rozklad (Bärlocher & Boddy, 2016).

Koncentrace $CHSK_{Cr}$ a BSK_5 na odtoku z kolon (Obr. 5.4.1 a 5.4.2) byly u všech kolon po celou dobu experimentu vzájemně velmi obdobné. Všechny kolony vykazovaly po opětovném naběhnutí po odstávce vyšší hodnoty na odtoku a poté se hodnoty snižovaly a ustalovaly. Zvýšení koncentrací po odstávce však nebylo výrazné.



Obr. 5.4.1. Vývoj $CHSK_{Cr}$ na odtoku z kolon mezi odstávkami a změny průtoku (čárkovaně)



Obr. 5.4.2. Vývoj BSK₅ na odtoku z kolon mezi odstávkami a změny průtoku (čárkované)

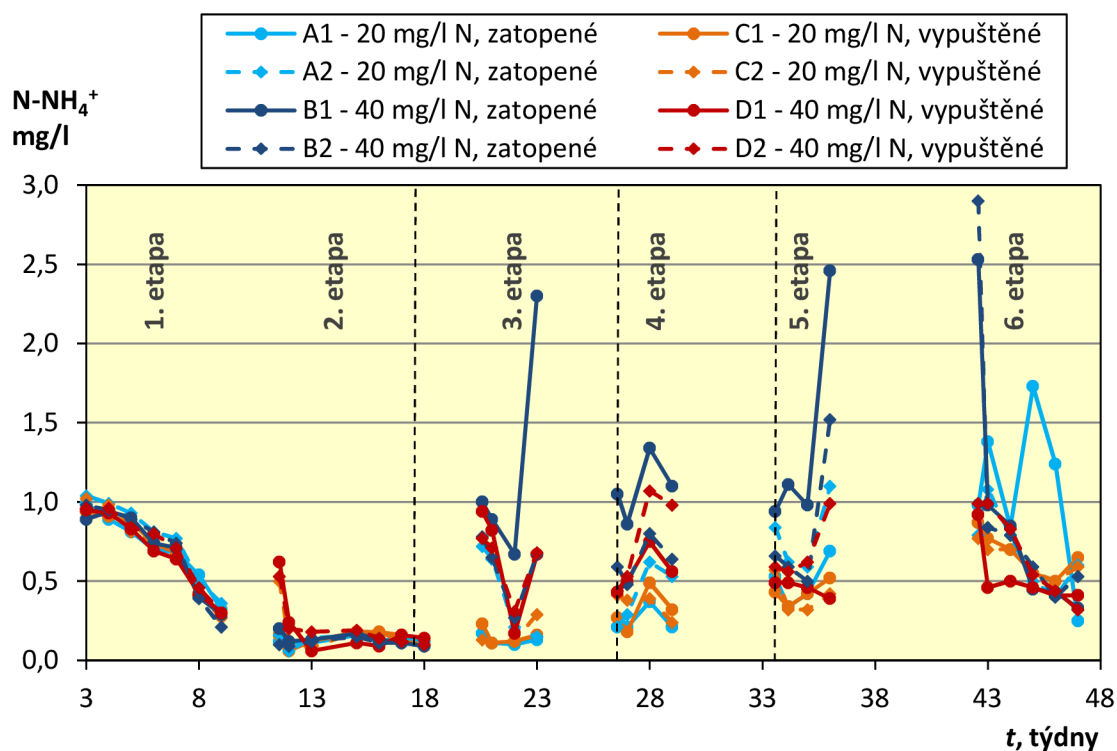
K ustálení koncentrací CHSK_{Cr} a BSK₅ na odtoku došlo po 3 až 4 týdnech po odstávkách (což je patrné zejména u 2., 5. a 6. etapy.). Ustálené hodnoty se postupně s dalšími etapami a zvyšujícím se stářím kolon snižovaly – CHSK_{Cr} od 100–250 mg/l ve 2. etapě k hodnotám nižším než 20 mg/l v 6. etapě; BSK₅ od 50–180 mg/l ve 2. etapě k hodnotám nižším než 10 mg/l v 6. etapě.

Z výsledků je patrný mírný nárůst koncentrace CHSK_{Cr} i BSK₅ na odtoku v 2. etapě a mírně vyšší hodnoty ve 3. a 4. etapě oproti předpokládanému stálému snižování koncentrací. Tento nárůst byl způsoben zvýšením teploty, kterému je věnována pozornost dále v kapitole 5.5.3.

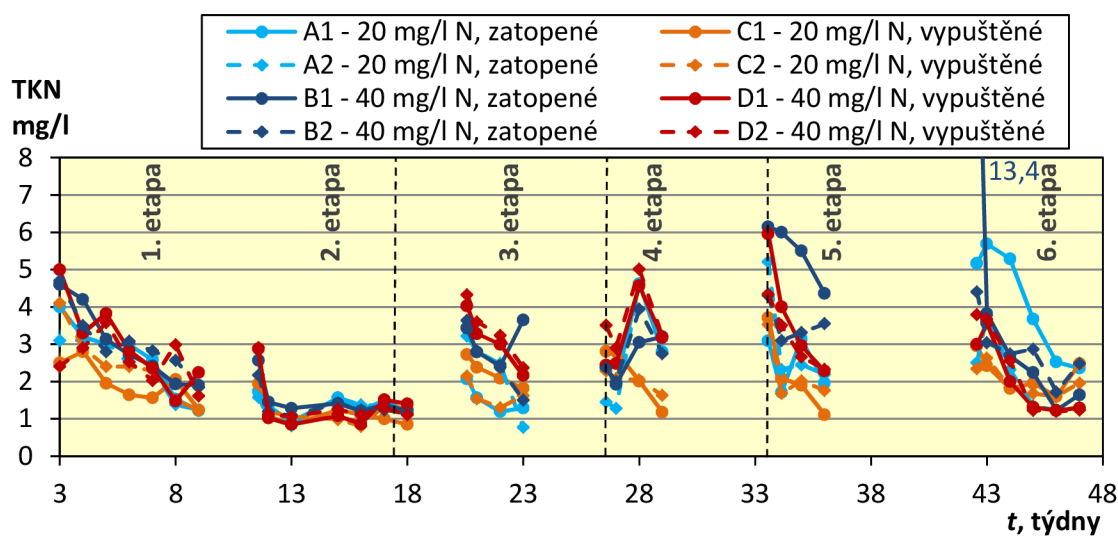
Výjimkou byla kolona A1, která měla odchýlené hodnoty od ostatních kolon, zejména v etapách 4 a 6 a částečně i v 5. etapě. Vyšší koncentrace u kolony A1 mohly být způsobeny vznikem privilegované cesty v náplni kolony, kdy dochází ke kratšímu kontaktu protékající vody s náplní. U této kolony byla také pozorována nižší účinnost denitrifikace (viz dále), během které jsou organické látky částečně spotřebovávány.

Koncentrace N-NH₄⁺ a TKN na odtoku z kolon (Obr. 5.4.3 a 5.4.4) byly v prvních dvou etapách u všech kolon téměř shodné a docházelo ke snižování koncentrací. Ve 3., 4. a 5. etapě byly mírně vyšší koncentrace u kolon B a D se vstupní koncentrací N-NO₃⁻

40 mg/l. V 6. etapě byly několikanásobně větší hodnoty u kolon B 4 dny po opětovném zprovoznění kolon (2,5 mg/l N-NH₄⁺ a 13,4 mg/l TKN), které se poté opět snížily na hodnoty jako ostatní kolony. Koncentrace u kolony A1 byly v poslední etapě mírně vyšší a poněkud rozkolísané.



Obr. 5.4.3. Vývoj N-NH na odtoku z kolon mezi odstávkami a změny průtoku (čárkovaně)



Obr. 5.4.4. Vývoj TKN na odtoku z kolon mezi odstávkami a změny průtoku (čárkovaně)

Ustálené koncentrace N-NH_4^+ a TKN se ve 2. etapě snížily na minimum (okolo 0,1 mg/l N-NH_4^+ a 1,0 mg/l TKN) a u dalších etap mírně narůstaly (okolo 0,5 mg/l N-NH_4^+ a 1,5–2 mg/l TKN v 6. etapě). Nárůst N-NH_4^+ (který je také součástí hodnoty TKN) mohl být způsoben částečnou redukcí NO_3^- na NH_4^+ místo požadované redukce na N_2 (Pitter, 2015). Podobný efekt pozorovali u kolon Gibert *et al.* (2008), kteří nárůst NH_4^+ připisují DNRA, která je v prostředí bohatém na organické látky konkurenčním procesem pro denitrifikaci. Tomu nasvědčuje i fakt, že nárůst obsahu NH_4^+ byl vyšší u kolon s vyšší vstupní koncentrací N-NO_3^- . Při srovnání s emisními standardy pro vypouštění odpadních vod (Nařízení vlády č. 401/2015 Sb.), kde se limitní koncentrace N-NH_4^+ pohybují v řádu desítek mg/l, se však stále jedná o téměř zanedbatelné koncentrace.

Množství vyluhovaných látek by mělo být závislé na HRT, tedy čím delší HRT, tím více vyluhovaných látek (Cameron & Schipper, 2010). V tomto experimentu se však závislost neprojevila, hodnoty byly velmi podobné, nebo hodnoty neodpovídaly průtokům. V prvních dvou etapách byla HRT u všech kolon nejvíce rozdílná (1,43–2,44 d), ale koncentrace vycházely téměř shodně, naopak v posledních třech etapách byla HRT u všech kolon téměř shodná (1,89–2,05 d) a koncentrace vycházely nejvíce odlišně (zejména N-NH_4^+ a TKN).

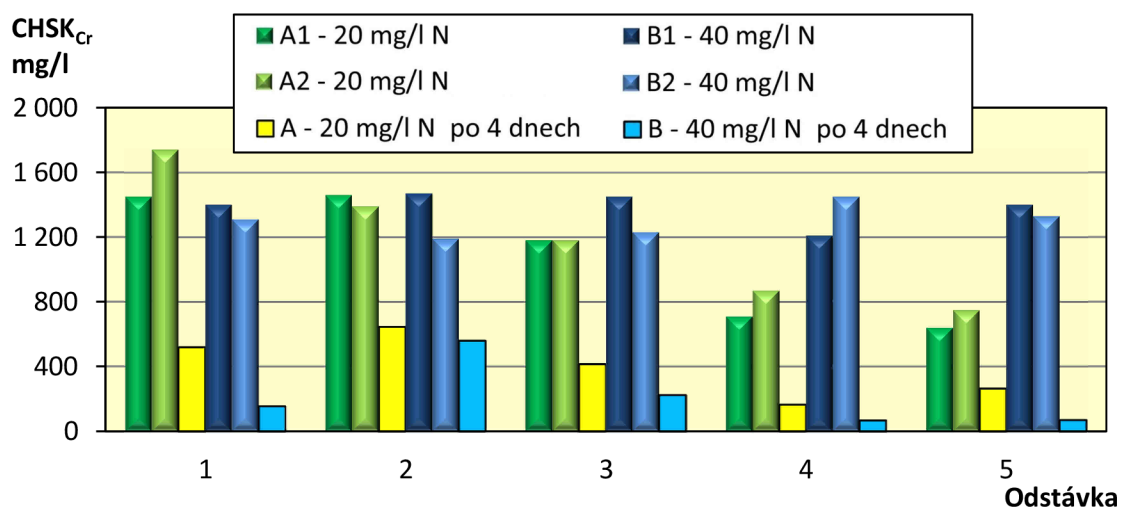
Z výsledků není patrný rozdíl mezi kolonami ponechanými během odstávek v zatopeném stavu a kolonami vypuštěnými. Vyšší hodnoty CHSK_C a BSK_5 u kolony A1 byly nejspíše způsobeny vznikem privilegované cesty, nebo nehomogenním materiálem, protože se jedná o zatopenou kolonu, u které je očekáváno vyluhování nižší než u kolon nezatopených.

Patrný není ani vliv délky odstávky, kdy by se při delší odstávce mohlo zvýšit počáteční vyluhování. Dle výsledků se však zdá, že výraznější vliv než délka odstávky má stáří kolony. Se stářím kolony dochází ke snižování koncentrace vyluhovaných látek a v tomto případě také namnožení bakterií schopných DNRA. Pro podrobnější zjištění vlivu délek odstávek by bylo dobré provést další sadu experimentů se shodnými kolonami stejného stáří, kde by byl tento vliv eliminován.

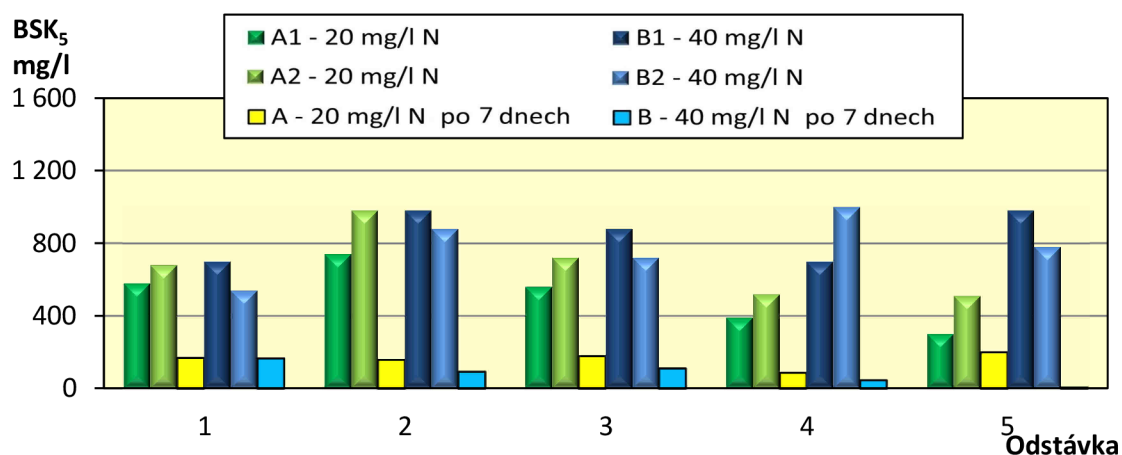
5.4.2 Kvalita vody stagnující v zatopené koloně

Voda stagnující v bioreaktoru během odstávky může být problémem, z důvodu vysokých koncentrací vyluhovaných látek. Parametry vody stagnující v zatopených kolonách byly stanoveny na konci každé odstávky (jednalo se o 4 kolony). Grafy na Obr. 5.4.5–5.4.8 uvádí parametry vody stagnující v kolonách na konci odstávky a průměr prvních stanovených koncentrací na odtoku po opětovném zprovoznění. Průměr je zde uveden pro názornost snížení koncentrací po odstávce, hodnoty na odtoku z jednotlivých kolon jsou uvedeny v předešlých grafech.

Obsah $CHSK_{Cr}$ a BSK_5 ve stagnující vodě a jeho srovnání s následujícím měřením vody odtékající z kolon již za běžného provozu (po 4 dnech provozu v případě $CHSK_{Cr}$ a po 7 dnech v případě BSK_5) je uveden na Obr. 5.4.5 a 5.4.6. Koncentrace organických ve stagnující vodě významně převyšovaly hodnoty naměřené po 4/7 dnech. Stagnující voda v kolonách A1 a A2 (vstupní koncentrace 20 mg/l $N-NO_3^-$) vykazovala snižující se koncentrace $CHSK_{Cr}$ s každou odstávkou od hodnot zhruba 1 500 mg/l až k 600 mg/l. Hodnoty BSK_5 měly také snižující se tendenci, s maximem po 2. odstávce (980 mg/l) a minimem při odstávce poslední (300 mg/l). Stagnující voda v kolonách B1 a B2 (vstupní koncentrace 40 mg/l $N-NO_3^-$) měla během všech odstávek velmi podobné koncentrace $CHSK_{Cr}$ (mezi 1 470 mg/l a 1 190 mg/l). Hodnoty BSK_5 také vycházely podobně a nebyl u nich patrný žádný výrazný trend (mezi 540 a 1 000 mg/l). U kolon B byl během provozu pokles $CHSK_{Cr}$ a BSK_5 v čase mnohem výraznější, přesto se koncentrace ve stagnující vodě držela na podobné úrovni, na rozdíl od kolon A.

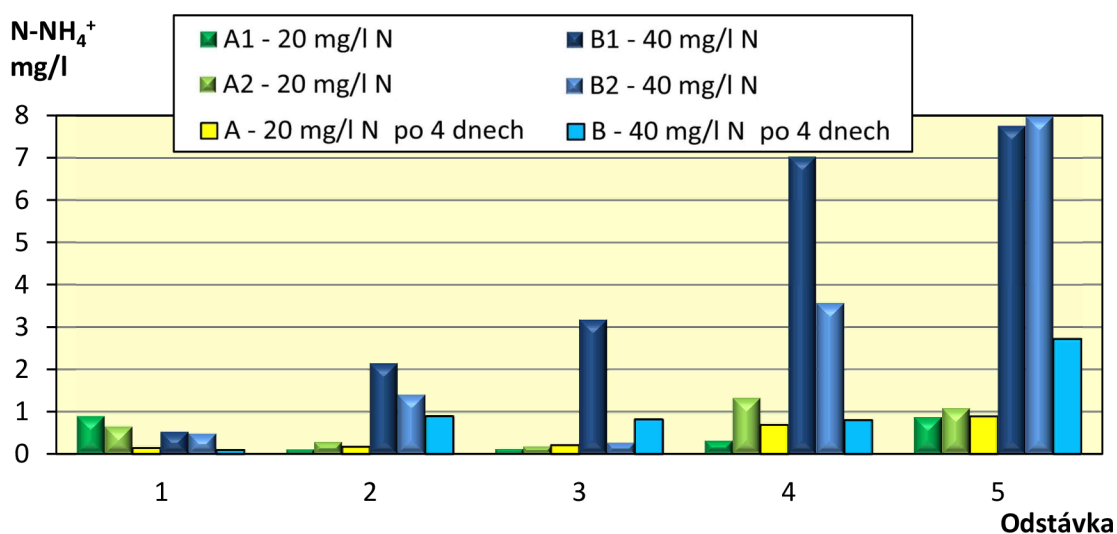


Obr. 5.4.5. Koncentrace $CHSK_{Cr}$ ve vodě stagnující v koloně na konci odstávky a průměrná koncentrace na odtoku z kolon po 4 dnech

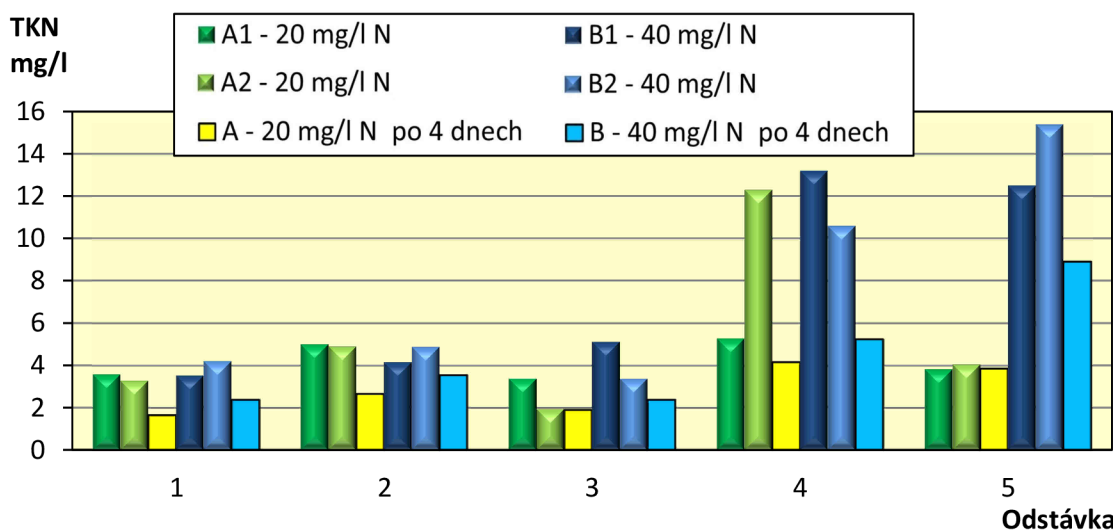


Obr. 5.4.6. Koncentrace BSK₅ ve vodě stagnující v koloně na konci odstávky a průměrná koncentrace na odtoku z kolon po 7 dnech

Koncentrace N-NH₄⁺ a TKN ve stagnující vodě byly vyšší než koncentrace na odtoku po 4 dnech provozu (Obr. 5.4.7 a 5.4.8). Nejvyšší hodnoty byly naměřeny u kolon B1 a B2, které měly vzrůstající trend, od hodnot okolo 0,5 mg/l N-NH₄⁺ a 4,0 mg/l TKN při 1. odstávce až k hodnotám téměř 8,0 mg/l N-NH₄⁺ a zhruba 15,0 mg/l TKN při poslední odstávce. Hodnoty N-NH₄⁺ a TKN ve stagnující vodě u kolon A1 a A2 byly během všech odstávek podobné (mezi 0,1 a 1,3 N-NH₄⁺ a 1,9 a 5,0 TKN), výjimkou byla vyšší koncentrace TKN u kolony A2 při 4. odstávce (12,3 mg/l). Zvyšující se koncentrace mohly být způsobeny DNRA. Vyšší hodnoty N-NH₄⁺ (a současně i TKN) pozorované u kolon B korespondují s vyššími hodnotami N-NH₄⁺ sledovanými také při běžném provozu (viz výše).



Obr. 5.4.7. Koncentrace N-NH₄⁺ ve vodě stagnující v koloně na konci odstávky a průměrná koncentrace na odtoku z kolon po 4 dnech

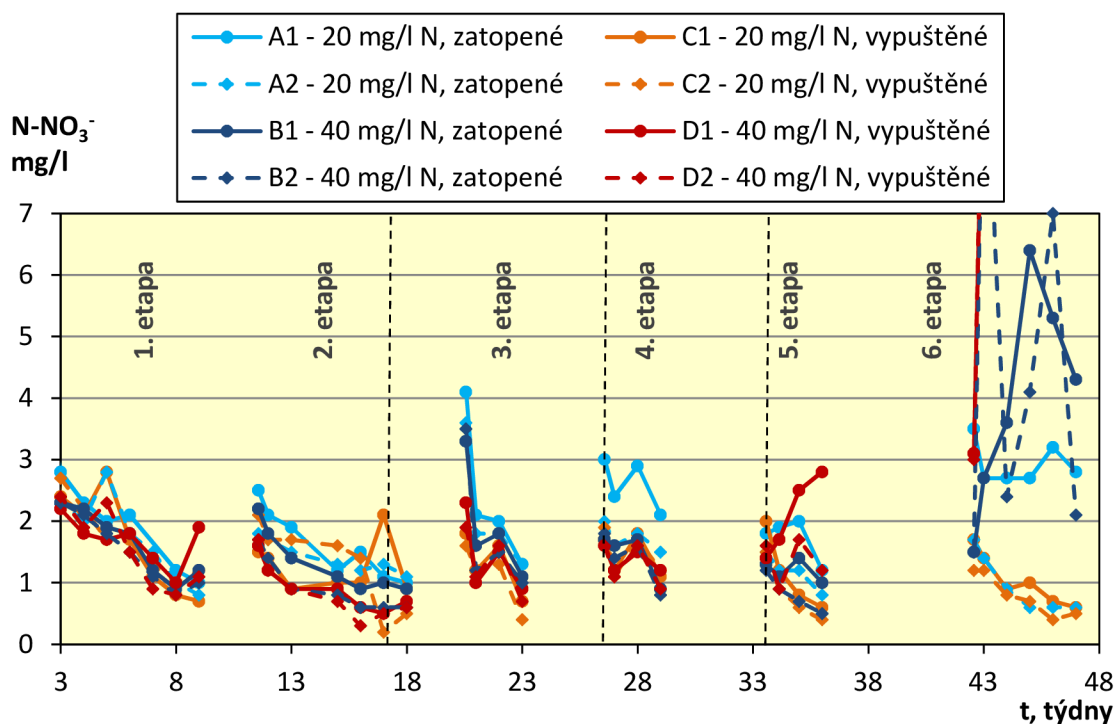


Obr. 5.4.8. Koncentrace TKN ve vodě stagnující v koloně na konci odstávky a průměrná koncentrace na odtoku z kolon po 4 dnech

Objem vody stagnující v koloně je však malý, v porovnání s běžným průtokem, takže je nízké i znečištění vnášené do recipientu. Pokud bychom brali v úvahu vyluhování během prvních čtyř etap, kde se nejnižší koncentrace vyluhovaných látek pohybovaly okolo 100 mg/l $CHSK_{Cr}$ a 50 mg/l BSK_5 , tak by se z kolon v závislosti na průtoku vyluhovaly 1-2 g $CHSK_{Cr}$ a 0,5–1 g BSK_5 za týden. V případě vody stagnující v koloně, jejíž složení ovlivňují i biochemické procesy během odstávky, to však bylo pouze max. 0,9 g $CHSK_{Cr}$ a 0,5 g BSK_5 za týden. Vyluhování látek během odstávky tedy nezvyšuje celkové množství vyluhovaných látek, které by se uvolnilo, kdyby k odstávce nedošlo, naopak množství je nižší. Dochází pouze ke zvýšení koncentrací po opětovném zprovoznění bioreaktoru (viz výše). V tomto případě také z důvodu možnosti srovnání různého způsobu odstávek byla stagnující voda vypuštěna jednorázově, ale u reálných bioreaktorů by bylo vypouštění spíše pozvolné, což by ještě více zmírnilo vliv na recipient.

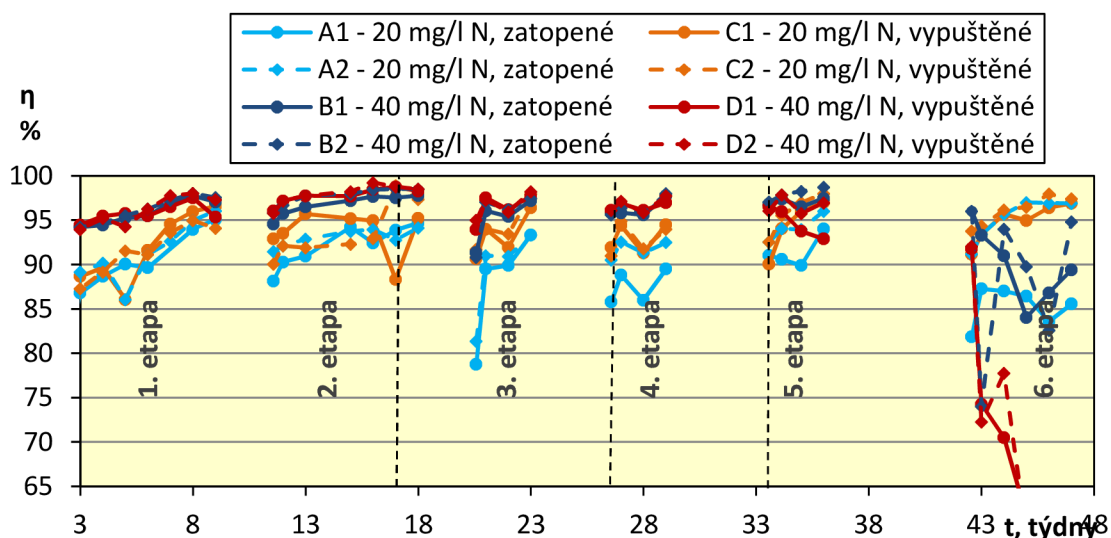
5.4.3 Vliv způsobu odstávky na parametry denitrifikace

Koncentrace $N-NO_3^-$ na odtoku z kolon (Obr. 5.4.9) se po každé odstávce mírně zvýšila (obvykle 1,5–2,5 mg/l) a poté se opět snižovala na zhruba stejnou ustálenou hodnotu (zhruba mezi 0,5 a 1,2 mg/l). Z výsledků není patrný vliv délky ani způsobu odstávky na koncentraci $N-NO_3^-$ na odtoku. Koncentrace se přibývajícím stářím kolony pohybovaly zhruba na stejných hodnotách. Odlišná byla 6. etapa, kdy byly u kolony A1 zjištěny vyšší výrazně vyšší koncentrace $N-NO_3^-$ na odtoku a u kolon B a D byly koncentrace vysoké a značně rozkolísané.



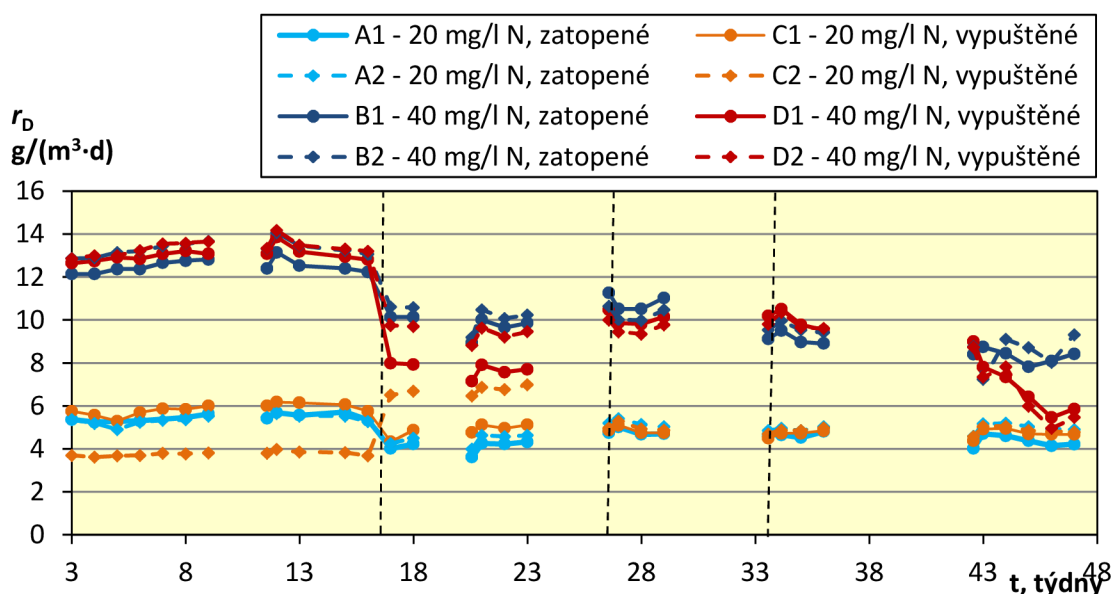
Obr. 5.4.9. Vývoj $N-NO_3^-$ na odtoku z kolon mezi odstávkami a změny průtoku (čárkovaně)

Analogicky vychází i účinnost denitrifikace (Obr. 5.4.10), která je vždy po odstávce nižší a postupně se zvyšuje k ustáleným hodnotám. U účinnosti jsou však patrné vyšší hodnoty u kolon s koncentrací 40 mg/l $N-NO_3^-$ na přítoku. Účinnost denitrifikace byla obvykle vyšší než 90 %, v případě kolon s vyšší vstupní koncentrací vyšší než 95 %. Kolona A1 má opět od 4. etapy odlehlejší hodnoty s nižší účinností než ostatní kolony a v 6. etapě jsou také hodnoty rozkolísané u kolon B a D, tedy u kolon s vyšší koncentrací $N-NO_3^-$ na vstupu. Vliv HRT na účinnost denitrifikace se neprojevil. Nebyl patrný ani vliv způsobu odstávek.



Obr. 5.4.10. Vývoj účinnosti denitrifikace mezi odstávkami a změny průtoku (čárkovaně)

Denitrifikační rychlost (Obr. 5.4.11) má největší návaznost na průtok daných kolon. U kolon s kratší HRT vychází denitrifikační rychlosti vyšší, než u obdobných kolon s delší HRT (Schrimpelová *et al.*, 2018b). Patrně zejména na kolonách C1 a C2 v 2. etapě, kdy došlo u kolony C1 k prodloužení HRT z 1,59 na 1,79 d a u kolony C2 ke zkrácení HRT z 2,44 na 1,33 d. Výrazně vyšší denitrifikační rychlost byla zjištěna u kolon se vstupní koncentrací 40 mg/l $N-NO_3^-$ (kolony B a D), které měly denitrifikační rychlost před první změnou průtoku 12–14 $g/(m^3 \cdot d)$ a poté okolo 10 $g/(m^3 \cdot d)$ (až do 5. etapy). U kolon se vstupní koncentrací 20 mg/l $N-NO_3^-$ (A a C) se denitrifikační rychlost po celou dobu pohybovala zhruba mezi 4 a 6 $g/(m^3 \cdot d)$. U kolon s nižší vstupní koncentrací $N-NO_3^-$ měla změna průtoku menší vliv.



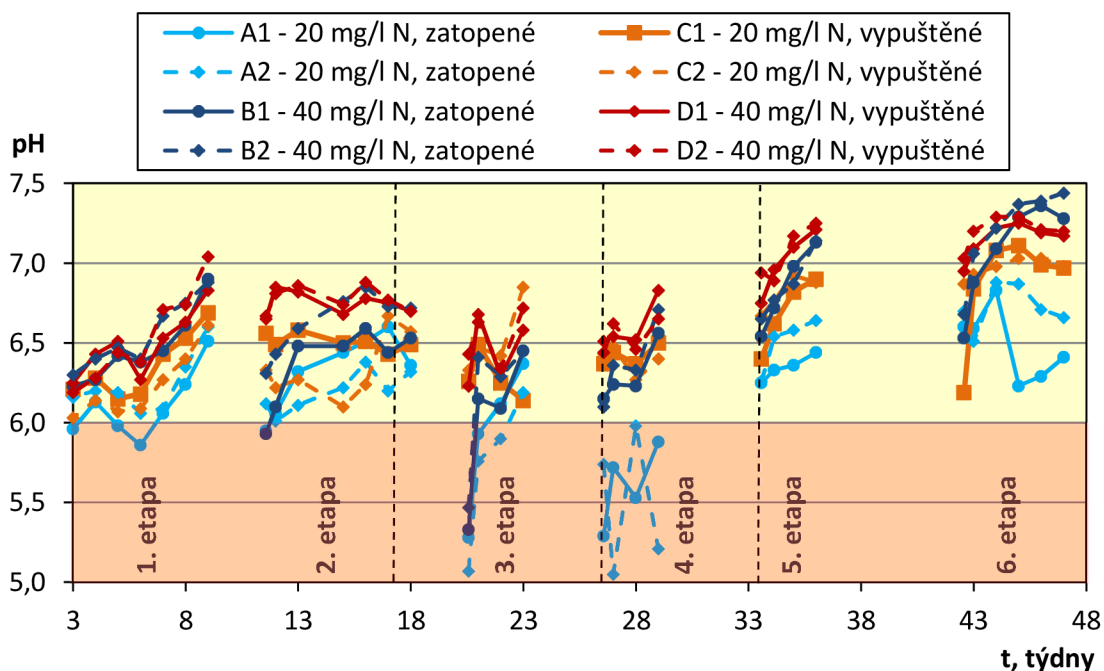
Obr. 5.4.11. Vývoj r_D mezi odstávkami a změny průtoku (čárkovaně)

Z výsledků je patrné narušení procesu denitrifikace v 6. etapě po nejdelší odstávce o délce 6 týdnů. To se projevilo u kolon B a D s vyšší vstupní koncentrací N-NO_3^- , u kterých docházelo ke zvyšování koncentrace N-NO_3^- na odtoku a snižování účinnosti denitrifikace a hodnoty byly velmi rozkolísané. Výrazné snížení rychlosti denitrifikace bylo pozorováno pouze u kolon D. U kolony D1 se odlišné chování projevilo již v 5. etapě, kdy místo snižování koncentrace N-NO_3^- po odstávce docházelo ke zvyšování.

Kromě délky odstavek mohlo stabilitu denitrifikace ovlivnit také stáří kolony. Na rozdíl od několikaletého provozu reálných denitrifikačních bioreaktorů (Moorman *et al.*, 2010; Long *et al.*, 2011), denitrifikační kolony našich rozměrů mají obvykle životnost zhruba jeden rok, jak bylo zjištěno v předešlých experimentech. Vypadá to však, že stabilita denitrifikace je tedy spíše závislá na vstupní koncentraci N-NO_3^- , než na způsobu odstavky.

5.4.4 Hodnota pH

Hodnota pH je dána acidobazickou rovnováhou, v případě kolon zejména dvěma protichůdnými ději – uvolňováním organických látek snižujícími pH a denitrifikací zvyšující pH. Tomu odpovídají i hodnoty pH na odtoku z kolon (Obr. 5.4.12), kdy s časem po odstávce klesá obsah organických látek (měřených jako CHSK_{Cr} a BSK_5) a roste účinnost denitrifikace a současně s tím také roste pH na odtoku. U kolon s vyšší účinností denitrifikace (kolony B a D s vyšší vstupní koncentrací N-NO_3^-) dle očekávání vykazovaly mírně vyšší hodnoty pH na odtoku. Nárůst pH se stářím kolony byl nejspíš způsoben snižujícími se koncentracemi vyluhovaných organických látek. Vliv způsobu a délky odstavek však pozorován nebyl. Hodnota pH se ve většině případů pohybovala v optimálním rozmezí 6–9 (Pitter, 2015). Pod touto hranicí se pohybovaly pouze kolony A ve 4. etapě.



Obr. 5.4.12. Vývoj pH na odtoku z kolon mezi odstávkami s vyznačením optima (6 až 9) a změny průtoku (čárkovaně)

5.4.5 Shrnutí

Při dlouhodobějším provozu denitrifikačních kolon s odstávkami bylo pozorováno snižování koncentrace CHSK_{Cr} a BSK_5 na odtoku korespondující se stářím kolony. U N-NH_4^+ a TKN se po počátečním snižování koncentrací (po 18 týdnech provozu a dvou odstávkách) začal projevovat pozvolný nárůst. Ten mohl být způsoben DNRA. Na odtoku se projevilo provádění odstávek nárůstem koncentrací látek vyluhovaných z náplně, které se následně opět snížily. Nebyl však patrný rozdíl mezi testovanými způsoby odstávky (zatopené nebo vypuštěné bioreaktory během odstávky) ani její délkou. Vyluhování nebylo zdatelně ovlivněno ani délkou HRT.

U vody stagnující v zatopených kolonách na konci odstávky byly pozorovány vyšší koncentrace látek u kolon vyšší vstupní koncentrací N-NO_3^- . Objem vody stagnující v bioreaktoru je však malý v porovnání s běžným průtokem, takže vliv této vody na recipient není výrazný.

Dle sledovaných parametrů denitrifikace nebyl patrný vliv způsobu provádění odstávek ani jejich délky. Všechny kolony měly podobné velmi nízké koncentrace N-NO_3^- na odtoku nezávisle na vstupní koncentraci N-NO_3^- . Po odstávce vždy došlo k mírnému zvýšení koncentrací, ale v dlouhodobém měříku se koncentrace pohybovaly

v podobných hodnotách. Obdobně také účinnost denitrifikace, která se vždy po odstávce mírně snížila. Rychlost denitrifikace nebyla odstávkami výrazně narušena a byla spíše závislá na HRT a vstupní koncentraci N-NO_3^- .

Po poslední šestitýdenní odstávce došlo k narušení denitrifikace u kolon s vyšší vstupní koncentrací N-NO_3^- , které však mohlo být způsobeno značným stářím kolony, která se blížila ke konci své životnosti.

Hodnota pH na odtoku kolon byla výrazně ovlivněna účinností denitrifikace a koncentrací organických látek na odtoku. Vliv způsobu a délky odstávek však pozorován nebyl.

5.5 Vliv provozních parametrů

Provozní parametry denitrifikačních bioreaktorů – HRT, vstupní koncentrace N-NO_3^- a teplota; jsou v reálných podmínkách velmi závislé na srážkách a celkovému klimatu oblasti. Lze je ovlivnit pouze částečně některými stavebními opatřeními, např. ovlivnění HRT návrhem velikosti bioreaktoru, případně vybudováním obtoku pro převedení větších průtoků.

Vliv provozních parametrů na vyluhování i denitrifikaci již byl částečně zmíněn u předchozích výsledků. Dále jsou uvedeny vybrané výsledky z testů na denitrifikačních kolonách, u kterých převažoval vliv jednoho provozního parametru. V rámci laboratorních experimentů byly (i v předešlých experimentech) testovány provozní parametry, ke kterým může v našich podmínkách běžně docházet.

5.5.1 Vliv délky HRT

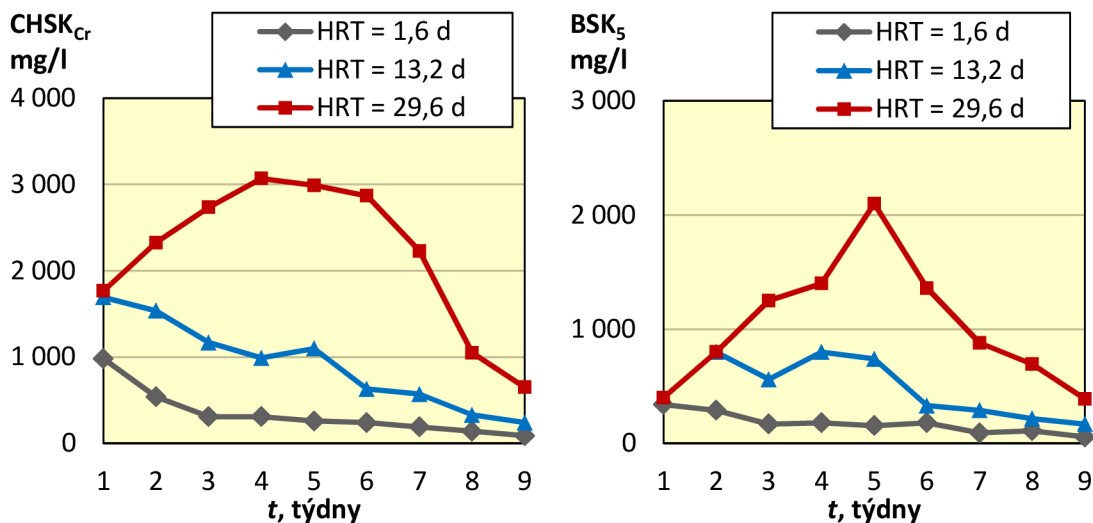
Vliv délky HRT byl testován na třech kolonách naplněných topolovou štěpkou. Parametry náplně a provozní parametry jsou uvedeny v Tab. 5.5.1. Kolony se lišily zejména v HRT, které bylo 1,6, 13,2 a 29,6 d. Výsledky uvedené dále ukazují náběhovou fázi o délce 9 týdnů, kdy je vyluhování největší a dochází k náběhu denitrifikace.

Tab. 5.5.1. Parametry náplně a provozní parametry denitrifikačních kolon s různou HRT

	HRT 1,6 d	HRT 13,2 d	HRT 29,6 d
Materiál náplně	Topolová štěpka		
Pórovitost, %	53,5	76,1	76,1
Výška náplně, m	0,86	0,91	0,91
Objem náplně, m³	0,061	0,064	0,064
Q, l/d	20,90	3,72	1,65
HRT, d	1,6	13,2	29,6
Teplota, °C	18	16,5→9,4	16,5→9,4
N-NO₃⁻ na vstupu, mg/l	42±2	36±3	36±3

Pozn.: U kolony s HRT 1,6 d byl použit mírně odlišný materiál než u dalších dvou kolon s nižší pórovitostí a tato kolona byla provozována v jiném čase. U kolon s HRT 13,2 a 29,6 d byla v 6. týdnu snížena teplota.

Koncentrace $CHSK_{Cr}$ a BSK_5 na odtoku kolon s různě dlouhou HRT (Obr. 5.5.1) ukazují významný vliv délky HRT na vyluhování organických látek. U kolon s krátkou HRT (a tedy velkým průtokem) je vyluhování v náběhové fázi výrazně nižší než u kolon s dlouhou HRT. Na konci náběhové fáze se rozdíl mezi kolonami s různou HRT zmenšují, takže by po úplném ustálení hodnot mohl být rozdíl malý.



Obr. 5.5.1. Vývoj $CHSK_{Cr}$ a BSK_5 na odtoku z kolon s různou HRT

Na průběh vyluhování mohlo mít vliv i snížení teploty ze 16,5 na 9,4 °C v 6. týdnu u kolon s HRT 13,2 a 29,6 d, které by mělo vyluhování zmírnit, ale v tomto případě nelze přímo odlišit vliv teploty a úbytek vyluhovaných látek v závislosti na délce provozu. Vliv mohla mít také jiná pórovitost náplně u kolony s HRT 1,6 d, u které by bylo z důvodu nižší pórovitosti předpokládáno vyšší vyluhování. Vyluhování však bylo stále nižší než u dalších dvou kolon.

U HRT 29,6 d je patrný nejprve nárůst koncentrace vyluhovaných látek a po 4 až 5 týdnech její snižování. To bylo nejspíše způsobeno velmi dlouhou HRT, která byla delší než interval mezi odběry, takže skutečná HRT byla dosažena až po 29,6 d (4,2 týdnech). Tato HRT je však už velmi dlouhá, obvykle se HRT pohybuje v řádu hodin, nebo jednotek dní (Hoover *et al.*, 2016).

Dle celkového vyluhování organických látek ve formě $CHSK_{Cr}$ a BSK_5 za prvních 9 týdnů provozu (Tab. 5.5.2) je patrné vyluhování největšího celkového množství $CHSK_{Cr}$ a BSK_5 u kolony s HRT 1,6 d, i přestože na odtoku byly jejich koncentrace nejnižší (viz výše). Je tedy důležité brát v potaz nejen koncentrace na odtoku, ale také

celkové vyluhování organických látek, které může nepříznivě ovlivňovat recipient. Celkové vyluhování $CHSK_{Cr}$ a BSK_5 bylo u kolon s HRT 13,2 a 29,6 d velmi podobné, Odlišnost od kolony s HRT 1,6 d mohla být způsoben i použitím mírně odlišného materiálu s jinou pórovitostí.

Tab. 5.5.2. Celkové vyluhování organických látek za 9 týdnů

	HRT 1,6 d	HRT 13,2 d	HRT 29,6 d
Vyluhování $CHSK_{Cr}$ za 9 týdnů, g/m^3	7 334	3 361	3 553
Vyluhování BSK_5 za 9 týdnů, g/m^3	3 773	1 915 ¹⁾	1 674

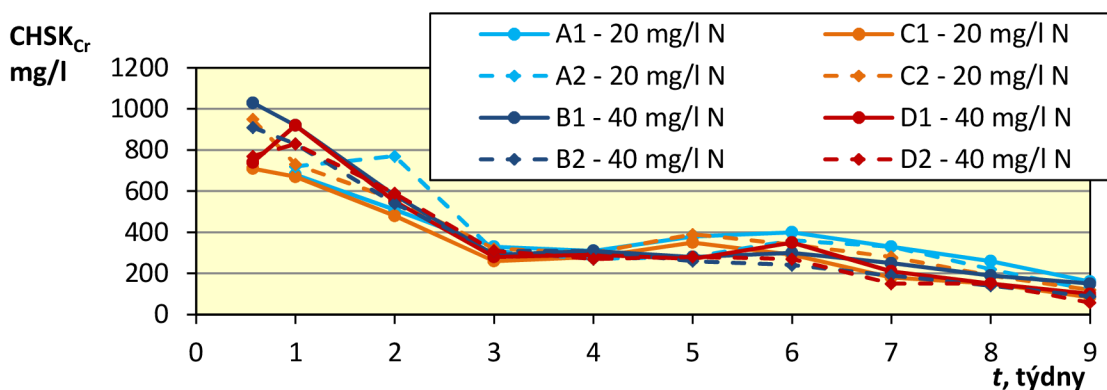
Pozn.: celkové vyluhování bylo vypočteno jako součet hmotnostních toků v jednotlivých týdnech vztažených na $1 m^3$ náplně.

¹⁾ V 1. týdnu byl uvažován stejný hmotnostní tok jako v 2. týdnu z důvodu chybějících dat.

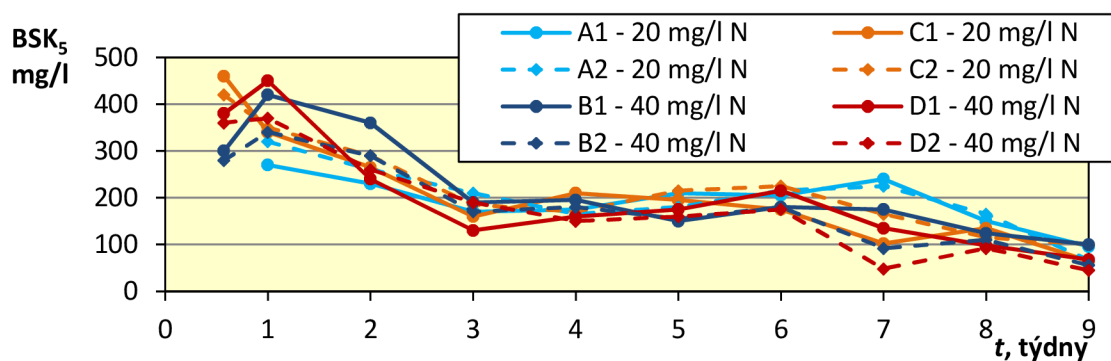
5.5.2 Vliv vstupní koncentrace dusičnanů

Vliv vstupní koncentrace $N-NO_3^-$ byl testován na osmi kolonách naplněných topolovou štěpkou uvedených v kapitole 5.4 (popis kolon v Tab. 5.4.1, 5.4.2 a 5.4.3). Testované vstupní koncentrace $N-NO_3^-$ byly 20 a 40 mg/l. U kolon byl mírný rozdíl v HRT – rozmezí 1,33 a 2,44 d. Dále jsou uvedeny také výsledky z náběhové fáze o délce 9 týdnů.

Koncentrace $CHSK_{Cr}$ a BSK_5 (Obr. 5.5.2 a 5.5.3) ukazují, že testované koncentrace $N-NO_3^-$ na přítoku nemají znatelný vliv na vyluhování organických látek v náběhové fázi bioreaktoru. Vliv nebyl pozorován ani při delším provozu kolon a provádění odstavek (kapitola 5.4.1). Avšak koncentrace $N-NH_4^+$ (a současně i TKN) na odtoku vykazovaly rozdíly v závislosti na vstupní koncentraci způsobené zřejmě DNRA, která byla vyšší u kolon s vyšší vstupní koncentrací $N-NO_3^-$ (viz kapitola 5.4.1). To se však projevilo až po více než 18 týdnech provozu.

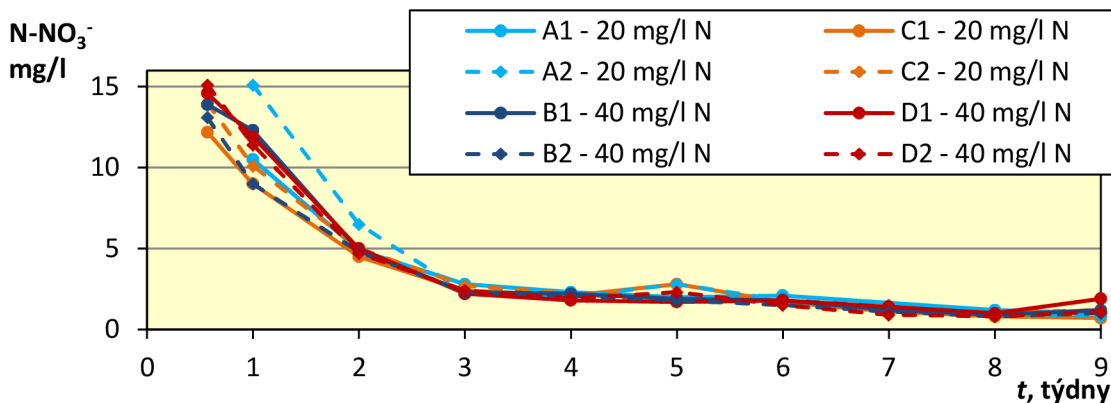


Obr. 5.5.2. Vývoj $CHSK_{Cr}$ na odtoku u kolon s různou vstupní koncentrací $N-NO_3^-$

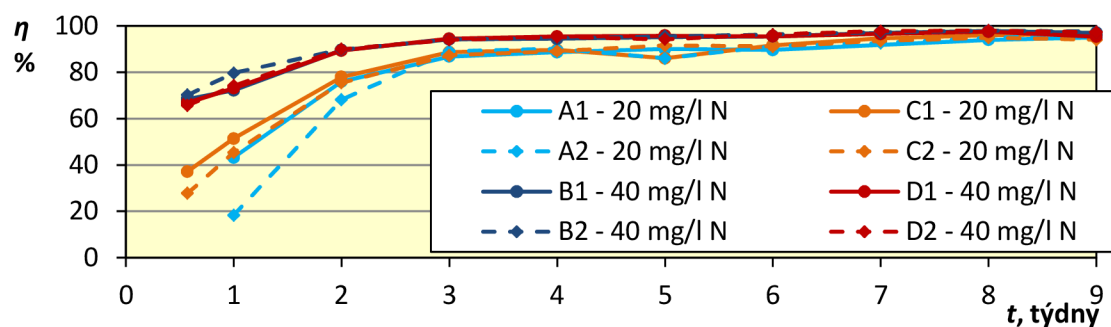


Obr. 5.5.3. Vývoj BSK₅ na odtoku u kolon s různou vstupní koncentrací N-NO₃⁻

Koncentrace N-NO₃⁻ na odtoku (Obr 5.5.4) byly v náběhové fázi u všech kolon obdobné, nezávisle na koncentraci na přítoku. Rozdíly se projevily u účinnosti denitrifikace a denitrifikační rychlosti. Účinnost denitrifikace (Obr. 5.5.5) vykazovala největší rozdíl na začátku provozu, kdy u vstupní koncentrace 20 mg/l byla účinnost téměř poloviční oproti koncentraci 20 mg/l. Po 9 týdnech provozu se rozdíly téměř vyrovnaly, i když i nadále byla účinnost u kolon s nižší vstupní koncentrací N-NO₃⁻ mírně nižší (viz kapitola 5.4.3). U denitrifikační rychlosti vykazovaly nižší hodnoty kolony s nižší vstupní koncentrací N-NO₃⁻, ale rychlost denitrifikace byla ovlivněna průtokem (viz kapitola 5.4.3).



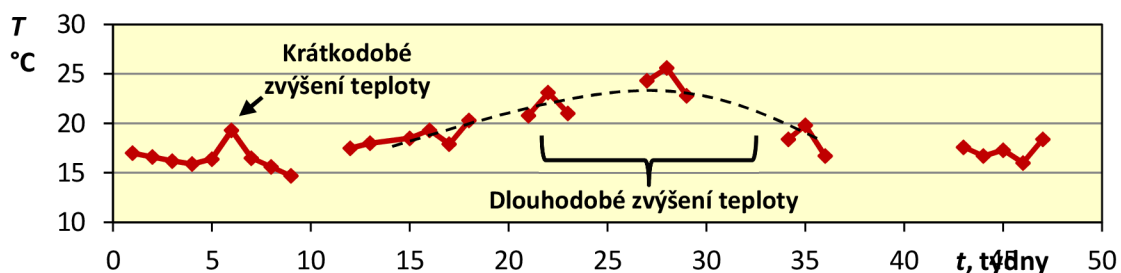
Obr. 5.5.4. Vývoj N-NO₃⁻ na odtoku u kolon s různou vstupní koncentrací N-NO₃⁻



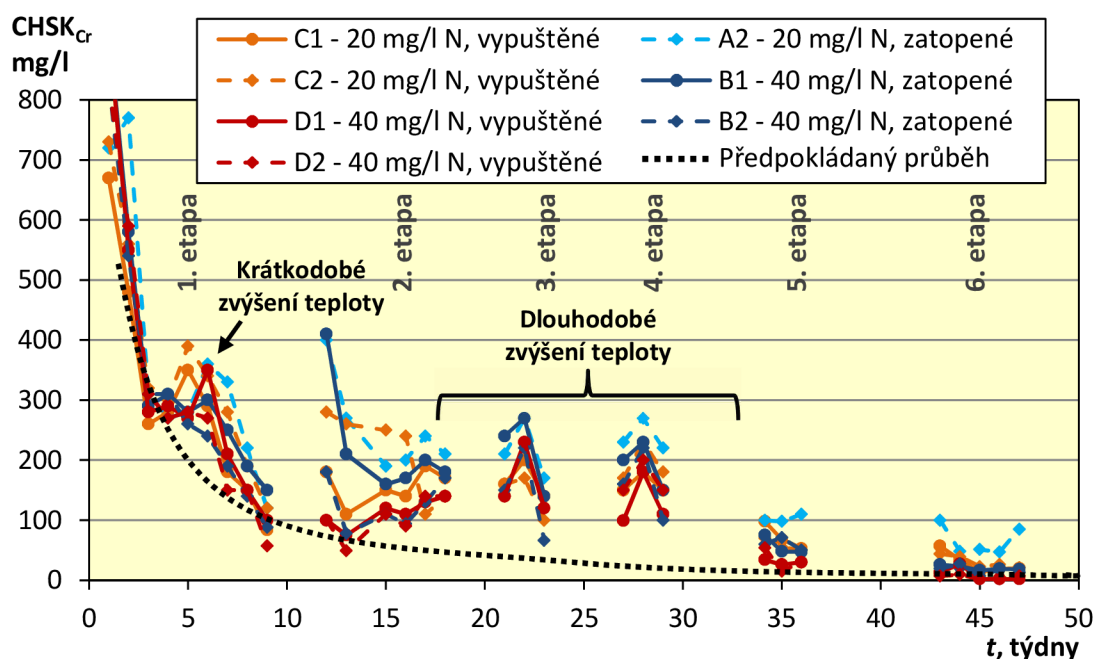
Obr. 5.5.5. Vývoj účinnosti denitrifikace u kolon s různou vstupní koncentrací N-NO₃⁻

5.5.3 Vliv teploty

Vliv teploty na vyluhování látek z náplně byl pozorován na kolonách uvedených v kapitole 5.4. Dle výsledků průběh teploty během provozu kolon (Obr. 5.5.6) ztelně ovlivňuje koncentrace $CHSK_{Cr}$ a BSK_5 na odtoku z kolon. Na Obr. 5.5.7 jsou uvedeny hodnoty $CHSK_{Cr}$ na odtoku z kolon po celou dobu provozu a předpokládaný průběh úbytku $CHSK_{Cr}$ na odtoku. Největší vliv se projevil mezi 15. a 35. týdnem provozu (2.–5. etapa) kdy došlo k pozvolnému zvýšení teploty a které mělo za následek zvýšení $CHSK_{Cr}$. Obdobně byly zvýšeny také hodnoty BSK_5 (viz kapitola 5.4.1). Nárůst teploty o 5–10 °C (z původních 15–16 °C na 21–28 °C) měl za následek zvýšení koncentrace $CHSK_{Cr}$ o zhruba 100–250 mg/l a BSK_5 o zhruba 50–150 mg/l. Jedná se tedy o více než dvojnásobné koncentrace, než které byly očekávány. Patrný nárůst $CHSK_{Cr}$ a BSK_5 byl také např. v 6. týdnu provozu, kdy došlo ke krátkodobému zvýšení teploty o 3 °C. Zjištění koresponduje s předpokladem vyšší mikrobiální činnosti a tedy i rychlejšího rozkladu náplně za vyšších teplot, což zmiňovali také Cameron & Schipper (2010).

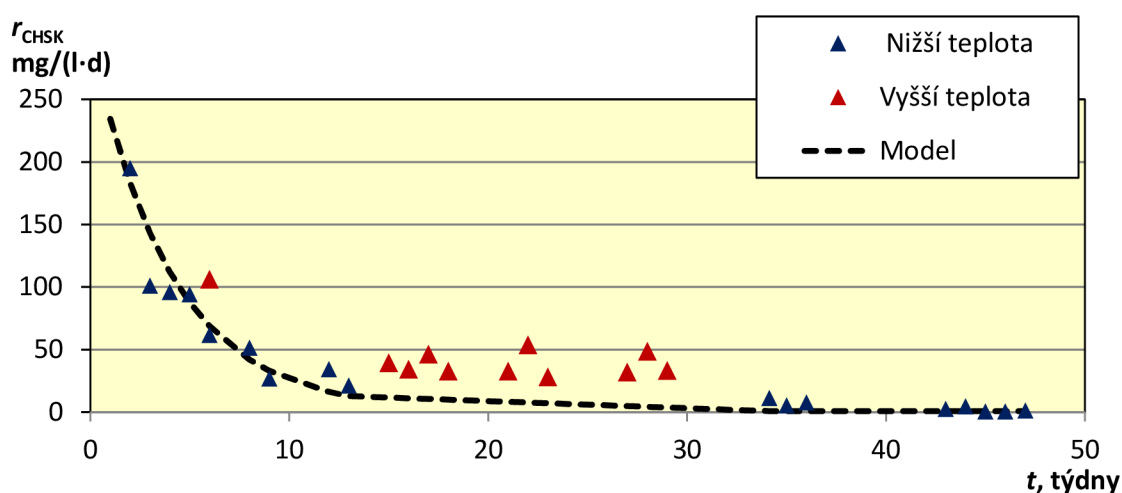


Obr. 5.5.6. Průběh teploty během provozu kolon



Obr. 5.5.7. Vývoj $CHSK_{Cr}$ na odtoku z kolon při změně teploty

Vliv zvýšení teploty na vyluhování látek je také patrný na Obr. 5.5.8, kde jsou uvedeny rychlosti vyluhování $CHSK_{Cr}$ u průměru z kolon D1 a D2 (tyto kolony byly vybrány jako reprezentativní). U rychlosti vyluhování je eliminován vliv změny HRT, takže by měl být patrný pouze vliv teploty. Dále byl sestaven model vyluhování pouze pro data s nižší teplotou. Je zde patrná odchylka dat naměřených za vyšších teplot od modelu. Mírně vyššími hodnotami projevil také vliv odstávek (zejména 12. a 13. týden na začátku 2. etapy), vliv teploty však byl i přesto výrazný.



Obr. 5.5.8. Rychlosti vyluhování $CHSK_{Cr}$ v čase – průměr z kolon D1 a D2 a modelový průběh bez vlivu teploty

5.5.4 Shrnutí

Bylo zjištěno, že délka HRT ovlivňuje vyluhování organických látek z náplně denitrifikačních kolon v náběhové fázi. Se zvyšující se délkou HRT byly naměřeny vyšší koncentrace $CHSK_{Cr}$ a BSK_5 . Výpočtem celkového vyluhovaného množství organických látek se však ukázalo, že u nejkratší HRT bylo vyluhování nejvyšší. Zkrácením HRT však může u materiálů s nízkým vyluhováním organických látek dojít k jejich vyčerpání a tím omezení denitrifikace. Hodnota HRT je sice ovlivněna samotným průtokem, který příliš ovlivnit nelze, ale je závislá také na navržených rozměrech bioreaktoru. Pro případ ojedinělých extrémních průtoků je také možné vybudování obtoku pro převedení přebytečných vod.

Nebyl zjištěn žádný výrazný vliv vstupní koncentrace $N-NO_3^-$ na vyluhování organických látek z náplně, i když při delším provozu dochází u vyšší vstupní koncentrace k většímu uvolňování $N-NH_4^+$, nejspíše způsobenému DNRA. Přestože

koncentrace N-NO_3^- na odtoku byla u obou testovaných vstupních koncentrací téměř shodná, účinnost denitrifikace byla vyšší u kolon s vyšší vstupní koncentrací, stejně tak i denitrifikační rychlost. Hlavním problémem na odtoku by tedy mohly být vyšší koncentrace N-NH_4^+ , které se však v tomto experimentu pohybovaly obvykle pouze do 1 mg/l.

Zvýšení teploty se projevilo vyššími koncentracemi organických látek na odtoku, což se projevilo i vyšší rychlostí vyluhování. Vlivu teploty by se dalo využít například zprovozněním bioreaktoru v zimním období, kdy nízké teploty sníží nežádoucí vyluhování organických látek z náplně.

5.6 Využití odtékajících vod pro zavlažování

I přes výběr vhodného materiálu náplně a optimalizaci náběhových parametrů (viz kapitoly 5.1, 5.2 a 5.4), koncentrace vyluhovaných látek na odtoku z denitrifikačního bioreaktoru mohou být stále příliš vysoké pro vypouštění do recipientu. Jednou z možností, jak chránit vodní ekosystém a splňovat požadavky pro vypouštění vod, by mohlo být využití odtékající vody na opětovnou závlahu odvodňované plochy. Vyluhování látek z náplně je největší v náběhové fázi, tedy v prvních týdnech provozu bioreaktoru, případně po odstávce, a je ovlivněno materiálem náplně a provozními parametry (viz kapitoly 5.3, 5.4 a 5.5). Proto by využití odtékajících vod pro závlahu mohlo probíhat pouze v prvních několika týdnech provozu, nebo po delší odstávce.

Pro zjištění možnosti použití vod z bioreaktoru na zavlažování byl zjišťován vliv dlouhodobější expozice *Raphanus sativus*, jako zástupce vyšších terestrických rostlin. Ekotoxikologický biotest byl proveden na základě metodiky uvedené v kapitole 4.5. Testovány byly statické 24h výluhy i voda odtékající z kolon.

Statické výluhy byly provedeny dle metodiky v kapitole 4.2 a byly v pravidelných intervalech připravovány čerstvé z nového materiálu. Použity byly dva perspektivní materiály s nejnižším vyluhováním – směs kůry borovice s modřínem a topolová štěpka (Tab. 5.1.1). Testovaný odtok byl odebírán z kolon provozovaných dle metodiky v kapitole 4.3 naplněných směsí kůry borovice s modřínem. Odtok byl odebírán v náběhové fázi provozu, kdy jsou vyluhované látky nejkoncentrovanější. Délka trvání biotestu na *Raphanus sativus* byla 5 týdnů u statických výluhů a 4 týdny u odtoku z kolon.

Podíl vyklíčených rostlin a inhibice výtěžku biomasy jsou uvedeny v Tab. 5.6.1 a naměřené hodnoty použité pro výpočet inhibice jsou uvedeny v přílohách 11 a 12. Dle výsledků biotestů je patrné, že závlaha neměla významný vliv na klíčivost ani růst rostlin *Raphanus sativus* v prvních 4/5 týdnech růstu. Podíl klíčivosti byl výluhů i kontrol nad 94 %. Výjimkou byl odtok kolony naplněné směsí borovice s modřínem, kde byla klíčivost o něco nižší (85 %). Inhibice výtěžku biomasy byla u všech testovaných vzorků velmi nízká (do ± 10 %) a výluhy byly hodnoceny jako netoxické. Nebyl pozorován ani vizuální rozdíl mezi testovanými vzorky a kontrolami během růstu (příloha 4) ani ve vzhledu kořenového systému (Obr. 5.6.1).

Tab. 5.6.1. Výsledky ekotoxikologických biotestů na *Raphanus sativus* – procento vyklíčených rostlin po 7 dnech a inhibice výtěžku biomasy nadzemní části rostlin

	Materiál	Podíl vyklíčených rostlin po 7 dnech, %	Inhibice, %
Statické testy	Kontrola	96	-
	Směs	97	-8,8
	Topol	97	-5,1
Odtok z kolon	Kontrola	94	-
	Směs	85	7,9



Obr. 5.6.1. Kořenový systém testovaných rostlin *Raphanus sativus* při testu statických výluhů – zleva kontrola, směs a topol

Výluhy směsi borovice s modřínem a topolové štěpky nebyly toxické ani v předchozích biotestech (kapitola 5.1.7). Testované výluhy neměly významný vliv na růst kořene *Sinapis alba* pro 72h testu (inhibice -4% směs a 13% topol). V testovaných výluzích ani nebyly zjištěny žádné ze stanovovaných fenolických sloučenin (kapitola 5.1.6).

Na výsledek biotestu na *Raphanus sativus* měl zajisté výrazný vliv výběr materiálu, kdy byly testovány materiály, které v předešlých biotestech vykazovaly nejnižší toxicitu. Výsledky však ukazují, že použití odtoku z kolon na závlahu v náběhové fázi je možné, a to i v období klíčení rostlin, kdy je jejich citlivost nejvyšší. Tato problematika by však vyžadovala větší množství testů s různými druhy rostlin i materiálů náplně.

5.7 Vliv denitrifikačních bioreaktorů na recipient

Zavedení denitrifikačních bioreaktorů do praxe v ČR, by mohlo přispět ke snížení koncentrace NO_3^- ve vodách. Tomu nasvědčují i zkušenosti ze zahraničí, kde je tato technologie běžně používána (Illinois, Iowa & Minnesota nutrient reduction strategies; USDA NRCS, 2015). Kromě pozitivního účinku však musí být brány v potaz také účinky negativní, jako je uvolňování organických látek a NH_4^+ , případně P.

5.7.1 Hodnocení vlivu denitrifikačních bioreaktorů

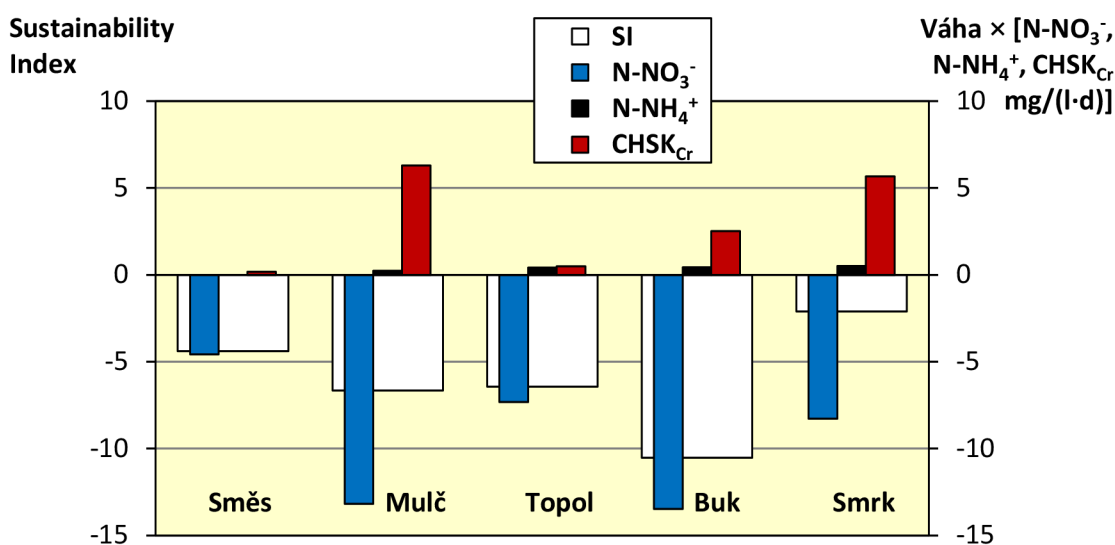
Z důvodu absence příslušných legislativních dokumentů zabývajících se podobnou technologií v ČR byly parametry na odtoku z testovacích kolon srovnány s ukazateli norem environmentální kvality – NEK (Nařízení vlády č. 401/2015 Sb.). Dále bylo hodnocení vlivu denitrifikačních bioreaktorů bylo provedeno holistickým způsobem pomocí parametru SI dle Fenton *et al.* (2014) a Bílková *et al.* (2017) (metodika uvedena v kapitole 4.6), který umožňuje posouzení celkového vlivu denitrifikačních bioreaktorů na životní prostředí, a to jak pozitivní vliv odstraňování N-NO_3^- , tak i negativní vliv uvolňování organických látek a N-NH_4^+ . Váhy pro výpočet parametru SI byly nastaveny také na základě ukazatelů NEK.

Z hlediska odstraněného N-NO_3^- jsou denitrifikační bioreaktory přínosem, zejména v zemědělských oblastech při následném využívání vod pro pitné účely. Koncentrace vznikajícího N-NH_4^+ na odtoku byly po delším provozu kolon vyšší než NEK (N-NH_4^+ na odtoku z kolony max. 3 mg/l; NEK 0,23 mg/l). V aerobním prostředí recipientu však obvykle dochází rychlé přeměně na NO_3^- vlivem nitrifikace (Pitter, 2015).

Odtok bezkyslíkaté vody z bioreaktoru by bez dostatečného naředění mohl nepříznivě ovlivňovat recipient. Na kyslíkový režim mají vliv také organické látky na odtoku, zejména biologicky rozložitelné. Hodnoty NEK jsou sice výrazně nižší než hodnoty na odtoku z kolon (NEK CHSK_{Cr} 26 mg/l, BSK_5 3,8 mg/l), ale s dobou provozu dochází k jejich snižování. Vliv odtoku vysokých koncentrací organických látek by mohl být snížen pomocí opatření uvedených výše (výběr materiálu s nižším vyluhováním organických látek, úprava provozních parametrů, využití odtoku pro zavlažování...). Obdobným způsobem by mohl být eliminován také případný toxický účinek některých vyluhovaných organických látek.

Hodnota pH na odtoku se obvykle pohybovala v rozmezí 5–9 daným NEK. Nižší hodnoty byly zjištěny pouze v náběhové fázi provozu a to pouze u některých materiálů (hodnoty mezi 4-5 u buku a smrku). Provozem bioreaktoru, kdy dochází k náběhu denitrifikace snižování obsahu vyluhovaných látek se však hodnota pH zvyšovala do přípustného rozmezí. Horní hranice nebylo dosaženo ani při 48týdenním provozu kolon naplněných topolovou štěpkou (max. pH 7,5).

Pro vyhodnocení parametrem SI byly použity vlastní výsledky z provozu kolon s různým materiálem náplně, jejichž popis je uveden v kapitole 5.3. Použity však byly i výsledky s dalšího provozu těchto kolon. Výsledky byly vyhodnoceny pomocí parametru SI a následně byly vybrány etapy provozu s nejpříznivějšími výsledky, které jsou uvedeny na Obr. 5.7.1. V grafu jsou uvedeny násobky hmotnostních bilancí vybraných ukazatelů s jejich stanovenou váhou, kde záporné hodnoty značí snižování hmotnostního toku (např. odstranění N-NO_3^-) a kladné hodnoty zvyšování hmotnostního toku (např. uvolňování CHSK_{Cr} a N-NH_4^+). Výsledný parametr SI je dán jejich součtem a za nejpříznivější jsou považovány nejnižší (nejvíce záporné) hodnoty SI.



Obr. 5.7.1. Průměrné součiny váhy a hmotnostní bilance vybraných ukazatelů a výsledný parametr SI u etap s nejpříznivějšími výsledky

Z výsledků je patrné, že i přes vyšší vyluhování látek z náplně může být celkový vliv na recipient pozitivní. Například mulč a buk měly sice vyluhování větší než směs, ale současně i vyšší odstranění N-NO_3^- , takže SI vyšlo příznivěji. U směsi sice bylo

vyluhování látek z bioreaktoru nejnižší, ale nízké bylo také odstranění N-NO_3^- , což se promítlo v nízké hodnotě SI.

Výsledné hodnoty SI ukazují rozdíly mezi jednotlivými materiály, které jsou však závislé na aktuálních provozních parametrech (teplota, HRT a vstupní koncentrace N-NO_3^-) a stáří kolony. Vliv stáří kolony je významný, protože ovlivňuje odstraňování N-NO_3^- (náběh denitrifikace) i uvolňování látek z náplně. Parametr SI by se, v případě neměnných provozních parametrů, měl snižovat a být stále příznivější. Vhodné by tedy bylo srovnání stejně starých kolon, buď se stejnou náplní s různými provozními parametry (srovnávání provozních parametrů), nebo s různou náplní a stejnými provozními parametry (srovnávání materiálů náplně).

Vybrané výsledky jsou sice pouze příkladem využití této metody pro denitrifikační bioreaktory, parametr SI se však jeví jako dobře využitelný, zejména při testování různých náplní a provozních parametrů. Vliv vyluhovaných látek na recipient však musí být řešen konkrétně (např. toxicita a narušení kyslíkového režimu). Váhy byly v tomto případě zvoleny pouze dle legislativy, ale byla by možná i jejich úprava s ohledem na další důsledky.

5.7.2 Předpověď vyluhování látek u víceletého provozu bioreaktorů

Zkušenosti s provozem denitrifikačních bioreaktorů ukazují, že je možné jejich provozování v řádu let až desetiletí, bez nutnosti větší údržby a doplňování náplně (van Driel *et al.*, 2006; Moorman *et al.*, 2010; Long *et al.*, 2011). I u dlouhodobého provozu bývá stále zachována dostatečná schopnost odstraňování N-NO_3^- z protékajících vod a současně s délkou provozu dochází ke snižování negativního vlivu bioreaktorů ve formě vyluhování organických látek z náplně.

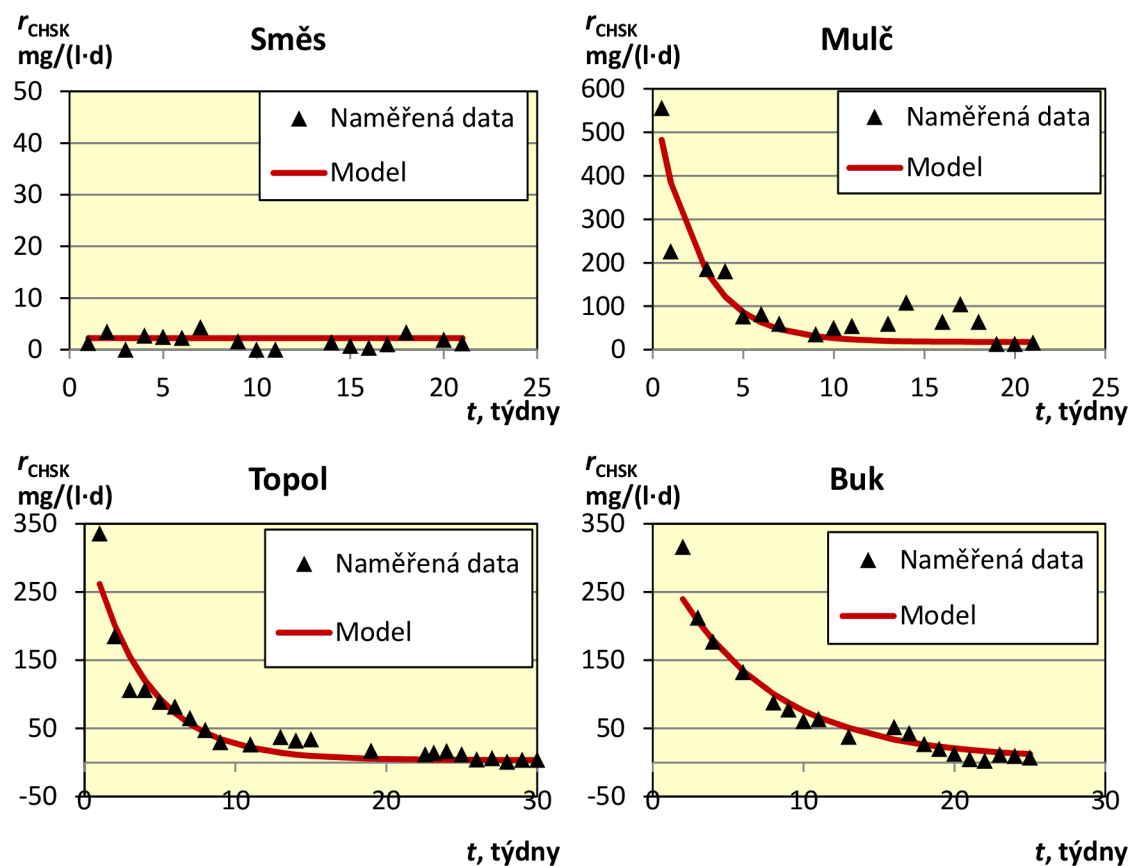
Pro předpověď vyluhování látek v dlouhodobém časovém horizontu byla použita data z 5 vlastních kolon naplněných odlišným materiálem, které byly sledovány po dobu 21 až 54 týdnů (vybrány nejdelší možné časové úseky). Na základě množství vyluhovaných organických látek byl sestrojen model odpovídající průběhu vyluhování a následně byla vytvořena předpověď množství vyluhovaných látek v budoucích letech. Model byl vytvořen pro hodnoty CHSK_{Cr} . Dle výše uvedených výsledků by měl model s využitím BSK_5 obdobný průběh, ale s nižšími hodnotami.

Pro odhad celkového vyluhování organických látek ve formě CHSK_{Cr} byl použit exponenciální model dle Schmidt & Clark (2013) (metodika uvedena v kapitole 4.7). Proměnné modelu $r_{\text{CHSK}}(0)$, r a θ a odlišnost od naměřených dat od modelu určená koeficientem determinace R^2 jsou uvedeny v Tab. 5.7.1. Závislost mezi naměřenými hodnotami a výsledky modelu v případě všech materiálů, s výjimkou směsi borovice s modřínem, byla statisticky významná na hladině spolehlivosti 99 %.

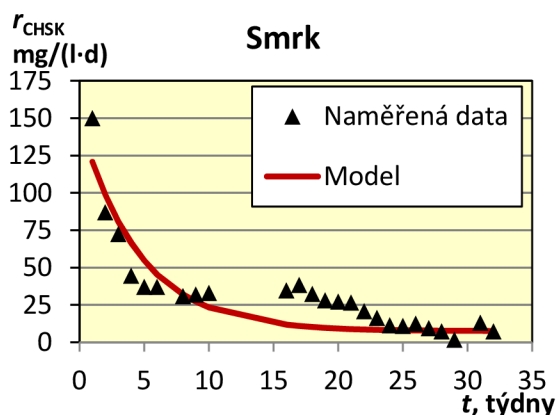
Tab. 5.7.1. Proměnné exponenciálního modelu a koeficient determinace

	Směs	Mulč	Topol	Buk	Smrk
$r_{\text{CHSK}}(0)$, $\text{g}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$	1,32	556	336	317	150
r	-	0,060	0,038	0,021	0,031
θ , $\text{g}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$	2,12	17,91	3,47	4,67	7,47
R^2	-	0,84	0,92	0,96	0,83

Naměřené hodnoty a exponenciální průběh dle modelu u jednotlivých kolon jsou uvedeny na Obr. 5.7.2.



Obr. 5.7.2. Rychlosti vyluhování CHSK_{Cr} v čase



Obr. 5.7.2 (pokračování). Rychlosti vyluhování CHSK_{Cr} v čase

Model se téměř shodoval s naměřenými hodnotami, čemuž nasvědčují i hodnoty R^2 (viz výše). Největší odchylky od modelu se projeví u mulče a smrku a byly způsobeny změnou průtoku během provozu (mulč – zvýšení průtoku mezi 13. a 18. týdnem; smrk zvýšení průtoku od 10. týdne do konce provozu). Odlehle hodnoty by však neměly mít výrazný vliv na předpověď vyluhování v budoucích letech, které se dle naměřených dat i modelu neustále snižuje až k ustáleným hodnotám. Pro přesnější odhad by bylo potřebné provozovat kolony za ustálených podmínek a po delší časový úsek. Skutečné podmínky provozu bioreaktorů však také nejsou neměnné.

Tab. 5.7.2 uvádí odhad celkového množství CHSK_{Cr} , které by bylo uvolněno z 1 m^3 náplně bioreaktoru po 1, 5 a po 10 letech provozu a rychlost vyluhování CHSK_{Cr} za rok v prvním roce a v dalších letech. Celkové vyluhování bylo vypočteno na základě výše uvedeného modelu, který předpokládá exponenciální průběh vyluhování. V počáteční fázi provozu tedy bylo vyluhování největší a poté se přibližovalo k nejnižší asymptotické hodnotě. Vyluhování v prvním roce bylo vypočteno v tomto pořadí: směs < smrk < topol < mulč < buk. Vyluhování po 10 letech bylo v pořadí: směs < topol < buk < smrk < mulč. Z výsledků je patrné, že počáteční vyluhování v 1. roce nemusí odpovídat vyluhování v následujících letech, které závisí zejména na asymptotické rychlosti vyluhování. Celkové vyluhování je závislé zejména na druhu použitého materiálu.

Tab. 5.7.2. Celkové vyluhování $CHSK_{Cr}$ uvolněné z 1 m^3 náplně po 1 a po 10 letech a změna rychlosti vyluhování $CHSK_{Cr}$ v závislosti na použitém materiálu náplně

	t	Směs	Mulč	Topol	Buk	Smrk
Celkové vyluhování $CHSK_{Cr}$, kg/m^3	1 rok	0,805	15,8	10,2	16,6	7,54
	5 let	4,03	42,0	15,2	23,4	18,4
	10 let	8,05	74,7	21,6	31,9	32,1
r_{CHSK} , $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{rok})$	1. rok	0,81	15,83	10,17	16,57	7,54
	Další roky	0,81	8,40	3,05	4,68	3,69

Dle modelu byla rychlost vyluhování v prvním roce více než dvojnásobná než v druhém roce a dalších letech, kdy je rychlost už dále velmi podobná. Z toho vyplývá výhoda provozování bioreaktorů více let, kdy je nejkritičtější počáteční fáze provozu a poté se negativní důsledky snižují. Denitrifikační rychlost je však dlouhodobě udržitelná, např. Long *et al.* (2011) uvádí u 14 let provozovaného denitrifikačního bioreaktoru účinnost denitrifikace 92 %. Předpověď na základě laboratorních experimentů nemusí odpovídat skutečnosti, ale poskytuje základní přehled o chování bioreaktoru.

5.7.3 Shrnutí

Denitrifikační bioreaktory jsou přínosem zejména díky odstraňování NO_3^- z vod. Projevují se u nich však i negativní důsledky (např. vyluhování organických látek a vznik NH_4^+). Jak ale vyplývá z holistického vyhodnocení, pozitivní přínos u denitrifikačních bioreaktorů převyšuje negativa. Vysoké koncentrace nežádoucích látek na odtoku z denitrifikačních bioreaktorů se totiž týkají zejména počáteční fáze provozu a při dlouhodobém použití v řádu let převažuje pozitivní vliv. Pokud by byly koncentrace na odtoku v náběhové fázi nepříjemné, je možné využít i jiných metod (viz výše) pro snížení vlivu na recipient (např. vhodný návrh bioreaktoru zahrnující výběr materiálu náplně a návrh rozměrů bioreaktoru ovlivňující HRT, nebo využití odtékajících vod).

6. ZÁVĚR A PŘÍNOS PRO ROZVOJ VĚDNÍ DISCIPLÍNY

Disertační práce se zabývá využitím denitrifikačních bioreaktorů pro odstraňování NO_3^- na odtoku ze zemědělských ploch v ČR. V rámci práce bylo zkoumáno chování denitrifikačních bioreaktorů v laboratorních podmínkách a byly posuzovány možnosti zvýšení efektivity odstraňování NO_3^- a zmírnění negativního vlivu na recipient. Zjišťován byl vliv materiálu náplně, vliv změny provozních parametrů, vliv způsobu odstávek v bezdeštném období a možnost použití odtékajících vod na zavlažování.

V rámci výběru materiálu náplně byly testovány materiály běžně dostupné v našich podmínkách, které byly zkoušeny pomocí statických testů vyluhovatelnosti a při provozu denitrifikačních kolon. Tyto testy se sice zcela neshodují s reálnými denitrifikačními bioreaktory, ale poskytují vhodný nástroj pro jejich výzkum v kontrolovaných laboratorních podmínkách.

Statické testy vyluhovatelnosti poskytly podrobný přehled kvality výluhu různých druhů dřevních materiálů. Kromě chemického složení výluhu, zahrnujícího i nízkomolekulární monobazické fenolické sloučeniny, byla stanovena ekotoxicita těchto výluhů na 3 testovacích organismech. Materiál náplně se ukázal jako jeden ze zásadních faktorů pro funkci bioreaktoru, tedy pro zajištění denitrifikace a dosažení pozvolného vyluhování a eliminaci toxických látek ve výluhu. Např. bylo zjištěno, že dubová a akátová štěpka jsou jako náplň bioreaktoru nevhodné z důvodu extrémního počátečního vyluhování a ekotoxicity výluhu. Výsledky statických výluhů jsou jedinečné z důvodu komplexnosti, protože testy náplní na relevantních organismech byly v tomto kontextu publikovány jen zcela výjimečně a bez příslušného chemického složení výluhu. Jedinečné je také posouzení úpravy materiálu vysušením a využití vod v prvních týdnech provozu bioreaktoru na zavlažování odvodňované oblasti.

Na denitrifikačních kolonách byl kromě materiálu zjišťován také vliv provozních parametrů. Náběhová fáze, stejně jako předcházející statické testy, poukazuje na rozdílnosti jednotlivých materiálů ve vyluhování látek z náplně i účinnosti denitrifikace. Jako nejvhodnější materiál se ukázala topolová štěpka s přiměřeným vyluhováním organických látek a vysokou denitrifikační účinností. Výsledky však byly ovlivněny také odlišnými provozními parametry a u kolon s různými materiály. Projevil se také výrazný vliv HRT a teploty.

Při dlouhodobém provozu kolon naplněných shodným materiálem byl sledován vliv odstávek bioreaktoru v bezdeštném období. Testovány byly suché a mokré odstávky o různých délkách a jejich vliv na kvalitu odtoku, které jsou spolu s rozbořením vody stagnující v koloně během odstávky také jedinečnou součástí práce, protože obdobný experiment dosud nebyl publikován. Rozdíl v chování kolon na základě způsobu a délky odstávky však nebyl pozorován, vypadá to tedy, že je možné kolony odstavovat oběma způsoby. K narušení provozu došlo až u šestitýdenní odstávky (pouze u některých kolon), zhroucení však mohlo být způsobeno i stářím kolony. Zajímavostí bylo i pozorování nárůstu koncentrace N-NH_4^+ s délkou provozu kolon, kterými se jiné výzkumy zabývají pouze okrajově.

Součástí práce je posouzení vlivu bioreaktorů na recipient a předpověď vyluhování v následujících letech. Posouzení zahrnuje pozitivní vliv denitrifikačních bioreaktorů ve formě odstraňování NO_3^- a negativní vliv uvolňování nežádoucích látek. Ukazuje se tedy, že s rostoucí dobou provozu více převažuje pozitivní vliv bioreaktorů, protože klesá množství vyluhovaných látek a bioreaktor je možné provozovat v řádu let se stále dobrou účinností denitrifikace. Negativem v náběhové fázi v prvních týdnech provozu je vyluhování organických látek z náplně, z nichž některé mohou být toxické. Tento negativní vliv je však možné snížit (pomocí výběru materiálu náplně, změnou provozních parametrů návrhem vhodných rozměrů bioreaktoru nebo spuštěním v zimním období), nebo eliminovat (např. použitím odtoku na zavlažování) pomocí opatření, která byla ověřována v této práci.

Přínosem práce je zaměření výzkumu na použití denitrifikačních bioreaktorů v ČR, zejména výběrem místních materiálů náplně. Práce obsahuje rešerši poznatků o denitrifikačních bioreaktorech a jedinečné vlastní experimentální výsledky, zejména fyzikálně-chemické složení statických výluhů s ekotoxikologickými biotesty a vliv způsobu odstávek na provoz bioreaktoru, a zhodnocuje i vliv bioreaktorů na recipient.

Zavedení denitrifikačních bioreaktorů do praxe v ČR by bylo mohlo pomoci zlepšení kvality povrchových i podzemních vod, protože obdobná technologie pro snižování NO_3^- na odtoku ze zemědělských ploch dosud není v ČR využívána. Pro zavedení této technologie by bylo nezbytné vyvinutí vlastních postupů pro návrh a provozování a limitů pro vypouštění.

7. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- AHNEN, M.; PEDERSEN, P. B.; HOFFMANN, C.C. & DALSGAARD, J. (2016): *Optimizing nitrate removal in woodchip beds treating aquaculture effluents*. Aquaculture 458, 47–54.
- ADDY, K.; GOLD, A. J.; CHRISTIANSON, L. E.; DAVID, M. B.; SCHIPPER, L. A. & RATIGAN, N. A. (2016): *Denitrifying bioreactors for nitrate removal: A meta-analysis*. Journal of Environmental Quality 45, 873–881.
- ANDRUS, J. M. (2011): *Microbial community analysis for denitrifying biofilters*. PhD thesis. University of Illinois at Urbana-Champaign, ProQuest Dissertations Publishing.
- BÄRLOCHER, F. & BODDY, L. (2016): *Aquatic fungal ecology – How does it differ from terrestrial?* Fungal Ecology 19, 5–13.
- BÍLKOVÁ, Z.; HRICH, K.; KRIŠKA-DUNAJSKÝ, M.; SCHRIMPELOVÁ, K. & MALÁ, J. (2017): *Holistický přístup k hodnocení denitrifikačních bioreaktorů*. In: Sborník přednášek a posterových sdělení z 12. bienální konference a výstavy VODA 2017, Tribun EU, s.r.o.. Brno. ISBN 978-80-263-1322-9.
- BÍLKOVÁ, Z.; HRICH, K.; MALÁ, J.; SCHRIMPELOVÁ, K. & KRIŠKA-DUNAJSKÝ, M. (2018): *Start-up phase of denitrifying bioreactors used for agricultural runoff treatment*. In: Scientific Papers - Series E - Land Reclamation Earth Observation & Surveying Environmental Engineering. ISSN 2285-6064.
- BLOWES, D. W.; ROBERTSON, W. D.; PTACEK, C. J. & MERKLEY, C. (1994): *Removal of agricultural nitrate from tile-drainage effluent water using in-line bioreactors*. Journal of Contaminant Hydrology 15, 207–221.
- CAMERON, S. G. & SCHIPPER, L. A. (2010): *Nitrate removal and hydraulic performance of organic carbon for use in denitrification beds*. Ecological Engineering 36, 1588–1595.
- CONLEY, D. J.; PAERL, H. W.; HOWARTH, R. W.; BOESCH, D. F.; SEITZINGER, S. P.; HAVENS, K. E.; LANCELOT, C. & LIKENS, G. E. (2009): *Controlling Eutrophication: Nitrogen and Phosphorus*. Science 323 (5917), 1014–1015.

- FELDMANE, D. (2010). *The influence of drip irrigation and woodchip mulch on growth and first yield of sour cherries*. Agronomy Research 8 (Special Issue II): 453-458.
- ČHMÚ (2019): *Historická data – meteorologie a klimatologie*. [online] Český hydrometeorologický ústav [cit. 13. 7. 2019]. Dostupné z: <http://portal.chmi.cz/historicka-data/pocasi/zakladni-informace>
- ČSN EN ISO 6341 (757751): *Kvalita vod – Zkouška inhibice pohyblivosti Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea) – Zkouška akutní toxicity*. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví.
- ČSN EN ISO 8692 (757740): *Kvalita vod – Zkouška inhibice růstu sladkovodních řas*. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví.
- FENTON, O.; HEALY, M. G.; BRENNAN, F.; JAHANGIR, M. M. R.; LANIGAN, G. J.; RICHARDS, K. G.; THORNTON, S.F. & IBRAHIM, T.G. (2014): *Permeable reactive interceptors: blocking diffuse nutrient and greenhouse gases losses in key areas of the farming landscape*. Journal of Agricultural Science 152, 71–81.
- FRIEDL, J.; DE ROSA, D.; ROWLINGS, D.W.; GRACE, P.R.; MÜLLER, C. & SCHEER, C. (2018): *Dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA), not denitrification dominates nitrate reduction in subtropical pasture soils upon rewetting*. Soil Biology and Biochemistry 125, 340–349.
- GANDELOVÁ, L.; HORÁČEK, P & ŠLEZINGEROVÁ, J. (2012). *Nauka o dřevě*. Vyd. 3., Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. Brno. ISBN 978-80- 7375-312-2.
- GERARDI, M. H. (2002): *Wastewater microbiology: nitrification and denitrification in the activated sludge process*. John Wiley and Sons, Inc., New York, USA. ISBN 0-471-06508-0.
- GIBERT, O.; POMIERNY, S.; ROWE, I. & KALIN, R. M. (2008): *Selection of organic substrates as potential reactive materials for use in denitrification permeable reactive barrier (PRB)*. Bioresource Technology 99, 7587–7596.

- GREENAN, C. M.; MOORMAN, T. B.; KASPAR, T. C.; PARKIN, T. B. & JAYNES, D.B. (2006): *Comparing carbon substrates for denitrification of subsurface drainage water*. Journal of Environmental Quality 35, 824–829.
- HEALY, M. G.; IBRAHIM T. G.; LANIGAN G. J.; SERRENHO A. J. & FENTON O. (2012): *Nitrate removal rate, efficiency and pollution swapping potential of different organic carbon media in laboratory denitrification bioreactors*. Ecological Engineering 40, 198–209.
- HOFSTRA, N. & BOUWMAN, A. F. (2005): *Denitrification in agricultural soils: summarizing published data and estimating global annual rates*. Nutrient Cycling in Agroecosystems 72, 267–278.
- HOOVER, N. L. (2012): *Denitrification woodchip bioreactor twophase column study: Evaluation of nitrate removal at various hydraulic retention times and effect of temperature on denitrification rates*. MS thesis. Iowa State University.
- HOOVER, N. L.; BHANDARI, A.; SOUPIR, M. L. & MOORMAN, T. (2016): *Woodchip denitrification bioreactors: impact of temperature and hydraulic retention time on nitrate removal*. Journal of Environmental Quality 45, 803–812.
- HRICH, K.; SCHRIMPELOVÁ, K.; MALÁ, J.; BÍLKOVÁ, Z. & KRIŠKA-DUNAJSKÝ, M. (2018): *Návrh in situ denitrifikačního bioreaktoru*. Zborník posterov 10. bienálnej konferencie s medzinárodnou účasťou Odpadové vody 2018. Asociácia čistiarenských expertov Slovenskej republiky, Bratislava. ISBN 978-80-973196-0-1.
- CHRISTIANSON L.E. (2011): *Design and performance of denitrification bioreactors for agricultural drainage*. PhD diss. Iowa State University.
- CHRISTIANSON L. E.; BHANDARI, A. & HELMERS, M. (2011a): *Potential design methodology for agricultural drainage denitrification bioreactors*. In: World Environmental and Water Resources Congress 2011: Bearing Knowledge for Sustainability – Proceedings of the 2011 World Environmental and Water Resources Congress.
- CHRISTIANSON, L. E.; HANLY, J. A. & HEDLEY, M.J. (2011b) *Optimized denitrification bioreactor treatment through simulated drainage containment*. Agricultural Water Management 99(1), 85–92.

- CHRISTIANSON, L. E.; BHANDARI, A. & HELMERS, M. J. (2012a): *A practice-oriented review of woodchip bioreactors for subsurface agricultural drainage*. Applied Engineering in Agriculture 28, 861–874.
- CHRISTIANSON, L. E.; BHANDARI, A.; HELMERS, M. J.; KULT, K. J.; SUTPHIN, T. & WOLF, R. (2012b): *Performance evaluation of four field-scale agricultural drainage denitrification bioreactors in Iowa*. Transactions of the Agricultural and Biosystems Engineering 55(6), 2163–2174.
- CHRISTIANSON, L. E. (2016): ústní sdělení (University of Illinois at Urbana–Champaign, College of Agricultural, Consumer and Environmental Sciences, Department of Crop Sciences) [cit. 6. 5. 2016].
- CHRISTIANSON, L.E. & SCHIPPER, L. A. (2016): *Moving denitrifying bioreactors beyond proof of concept: Introduction to the special section*. Journal of Environmental Quality 45(3), 757–761.
- CHUN, J. A.; COOKE, R. A.; EHEART, J. W. & KANG, M. S. (2009): *Estimation of flow and transport parameters for woodchip-based bioreactors: I. Laboratory-scale bioreactor*. Biosystems Engineering 104(3), 384–395.
- Illinois nutrient reduction strategy: *Illinois Nutrient Loss Reduction Strategy Implementation*. [online] Illinois Environmental Protection Agency. [cit. 3. 8. 2017] Dostupné z: <http://www.epa.illinois.gov/topics/water-quality/watershed-management/excess-nutrients/nutrient-loss-reduction-strategy/>
- Iowa nutrient reduction strategy: *Iowa Nutrient Reduction Strategy*. [online] Iowa State University. [cit. 3. 8. 2017] Dostupné z: <http://www.nutrientstrategy.iastate.edu/>
- Iowa NRCS, 2010. *Iowa Environmental Quality Incentives Program (EQIP) list of eligible practices and payment schedule FY2011*. [online] United States Department of Agriculture Natural Resources Conservation Service. [cit. 29. 11. 2018]. Dostupné z: www.ia.nrcs.usda.gov/programs/stateeqip.html
- JANKOVSKÝ, M.; LACHMAN, J. & STASZKOVÁ, L. (1999): *Chemie dřeva*. Skripta. Česká zemědělská univerzita Praha. Praha.

- KAHRU, A.; PÖLLUMAA, L.; REIMAN, R.; RÄTSEP, A.; LIIDERS, M. & MALOVERYAN, A. (2000): *The toxicity and biodegradability of eight main phenolic compounds characteristic to the oil-shale industry wastewaters: A test battery approach*. Environmental Toxicology 15(5), 431–442.
- KANNEPALLI, S.; STROM, P.F.; KROGMANN, U.; SUBROY, V.; GIMÉNEZ, D. & MISKEWITZ, R. (2016): *Characterization of wood mulch and leachate/runoff from three wood recycling facilities*. Journal of Environmental Management 182, 421–428.
- KOSLOW D. (2014): *Woodchip bioreactor and denitrification wall*. Waterkeeper's Annual Conference 2014, Pittsburgh, PA, USA.
- LIBRALATO, G.; LOSSO, C. & GHIRARDINI, A.V. (2007): *Toxicity of untreated wood leachates towards two saltwater organisms (Crassostrea gigas and Artemia franciscana)*. Journal of Hazardous Materials 144(1–2), 590–593.
- LONG, L. M.; SCHIPPER, L. A.; BRUESEWITZ, D. A. (2011): *Long-term nitrate removal in a denitrification wall*. Agriculture, Ecosystems and Environment 140, 514–520.
- MAKRIS, S.P. & BANERJEE, S. (2002): *Fate of resin acids in pulp mill secondary treatment systems*. Water Research 36(11), 2878–2882.
- MALÁ, J (2007): *Odstranění dusíku z vod s vysokou koncentrací amonných solí a nízkou koncentrací biologicky rozložitelné organické hmoty v SB-reaktoru*. Habilitační práce, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta stavební, Brno. ISBN 978-80-214-3639-8.
- MALÁ, J.; KRIŠKA, M.; HRICH, K.; KRÁLOVÁ, H.; OLEJNÍČKOVÁ, Z. & SCHRIMPELOVÁ, K. (2016): *Náplně bioreaktorů pro odstranění dusičnanů ze zemědělských smyvů in situ*. Zborník prednášok 9. bienálnej konferencie s medzinárodnou účasťou *Odpadové vody 2016*, Asociácia čistiarenských expertov Slovenskej republiky, Bratislava. ISBN 978-80-89882-00-7.
- MALÁ, J.; BÍLKOVÁ, Z.; HRICH, K.; SCHRIMPELOVÁ, K.; KRIŠKA, M. & ŠEREŠ, M. (2017): *Sustainability of denitrifying bioreactors with various fill media*. Plant Soil Environment 63(10), 442–448. ISSN 1805-9368.

- MARCHESE, A.; ORHAN, I. E.; DAGLIA, M.; BARBIERI, R.; DI LORENZO, A.; NABAVI, S.F.; GROTZI, O.; IZADI, M. & NABAVI, S.M. (2016): *Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature*, Food Chemistry 210, 402–414.
- MICHAŁOWICZ, J. & DUDA, W. (2007): *Phenols – Sources and toxicity*, Polish Journal of Environmental Studies 16(3), 347–362.
- Minnesota nutrient reduction strategy: *Nutrient reduction strategy*. [online] Minnesota Pollution Control Agency. [cit. 3. 8. 2017] Dostupné z: <https://www.pca.state.mn.us/water/nutrient-reduction-strategy>
- MOORMAN, T. B.; PARKIN, T. B.; KASPAR, T. C. & JAYNES, D. B. (2010): *Denitrification activity, wood loss, and N₂O emissions over 9 years from a wood chip bioreactor*. Ecological Engineering 36, 1567–1574.
- MZe (2019): *Rozloha zranitelných oblastí v ČR*. [online] Portál eAGRI, Ministerstvo zemědělství [cit. 17. 7. 2019]. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/595765/Rozloha_zranitelných_oblastí_v_CR.xlsx
- MŽP (2007): *Metodický pokyn odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů*. In: Věstník MŽP, ročník XVII, částka 4/2007.
- Nářízení vlády č. 401/2015 Sb., *o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech*. In: Sběrka zákonů České republiky, ročník 2015, částka 166, ze dne 14. prosince 2015.
- NEWMAN, M. C. (2014): *Fundamentals of Ecotoxicology*. The Science of Pollution, 4th edition, CRC Press.
- NORDSTÖM, A. & HERBERT, R. B. (2018): *Determination of major biogeochemical processes in a denitrifying woodchip bioreactor for treating mine drainage*. Ecological Engineering 110, 54–66.
- OECD (2006): Test No. 208: *Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test*. In: OECD Guidelines for the testing of chemicals [online]. Paris: OECD Publishing [cit. 11. 8. 2018]. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1787/9789264070066-en>.

- PASSEPORT, E.; VIDON, P.; FORSHAY, K. J.; HARRIS, L.; KAUSHAL, S. S.; KELLOGG, D. Q.; LAZAR, J.; MAYER, P. & STANDER, E.K. (2013): *Ecological engineering practices for the reduction of excess nitrogen in human-influenced landscapes: A guide for watershed managers*. Environmental Management 51, 392–413.
- PELLERIN, B. A.; BERGAMASCHI, B. A.; DOWNING, B. D.; SARACENO, J. F.; GARRETT, J. A. & OLSEN, L. D. (2013): *Optical techniques for the determination of nitrate in environmental waters: Guidelines for instrument selection, operation, deployment, maintenance, quality assurance, and data reporting*. U.S. Geological Survey Techniques and Methods 1–D5.
- PITTER, P. (2015): Hydrochemie, 5. vyd. VŠCHT v Praze, Praha. ISBN 978-80-7080-928-0.
- REX, S.; DUBÉ, S.; KRAUSKOPF, P. & BERCH, S. (2016): *Investigating potential toxicity of leachate from wood chip piles generated by roadside biomass operations*. Forests 7(2), 40.
- ROBERTSON, W.D. & CHERRY, J.A. (1995): *In situ denitrification of septic-system nitrate using reactive porous media barriers: Field trials*. Ground Water 33(1), 99–111.
- ROBERTSON, W.D. & ANDERSON, M.R. (1999): *Nitrogen removal from landfill leachate using an infiltration bed coupled with a denitrification barrier*. Groundwater Monitoring and Remediation 19, 73–80.
- ROBERTSON, W.D.; FORD, G.I. & LOMBARDO, P.S. (2005): *Wood-based filter for nitrate removal in septic systems*. Transactions of the American Society of Agricultural Engineers 48(1), 121–128.
- ROBERTSON, W.D. & MERKLEY, L.C. (2009): *In-stream bioreactor for agricultural nitrate treatment*. Journal of Environmental Quality 38, 230–237.
- ROBERTSON, W. D. (2010): *Nitrate removal rates in woodchip media of varying age*. Ecological Engineering 36, 1581–1587.
- SAMIS, S. C.; LIU, S. D.; WERNICK, B. G. & NASSICHUK, M. D. (1999): *Mitigation of fisheries impacts from the use and disposal of wood residue in British Columbia and the Yukon*. [online] Canadian Technical Report of Fisheries and

Aquatic Sciences 2296. [cit. 15. 8. 2017] Dostupné z: <http://publications.gc.ca/site/eng/462169/publication.html>

SHIH, R.; ROBERTSON, W. D.; SCHIFF, S. L. & RUDOLPH, D. L. (2011): *Nitrate controls methyl mercury production in a streambed bioreactor*. Journal of Environmental Quality 40(5), 1586–1592.

SCHIPPER, L. A. & VOJVODIC-VUKOVIC, M. (1998): *Nitrate removal from groundwater using a denitrification wall amended with sawdust: Field trial*. Journal of Environmental Quality 27(3), 664–668.

SCHIPPER, L. A.; ROBERTSON, W. D.; GOLD, A. J.; JAYNES, D. B. & CAMERON, S. G. (2010a): *Denitrifying bioreactors – An approach for reducing nitrate loads to receiving waters*. Ecological Engineering 36, 1532–1543.

SCHIPPER, L. A.; CAMERON, S. C. & WARNEKE, S. (2010b): *Nitrate removal from three different effluents using large-scale denitrification beds*. Ecological Engineering 36(11), 1552-1557.

SCHMIDT, C. A. & CLARK, M. W. (2012): *Efficacy of a denitrification wall to treat continuously high nitrate loads*. Ecological Engineering 42, 203– 211.

SCHMIDT, C. A. & CLARK, M. W. (2013): *Deciphering and modelling the physicochemical drivers of denitrification rates in bioreactors*. Ecological Engineering 60, 276–288.

SCHRIMPELOVÁ, K. & MALÁ, J. (2017): *Náplně denitrifikačních bioreaktorů*. Vodní hospodářství, roč. 67, č. 3, 12–16. Praha. ISSN 1211-0760. ISSN 1211-0760.

SCHRIMPELOVÁ, K.; MALÁ, J.; BÍLKOVÁ & Z.; HRICH, K. (2017a): *Suitability of denitrifying woodchip bioreactor outflows for use in irrigation*. In: MendelNet 2017 - Proceedings of 24th International PhD Students Conference, Mendel University in Brno. Brno. ISBN 978-80-7509-529-9.

SCHRIMPELOVÁ, K.; MARŠÁLKOVÁ, E.; MALÁ, J.; BÍLKOVÁ, Z. & HRICH, K. (2017b): *Leachability of denitrifying bioreactor fillings*. SGEM Conference Proceedings. Sofia, Bulgaria: STEF92 Technology Ltd.. ISSN 1314-2704. ISBN 978-619-7408-09-6.

SCHRIMPELOVÁ, K.; MALÁ, J.; BÍLKOVÁ, Z. & HRICH, K. (2018a): *Organic substances in woodchip aqueous leachates and their ecotoxicity*. In: SGEM Conference Proceedings, STEF92 Technology Ltd., 51 Alexander Malinov Blvd., 1712. Sofie, Bulharsko. ISSN 1314-2704. ISBN 978-619-7408-46-1.

SCHRIMPELOVÁ, K.; MALÁ, J.; BÍLKOVÁ, Z. & HRICH, K. (2018b): *Denitrifying woodchip bioreactor shutdown during dry periods*. In: MendelNet 2018 - Proceedings of 25th International PhD Students Conference, Mendel University in Brno. Brno. ISBN: 978-80-7509-597-8.

Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/60/ES ze dne 23. října 2000, *kteřou se stanoví rámec pro činnost Společenství v oblasti vodní politiky*. Úřední věstník Evropské unie.

Směrnice Rady 91/676/EHS ze dne 12. prosince 1991 *o ochraně vod před znečištěním dusičnany ze zemědělských zdrojů*. Úřední věstník Evropské unie.

Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2006/118/ES ze dne 12. prosince 2006 *o ochraně podzemních vod před znečištěním a zhoršováním stavu*. Úřední věstník Evropské unie.

STEVANOVIC, T. (2016): *Chemical composition and Properties of wood*. In: N. Belgacem & A. Pizzi (eds.): *Lignocellulosic Fibres and Wood Handbook*, 49–106. ISBN: 9781118773529

SVENSSON, H.; MARQUES, M., KACZALA, F. & HOGGLAND, W. (2014a): *Leaching patterns from wood of different tree species and environmental implications related to wood storage areas*. *Water and Environment Journal* 28(2), 277–284.

SVENSSON, H.; JANI, Y.; HOGGLAND, W. & MARQUES, M. (2014b): *Particle size characterization of oak wood leachate: chemical oxygen demand and toxicity distribution within different fractions*. *Water Science and Technology*, 70(3), 502–509.

ŠANTRŮČKOVÁ, H. (2014): *Základy ekologie půdy*. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, České Budějovice. ISBN: 978-80-7394-480-3.

- TAYLOR, B.R.; GOUDEY, J.S. & CARMICHAEL, N.B. (1996): *Toxicity of aspen wood leachate to aquatic life: laboratory studies*, Environmental Toxicology and Chemistry 15(2), 150–159.
- UNIVERSITY OF ILLINOIS (2011): *Designing and constructing bioreactors to reduce nitrate loss from subsurface drains*. [online] University of Illinois Department of Agricultural and Biological Engineering, USA. [cit. 30. 11. 2018]. Dostupné z: www.wq.illinois.edu/dg/Equations/trifold_Bioreactor.pdf
- USDA NRCS (2015): *Conservation Practice Standard No. 605 – Denitrifying bioreactor*. [online] Natural Resource Conservation Service, United States Department of Agriculture, USA. [cit. 13. 9. 2018]. Dostupné z: https://www.nrcs.usda.gov/wps/PA_NRCSCConsumption/download?cid=nrcseprd340746&ext=docx
- U.S. EPA. (2018). *ECOTOX Knowledgebase*. [online] U.S. Environmental Protection Agency, USA. [cit. 25. 3. 2018]. Dostupné z: <https://cfpub.epa.gov/ecotox/>
- U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES (2008). *Toxicological profile for cresols*. [online] U.S.A. [cit. 10. 4. 2018]. Dostupné z: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp34.pdf>
- VAN DRIEL, P. W.; ROBERTSON, W. D. & MERKLEY, L. C. (2006): *Denitrification of agricultural drainage using wood-based reactors*. Transactions of the American Society of Agricultural and Biological Engineers 49(2), 565-573.
- Vyhláška č. 70/2018 Sb., kterou se mění vyhláška č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody, ve znění pozdějších předpisů.
- WILDMAN, T.A. (2001): *Design of field-scale bioreactors for bioremediation of nitrate in tile drainage effluent*. MS thesis. University of Illinois at Urbana-Champaign.
- WATER ENVIRONMENTAL FEDERATION (2010): *Nutrient removal – WEF Manual of Practice No. 34*. WEF Press, Virginia, USA. ISBN 978-0-07-173709-8.
- WHO (1996): *Health and Safety Guide No. 100: Cresols health and safety guide*. [online] International Programme on Chemical Safety. World Health Organization [cit. 20. 3. 2018]. Dostupné z: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/38142/9241511001_eng.pdf

8. SEZNAM PUBLIKOVANÝCH PŘÍSPĚVKŮ

Články v impaktovaných časopisech

2017

MALÁ, J.; BÍLKOVÁ, Z.; HRICH, K.; SCHRIMPELOVÁ, K.; KRIŠKA, M. & ŠEREŠ, M. (2017): *Sustainability of denitrifying bioreactors with various fill media*. Plant, Soil and Environment 63(10), 442–448. Czech Academy of Agricultural Sciences. Praha. ISSN 1805-9368.

Články v recenzovaných časopisech

2017

SCHRIMPELOVÁ, K. & MALÁ, J. (2017): *Náplně denitrifikačních bioreaktorů*. Vodní hospodářství, roč. 67, č. 3, 12–16. Praha. ISSN 1211-0760.

2016

SCHRIMPELOVÁ, K. (2016): *Srovnání změn kvality vody v povrchovém toku a průtoku jeskynním systémem*. Geologické výzkumy na Moravě a ve Slezsku 23(1-2), Masarykova univerzita. Brno. ISSN 1212-6209.

GRUBEROVÁ, E.; MALÁ, J.; SCHRIMPELOVÁ, K. & ONDRUŠ, M. (2016): *Vývoj kvality vody povrchových toků Moravského krasu od r. 1949 do současnosti*. Vodní hospodářství, roč. 66, č. 4, 10–15. Praha. ISSN 1211-0760.

2015

KRIŠKA-DUNAJSKÝ, M.; MALÁ, J.; KRÁLOVÁ, H.; HRICH, K.; NĚMCOVÁ, M.; SCHRIMPELOVÁ, K. & HNÁTKOVÁ, T. (2015): *Nové technologie pro odstranění dusičnanů ze zemědělských smyvů*. Sovak 12, 12–16. ISSN 1210-3039.

Konferenční články v databázích Scopus a Thomson Reuters

2018

SCHRIMPELOVÁ, K.; MALÁ, J.; BÍLKOVÁ, Z. & HRICH, K. (2018): *Denitrifying woodchip bioreactor shutdown during dry periods*. In: MendelNet 2018 - Proceedings of 25th International PhD Students Conference, Mendel University in Brno. Brno. ISBN: 978-80-7509-597-8.

SCHRIMPELOVÁ, K.; MALÁ, J.; BÍLKOVÁ, Z.; HRICH, K. & KRIŠKA-DUNAJSKÝ, M. (2018): *Phosphorus removal from agricultural runoff by enhanced denitrifying woodchip bioreactors*. In: SGEM Conference Proceedings, STEF92 Technology Ltd., 51 Alexander Malinov Blvd., 1712. Sofie, Bulharsko. ISSN 1314-2704. ISBN 978-619-7408-46-1.

SCHRIMPELOVÁ, K.; MALÁ, J.; BÍLKOVÁ, Z. & HRICH, K. (2018): *Organic substances in woodchip aqueous leachates and their ecotoxicity*. In: SGEM Conference Proceedings, STEF92 Technology Ltd., 51 Alexander Malinov Blvd., 1712. Sofie, Bulharsko. ISSN 1314-2704. ISBN 978-619-7408-46-1.

BÍLKOVÁ, Z.; HRICH, K.; MALÁ, J.; SCHRIMPELOVÁ, K. & KRIŠKA-DUNAJSKÝ, M. (2018): *Start-Up Phase of Denitrifying Bioreactors Used For Agricultural Runoff Treatment*. In: Scientific Papers - Series E - Land Reclamation Earth Observation & Surveying Environmental Engineering. ISSN 2285-6064.

2017

SCHRIMPELOVÁ, K.; MALÁ, J.; BÍLKOVÁ & Z.; HRICH, K. (2017): *Suitability of denitrifying woodchip bioreactor outflows for use in irrigation*. In: MendelNet 2017 - Proceedings of 24th International PhD Students Conference, Mendel University in Brno. Brno. ISBN 978-80-7509-529-9.

MALÁ, J.; SCHRIMPELOVÁ, K.; TŮMA, A; BÍLKOVÁ, Z. & HRICH, K. (2017): *Assessment of river water quality in the Moravian Karst, Czech Republic*. In: SGEM Conference Proceedings, STEF92 Technology Ltd., 51 Alexander Malinov Blvd., 1712. Sofie, Bulharsko. ISSN 1314-2704. ISBN 978-619-7408-09-6.

SCHRIMPELOVÁ, K.; MARŠÁLKOVÁ, E.; MALÁ, J.; BÍLKOVÁ, Z. & HRICH, K. (2017): *Leachability of denitrifying bioreactor fillings*. In: SGEM Conference Proceedings, STEF92 Technology Ltd., 51 Alexander Malinov Blvd., 1712. Sofie, Bulharsko. ISSN 1314-2704. ISBN 978-619-7408-09-6.

Další příspěvky na konferencích

2019

SCHRIMPELOVÁ, K. (2018): *Odstávky denitrifikačních bioreaktorů s náplní na bázi dřeva*. In: JUNIORSTAV 2019 - 21. odborná konference doktorského studia s mezinárodní účastí, ECON publishing. Brno. ISBN 978-80-86433-71-4.

2018

HRICH, K.; SCHRIMPELOVÁ, K.; MALÁ, J.; BÍLKOVÁ, Z. & KRIŠKA-DUNAJSKÝ, M. (2018): *Návrh in situ denitrifikačního bioreaktoru*. In: Zborník posterov 10. bienálnej konferencie s medzinárodnou účasťou Odpadové vody 2018, Asociácia čistiarenských expertov Slovenskej republiky. Bratislava, Slovenská republika. ISBN 978-80-973196-0-1.

BÍLKOVÁ, Z.; HRICH, K.; MALÁ, J.; SCHRIMPELOVÁ, K. & KRIŠKA-DUNAJSKÝ, M. (2018): *Start-Up Phase of Denitrifying Bioreactors Used For Agricultural Runoff Treatment*. In: Agriculture for Life, Life for Agriculture - Conference Proceedings, University of Agricultural Sciences & Veterinary Medicine Bucharest. Bukurešť, Rumunsko. ISSN 2457-3248.

SCHRIMPELOVÁ, K. & BÍLKOVÁ, Z. (2018): *Denitrifikační bioreaktory s náplní na bázi dřeva a možnosti zmírnění negativního vlivu*. In: Mladá voda břehy mele 2018 Sborník příspěvků konference. Young Water Professionals Czech Republic, Asociace pro vodu ČR. Brno. ISBN: 978-80-270-3802-2.

SCHRIMPELOVÁ, K. (2018): *Použitelnost ekotoxikologických biotestů pro vodné výluhy dřevních materiálů*. In: JUNIORSTAV 2018 - 20. odborná konference doktorského studia s mezinárodní účastí, ECON publishing. Brno. ISBN 978-80-86433-69-1.

2017

SCHRIMPELOVÁ, K. (2017): *Odstraňování dusičnanů z drenážních vod in situ*. In: Zborník prednášok 6. ročníka Konferencie mladých výskumníkov – KOMVY 2017, SPEKTRUM STU. Bratislava, Slovenská republika. ISBN 978-80-227-4749-3.

BÍLKOVÁ, Z.; HRICH, K.; KRIŠKA-DUNAJSKÝ, M.; SCHRIMPELOVÁ, K. & MALÁ, J. (2017): *Holistický přístup k hodnocení denitrifikačních bioreaktorů*. In: Sborník přednášek a posterových sdělení z 12. bienální konference a výstavy VODA 2017, Tribun EU, s.r.o.. Brno. ISBN 978-80-263-1322-9.

MALÁ, J.; SCHRIMPELOVÁ, K. & TŮMA, A. (2017): *Ochrana vod v CHKO Moravský kras*. In: Sborník přednášek a posterových sdělení z 12. bienální konference VODA 2017, Tribun EU, s.r.o.. Brno. ISBN 978-80-263-1322-9.

SCHRIMPELOVÁ, K. (2017): *Výluhy náplní denitrifikačních bioreaktorů*. In: Sborník abstraktů konference Juniorstav 2017, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta stavební. Brno. ISBN 978-80-214-5473-6.

2016

MALÁ, J.; KRIŠKA-DUNAJSKÝ, M.; HRICH, K.; KRÁLOVÁ, H.; BÍLKOVÁ, Z. & SCHRIMPELOVÁ, K. (2016): *Náplně bioreaktorů pro odstranění dusičnanů ze zemědělských smyvů in situ*. In: Zborník prednášok 9. bienálnej konferencie s medzinárodnou účasťou Odpadové vody 2016, Asociácia čistiarenských expertov Slovenskej republiky. Bratislava, Slovenská republika. ISBN 978-80-89882-00-7.

SCHRIMPELOVÁ, K. (2016): *Statické testy náplní denitrifikačních bioreaktorů*. In: Zborník posterov 9. bienálnej konferencie s medzinárodnou účasťou Odpadové vody 2016, Asociácia čistiarenských expertov Slovenskej republiky. Bratislava, Slovenská republika. ISBN 978-80-89882-00-7.

SCHRIMPELOVÁ, K. (2016): *Srovnání změn kvality vody Jedovnického potoka v povrchovém toku a při průtoku jeskynním systémem*. In: Studentská geologická konference 2016, Masarykova univerzita. Brno. ISBN 978-80-210-8265-6.

SCHRIMPELOVÁ, K. (2016): *Denitrifikační bioreaktory v laboratorních podmínkách*. In: Sborník příspěvků konference Juniorstav 2016, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta stavební. Brno. ISBN 978-80-214-5311-1.

2015

KRIŠKA-DUNAJSKÝ, M.; MALÁ, J.; KRÁLOVÁ, H.; HRICH, K.; NĚMCOVÁ, M.; SCHRIMPELOVÁ & K.; HNÁTKOVÁ, T. (2015): *Možnosti odstraňování dusičnanů ze zemědělských smyvů in situ*. In: Sborník přednášek a posterových sdělení z 11. bienální konference a výstavy VODA 2015, Tribun EU, s.r.o.. Brno. ISBN 978 80 263 0971 0.

GRUBEROVÁ, E.; SCHRIMPELOVÁ, K. & MALÁ, J. (2015): *Monitoring Jedovnického a Rudického potoka*. In: Řešení extrémních požadavků na čištění odpadních vod: Sborník příspěvků, Tribun EU s.r.o. Brno. ISBN 978-80-263-0884-3.

9. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

B	... bilance
BSK_X	... biochemická spotřeba kyslíku po X dnech
C_{anorg}	... anorganický uhlík
c_m	... hmotnostní koncentrace
C_{org}	... organický uhlík
d	... délka
DNRA	... disimilační nitrátová redukce (Dissimilatory Nitrate Reduction to Ammonium)
DOC	... rozpuštěný organický uhlík
EC_{50}	... koncentrace způsobující 50% inhibici daného parametru
f	... fluorescence
HRT	... střední doba zdržení (Hydraulic Retention Time)
$CHSK_{Cr}$... chemická spotřeba kyslíku (oxidace dichromanem draselným)
I	... inhibice/imobilizace
κ	... elektrická konduktivita
m	... hmotnost
\dot{m}	... hmotnostní tok
n	... počet
n_n	... pórovitost
N_{anorg}	... anorganicky vázaný dusík
NEK	... normy environmentální kvality
$N-NH_4^+$... celkový amoniakální dusík (součet $N-NH_4^+$ a $N-NH_3$)
$N-NO_2^-$... dusitanový dusík
$N-NO_3^-$... dusičnanový dusík
NOEL	... koncentrace bez pozorovaného účinku
N_{org}	... organicky vázaný dusík
N-ox	... oxidované formy dusíku ($N-NO_2^- + N-NO_3^-$)
η	... účinnost denitrifikace
ORP	... oxidačně-redukční potenciál
Q	... průtok
r	... exponenciální rychlostní konstanta vyluhování
R^2	... koeficient determinace

r_D	... specifická rychlost denitrifikace
r_{CHSK}	... rychlost vyluhování $CHSK_{Cr}$
$r_{CHSK}(0)$... rychlost vyluhování $CHSK_{Cr}$ v čase 0
s	... obsah sušiny
t	... čas
T	... teplota
TKN	... Kjeldahlův dusík
TN	... celkový dusík
TOC	... celkový organický uhlík
TP	... celkový fosfor
TSK	... teoretická spotřeba kyslíku
θ	... asymptotická rychlost vyluhování
V	... objem
v	... vlhkost

10. SEZNAM OBRÁZKŮ

- Obr. 2.3.1. Koloběh dusíku (Malá, 2007)
- Obr. 2.3.2. Diagram převažující existence systému $\text{NH}_3\text{--NH}_4^+\text{--N}_2\text{--NO}_3^-$ (N_2 uvažován jako aktivní komponenta, $T=25\text{ }^\circ\text{C}$, $I=0$) vlevo, diagram převažující existence systému $\text{NO}_2^-\text{--NO}_3^-\text{--NH}_4^+\text{--NH}_3$ (N_2 uvažován jako inaktivní komponenta, $T=25\text{ }^\circ\text{C}$, $I=0$) vpravo (Pitter, 2015)
- Obr. 2.5.1. Umístění denitrifikačních bioreaktorů ve formě lože (vlevo) a clony (vpravo) bez použití drenážního potrubí (Schipper *et al.*, 2010a)
- Obr. 2.5.2. Schéma denitrifikačního lože s použitím drenážního potrubí (Christianson, 2011, upraveno)
- Obr. 4.3.1. Schéma denitrifikační kolony a foto skutečných testovacích kolon
- Obr. 5.1.1. Parametry výluhů neupravených materiálů – CHSK_{Cr} , BSK_5 a DOC
- Obr. 5.1.2. Parametry výluhů neupravených materiálů – TKN, TN a TP (hodnoty TN u dubu a TP u akátu nebyly stanoveny)
- Obr. 5.1.3. Toxický účinek výluhu akátu na *Sinapis alba* – vlevo výluh, vpravo kontrola
- Obr. 5.1.4. Parametry trojnásobných statických výluhů neupravených materiálů – CHSK_{Cr} , BSK_5 a DOC
- Obr. 5.1.5. Parametry trojnásobných statických výluhů neupravených materiálů – TN a TP
- Obr. 5.2.1. Parametry filtrovaných výluhů neupravených a upravených materiálů – CHSK_{Cr} , BSK_5 a DOC
- Obr. 5.2.2. Parametry filtrovaných výluhů neupravených a upravených materiálů – pH a konduktivita.
- Obr. 5.3.1. Vývoj CHSK_{Cr} a BSK_5 na odtoku z kolony v náběhové fázi
- Obr. 5.3.2. Vývoj koncentrací N-NH_4^+ a TKN na odtoku z kolony v náběhové fázi
- Obr. 5.3.3. Vývoj N-NO_3^- na odtoku z kolony v náběhové fázi
- Obr. 5.3.4. Vývoj účinnosti denitrifikace v náběhové fázi
- Obr. 5.3.5. Vývoj denitrifikační rychlosti v náběhové fázi
- Obr. 5.3.6. Vývoj pH na odtoku z kolony v náběhové fázi s vyznačením optima
- Obr. 5.4.1. Vývoj CHSK_{Cr} na odtoku z kolon mezi odstávkami a změny průtoku
- Obr. 5.4.2. Vývoj BSK_5 na odtoku z kolon mezi odstávkami a změny průtoku
- Obr. 5.4.3. Vývoj N-NH na odtoku z kolon mezi odstávkami a změny průtoku
- Obr. 5.4.4. Vývoj TKN na odtoku z kolon mezi odstávkami a změny průtoku
- Obr. 5.4.5. Koncentrace CHSK_{Cr} ve vodě stagnující v koloně na konci odstávky a průměrná koncentrace na odtoku z kolon po 4 dnech
- Obr. 5.4.6. Koncentrace BSK_5 ve vodě stagnující v koloně na konci odstávky a průměrná koncentrace na odtoku z kolon po 7 dnech

- Obr. 5.4.7. Koncentrace N-NH_4^+ ve vodě stagnující v koloně na konci odstávky a průměrná koncentrace na odtoku z kolon po 4 dnech
- Obr. 5.4.8. Koncentrace TKN ve vodě stagnující v koloně na konci odstávky a průměrná koncentrace na odtoku z kolon po 4 dnech
- Obr. 5.4.9. Vývoj N-NO_3^- na odtoku z kolon mezi odstávkami a změny průtoku
- Obr. 5.4.10. Vývoj účinnosti denitrifikace mezi odstávkami a změny průtoku
- Obr. 5.4.11. Vývoj r_D mezi odstávkami a změny průtoku
- Obr. 5.4.12. Vývoj pH na odtoku z kolon mezi odstávkami s vyznačením optima a změny průtoku
- Obr. 5.5.1. Vývoj CHSK_{Cr} a BSK_5 na odtoku z kolon s různou HRT
- Obr. 5.5.2. Vývoj CHSK_{Cr} na odtoku u kolon s různou vstupní koncentrací N-NO_3^-
- Obr. 5.5.3. Vývoj BSK_5 na odtoku u kolon s různou vstupní koncentrací N-NO_3^-
- Obr. 5.5.4. Vývoj N-NO_3^- na odtoku u kolon s různou vstupní koncentrací N-NO_3^-
- Obr. 5.5.5. Vývoj účinnosti denitrifikace u kolon s různou vstupní koncentrací N-NO_3^-
- Obr. 5.5.6. Průběh teploty během provozu kolon
- Obr. 5.5.7. Vývoj CHSK_{Cr} na odtoku z kolon při změně teploty
- Obr. 5.5.8. Rychlosti vyluhování CHSK_{Cr} v čase – průměr z kolon D1 a D2 a modelový průběh bez vlivu teploty
- Obr. 5.6.1. Kořenový systém testovaných rostlin *Raphanus sativus* při testu statických výluhů – zleva kontrola, směs a topol
- Obr. 5.7.1. Průměrné součiny váhy a hmotnostní bilance vybraných ukazatelů a výsledný parametr SI u etap s nejpříznivějšími výsledky
- Obr. 5.7.2. Rychlosti vyluhování CHSK_{Cr} v čase

11. SEZNAM TABULEK

- Tab. 4.5.1. Kategorie hodnocení toxicity na základě inhibice/imobilizace *Sinapis alba*, *Daphnia magna* a *Raphidocelis subcapitata*
- Tab. 4.5.2. Kategorie hodnocení toxicity na základě inhibice *Raphanus sativus*
- Tab. 4.6.1. Roční průměr přípustného znečištění dle Nařízení vlády č. 401/2015 Sb. u vybraných ukazatelů kvality povrchové vody a jejich váhy
- Tab. 5.1.1. Parametry testovaných materiálů a jejich vyluhování
- Tab. 5.1.2. Fyzikálně-chemické parametry filtrovaných výluhů neupravených materiálů
- Tab. 5.1.3. Koncentrace nízkomolekulárních monobazických fenolických sloučenin ve výluzích neupravených materiálů (Schrimpelová *et al.*, 2018a)
- Tab. 5.1.4. Výsledky ekotoxikologických biotestů výluhů neupravených materiálů v % inhibice a celkové výsledky baterie testů (Schrimpelová & Malá, 2017, Schrimpelová *et al.*, 2017b)
- Tab. 5.1.5. Převzaté hodnoty EC50 pro sledované sloučeniny testované na *Daphnia magna* (U.S. EPA – ECOTOX)
- Tab. 5.1.6. Převzaté hodnoty EC50 pro fenol testovaný na *Raphidocelis subcapitata* (U.S. EPA – ECOTOX)
- Tab. 5.1.7. Převzaté hodnoty EC50 pro fenol a o-kresol testované na semenech vyšších rostlin (U.S. EPA – ECOTOX)
- Tab. 5.1.8. Fyzikálně-chemické parametry trojnásobných filtrovaných výluhů – směs borovice s modřínem a topol
- Tab. 5.1.9. Fyzikálně-chemické parametry trojnásobných filtrovaných výluhů – buk a smrk
- Tab. 5.1.10. Množství látek vyluhovaných celkem při trojnásobném výluhu vztažené na hmotnost sušiny materiálu
- Tab. 5.2.1. Parametry testovaných materiálů a jejich vyluhování
- Tab. 5.2.2. Fyzikálně-chemické parametry filtrovaných výluhů upravených materiálů
- Tab. 5.2.3. Výsledky ekotoxikologických biotestů výluhu neupravených a upravených materiálů v % inhibice a celkové výsledky baterie testů
- Tab. 5.3.1. Parametry náplně a provozní parametry denitrifikačních kolon v náběhové fázi
- Tab. 5.3.2. Srovnání CHSK_{Cr} a BSK₅ na odtoku z kolon v 1. týdnu provozu a ve 24h statickém výluhu
- Tab. 5.3.3. Provozní parametry ovlivňující vyluhování, koncentrace CHSK_{Cr} a BSK₅ na začátku a na konci náběhové fáze a jejich celkové vyluhování za 9 týdnů
- Tab. 5.3.4. Provozní parametry, ukazatele denitrifikace na konci náběhové fáze a celkové odstranění N- NO₃⁻ za 9 týdnů
- Tab. 5.4.1. Parametry náplně kolon pro sledování vlivu odstavěk
- Tab. 5.4.2. Koncentrace N-NO₃⁻ na vstupu a způsobu odstavky dvojic kolon

- Tab. 5.4.3. Etapy provozu kolon a HRT v jednotlivých etapách mezi odstávkami
- Tab. 5.5.1. Parametry náplně a provozní parametry denitrifikačních kolon s různou HRT
- Tab. 5.5.2. Celkové vyluhování organických látek za 9 týdnů
- Tab. 5.6.1. Výsledky ekotoxikologických biotestů na *Raphanus sativus* – procento vyklíčených rostlin po 7 dnech a inhibice výtěžku biomasy nadzemní části rostlin
- Tab. 5.7.1. Proměnné exponenciální modelu a koeficient determinace
- Tab. 5.7.2. Celkové vyluhování CHSK_{Cr} uvolněné z 1 m^3 náplně po 1 a po 10 letech a změna rychlosti vyluhování CHSK_{Cr} v závislosti na použitém materiálu náplně

12. SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha 1. Testované materiály
- Příloha 2. Fotodokumentace – statické testy vyluhovatelnosti a kolonové testy
- Příloha 3. Fotodokumentace – ekotoxikologické biotesty
- Příloha 4. Fotodokumentace – ekotoxikologické biotesty na *Raphanus sativus*
- Příloha 5. Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických vyluzích neupravených materiálů – Test na semenech *Sinapis alba*
- Příloha 6. Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických vyluzích neupravených materiálů – Zkouška inhibice pohyblivosti *Daphnia magna*
- Příloha 7. Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických vyluzích neupravených materiálů – Test inhibice růstu *Raphidocelis subcapitata*
- Příloha 8. Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických vyluzích materiálů upravených vysušením – Test na semenech *Sinapis alba*
- Příloha 9. Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických vyluzích materiálů upravených vysušením – Zkouška inhibice pohyblivosti *Daphnia magna*
- Příloha 10. Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických vyluzích materiálů upravených vysušením – Test inhibice růstu *Raphidocelis subcapitata*
- Příloha 11. Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických vyluzích neupravených materiálů – 5týdenní test inhibice růstu *Raphanus sativus*
- Příloha 12. Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na odtoku z kolon v náběhové fázi – 4týdenní test inhibice růstu *Raphanus sativus*

13. PŘÍLOHY

Příloha 1. Testované materiály



Směs – směs kůry borovice a modřínu
(*Pinus* sp. a *Larix* sp.)



Dub – dubová štěpka (*Quercus* sp.)



Topol – topolová štěpka (*Populus* sp.)



Buk – buková štěpka (*Fagus* sp.)



Akát – akátová štěpka
(*Robinia pseudoacacia*)



Smrk – smrková štěpka (*Picea abies*)



Mulč – borová mulčovací kůra
(*Pinus* sp.)

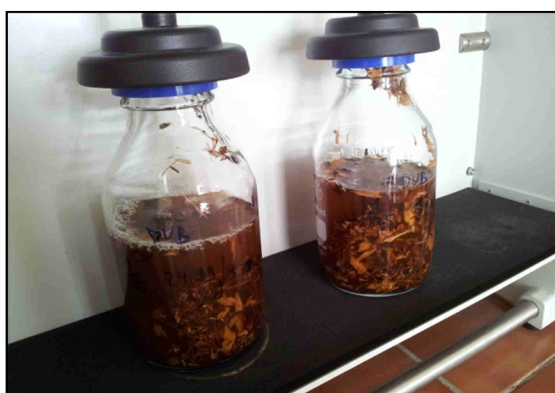
Příloha 2. Fotodokumentace – statické testy vyluhovatelnosti a kolonové testy



Statické testy vyluhovatelnosti – rotační třepačka



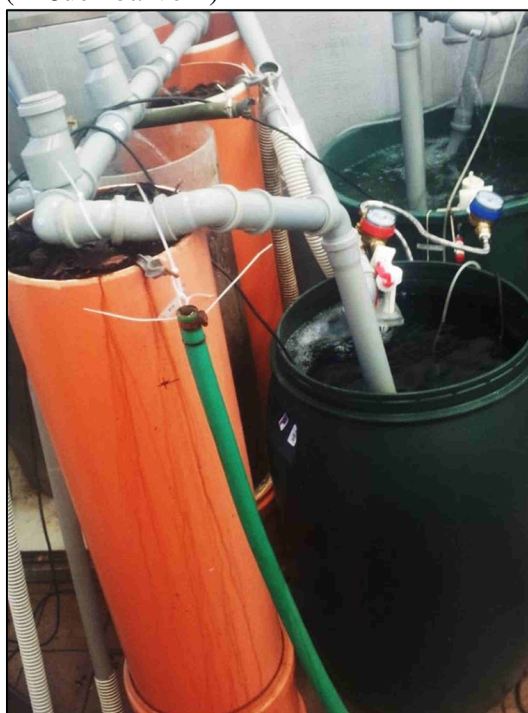
Statické testy vyluhovatelnosti – výluhy různých materiálů



Nadměrné vyluhování dubové štěpky (hnědé zbarvení)



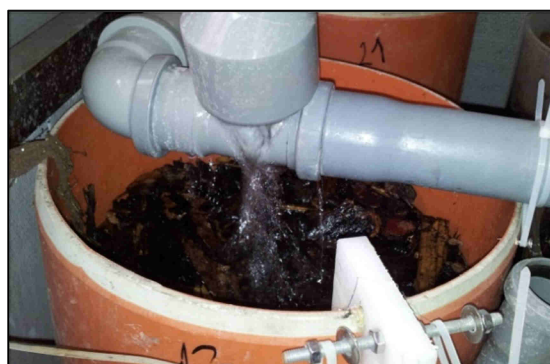
Odtok z kolon – odebrané vzorky



Kolony s dávkovacími barely

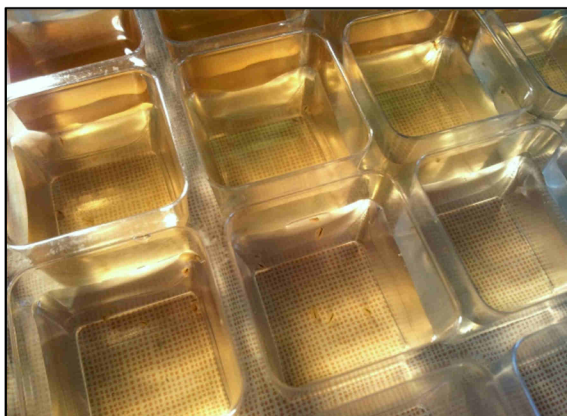


Odtok z kolon s různou náplní – vzorky



Napouštění kolony

Příloha 3. Fotodokumentace – ekotoxikologické biotesty



Daphnia magna – test v 30-jamkových destičkách



Sinapis alba – měření délky kořene



Sinapis alba – příprava Petriho misek s filtračním papírem



Raphanus sativus – sázení semen do zeminy



Raphidocelis subcapitata – 96-jamkové mikrotitrační destičky



Raphanus sativus – stanovení sušiny nadzemní části

*Příloha 4. Fotodokumentace – ekotoxikologické biotesty na *Raphanus sativus**

4 dny



Kontrola



Směs



Topol

1 týden



Kontrola



Směs



Topol

4 týdny



Kontrola



Směs



Topol

5 týdnů



Kontrola



Směs



Topol

Příloha 5. Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických výluzích neupravených materiálů – Test na semenech Sinapis alba

Směs	Délky kořene, mm					
	Kontrola			Výluh		
	A	B	C	A	B	C
1	53	45	55	58	48	65
2	58	43	42	47	30	19
3	63	32	45	48	24	61
4	60	43	30	49	43	40
5	45	8	34	45	55	56
6	53	56	51	52	39	33
7	48	40	51	65	42	31
8	47	35	44	52	35	57
9	40	36	43	27	51	51
10	37	44	31	38	56	66
11	40	42	58	52	33	51
12	68	28	72	38	49	45
13	60	31	40	62	43	28
14	42	36	33	39	30	49
15	48	42	47	49	46	39
16	65	41	10	56	42	48
17	37	1	33	58	23	70
18	36	8	48	40	67	61
19	60	33	53	19	44	53
20	57	33	48	38	68	48
21	56	45	46	28	49	48
22	72	33	33	24	30	70
23	60	22	54	57	48	52
24	57	31	22	51	53	27
25	50	39	55	54	30	27
26	56	5	36	45	35	46
27	53	33	18	15	36	67
28	40	32	39	28	30	68
29	46	25	4	30	10	1
30	60	0	1	0	1	1
Počet vyklíčených semen	30	29	30	30	30	30
Průměr délky, mm	52,2	31,4	39,2	42,1	39,7	45,9

Průměrná délka v kontrole: 40,9 mm

Průměrná délka ve výluhu: 42,6 mm

Inhibice růstu kořene: -4 %

Příloha 5 (pokračování). Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických výluzích neupravených materiálů – Test na semenech Sinapis alba

Dub	Délky kořene, mm					
	Kontrola			Výluh		
	A	B	C	A	B	C
1	62	33	51	18	24	20
2	64	72	42	10	28	21
3	44	66	65	19	23	28
4	54	60	39	15	39	31
5	49	43	54	13	29	33
6	29	55	34	24	21	41
7	84	67	55	25	24	28
8	41	53	63	22	16	24
9	18	70	54	26	23	15
10	32	51	55	19	31	27
11	30	33	55	23	18	28
12	49	36	12	17	28	19
13	74	63	45	26	22	23
14	58	42	31	9	24	15
15	84	43	38	23	15	11
16	74	56	33	8	24	9
17	63	60	37	15	20	1
18	56	35	54	25	20	23
19	59	69	32	24	21	22
20	65	65	48	32	18	9
21	63	60	57	25	35	24
22	51	65	42	25	10	1
23	68	73	53	20	11	15
24	43	44	20	18	18	1
25	52	56	26	19	7	18
26	41	63	51	8	32	7
27	32	42	39	12	28	0
28	42	27	42	6	13	1
29	57	56	56	1	14	10
30	16	22	13	8	1	8
Počet vyklíčených semen	30	30	30	30	30	29
Průměr délky, mm	51,8	52,7	43,2	17,8	21,2	17,1

Průměrná délka v kontrole: 49,2 mm

Průměrná délka ve výluhu: 18,7 mm

Inhibice růstu kořene: 62 %

Příloha 5 (pokračování). Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických výluzích neupravených materiálů – Test na semenech Sinapis alba

Topol	Délky kořene, mm					
	Kontrola			Výluh		
	A	B	C	A	B	C
1	63	58	53	88	36	32
2	52	55	35	62	68	56
3	45	48	37	62	59	61
4	13	48	52	38	82	30
5	38	54	58	49	72	36
6	69	54	56	63	48	61
7	43	45	59	33	17	11
8	47	53	62	58	58	42
9	49	56	54	56	57	12
10	48	63	31	54	48	65
11	41	43	31	40	52	35
12	40	75	38	70	62	69
13	59	8	56	22	26	42
14	49	56	37	31	10	34
15	46	52	70	48	27	40
16	59	45	48	20	72	17
17	47	59	35	58	40	30
18	39	50	51	48	47	42
19	56	56	58	28	35	52
20	32	42	36	61	14	35
21	14	40	35	21	43	72
22	69	72	56	48	32	46
23	76	59	42	53	60	18
24	50	34	13	29	40	42
25	8	52	54	50	10	37
26	51	45	18	22	38	47
27	49	53	49	11	25	18
28	51	53	48	62	5	35
29	1	31	21	4	1	10
30	19	45	60	3	23	8
Počet vyklíčených semen	30	30	30	30	30	30
Průměr délky, mm	44,1	50,1	45,1	43,1	40,2	37,8

Průměrná délka v kontrole: 46,4 mm

Průměrná délka ve výluhu: 40,4 mm

Inhibice růstu kořene: 13 %

Příloha 5 (pokračování). Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických výluzích neupravených materiálů – Test na semenech Sinapis alba

Buk	Délky kořene, mm					
	Kontrola			Výluh		
	A	B	C	A	B	C
1	62	91	61	30	34	49
2	60	62	43	30	38	39
3	61	74	38	29	42	44
4	49	33	13	38	9	42
5	27	44	25	12	38	50
6	61	50	44	45	43	48
7	60	57	81	30	51	55
8	64	82	49	55	16	42
9	43	68	19	50	35	61
10	61	38	12	40	30	42
11	59	8	22	32	42	39
12	40	52	32	44	47	62
13	64	64	63	37	50	29
14	60	62	67	35	37	39
15	34	42	46	41	18	34
16	52	17	43	28	37	7
17	25	42	38	15	25	39
18	16	38	52	43	12	34
19	32	57	58	31	25	34
20	43	54	52	42	23	2
21	55	51	50	43	10	32
22	33	55	30	46	16	49
23	51	74	61	26	23	35
24	59	67	52	23	45	35
25	45	69	48	55	26	36
26	20	67	51	44	37	27
27	65	41	56	48	37	39
28	20	0	52	48	45	15
29	28	75	28	0	18	0
30	1	47	52	0	6	0
Počet vyklíčených semen	30	30	30	29	30	28
Průměr délky, mm	45,0	52,7	44,6	34,7	30,5	35,3

Průměrná délka v kontrole: 47,4 mm

Průměrná délka ve výluhu: 33,5 mm

Inhibice růstu kořene: 29 %

Příloha 5 (pokračování). Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických výluzích neupravených materiálů – Test na semenech Sinapis alba

Akát	Délky kořene, mm					
	Kontrola			Výluh		
	A	B	C	A	B	C
1	61	66	65	3	5	7
2	65	56	86	6	7	8
3	54	69	61	6	8	8
4	34	59	38	7	5	6
5	43	55	20	6	7	7
6	62	50	0	5	5	6
7	52	50	72	7	5	5
8	86	59	36	4	4	4
9	35	47	55	4	4	4
10	64	62	8	5	6	5
11	42	50	42	5	6	10
12	62	42	58	1	2	5
13	65	53	43	3	2	8
14	52	67	57	3	4	7
15	14	37	67	9	4	4
16	64	30	54	2	1	2
17	62	43	41	2	1	2
18	71	48	36	2	1	2
19	41	39	38	1	1	1
20	30	43	52	1	2	1
21	57	46	0	0	1	0
22	37	57	48	0	0	0
23	41	53	52	0	0	0
24	21	59	48	0	0	0
25	51	42	23	0	0	0
26	46	75	52	0	0	0
27	61	57	20	1	0	0
28	50	74	9	0	0	0
29	36	20	13	0	0	0
30	32	16	1	0	0	0
Počet vyklíčených semen	30	30	30	24	28	25
Průměr délky, mm	49,7	50,8	39,8	2,8	2,7	3,4

Průměrná délka v kontrole: 46,8 mm

Průměrná délka ve výluhu: 3,0 mm

Inhibice růstu kořene: 94 %

Příloha 5 (pokračování). Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických výluzích neupravených materiálů – Test na semenech Sinapis alba

Smrk	Délky kořene, mm					
	Kontrola			Výluh		
	A	B	C	A	B	C
1	65	54	36	50	37	44
2	82	42	63	47	42	53
3	55	25	49	51	63	52
4	40	38	50	53	48	47
5	34	46	53	38	57	50
6	53	53	62	35	38	46
7	45	42	66	32	46	40
8	57	47	0	14	50	35
9	52	61	61	42	46	25
10	54	50	54	51	25	44
11	58	56	51	38	44	32
12	62	56	31	33	52	27
13	48	62	46	30	40	41
14	34	38	65	45	68	43
15	47	64	58	41	43	45
16	44	33	10	56	27	36
17	63	67	81	32	45	39
18	73	62	26	47	28	13
19	72	54	15	25	49	39
20	1	48	67	38	2	35
21	50	34	50	31	32	41
22	43	51	49	36	17	40
23	56	37	59	39	42	24
24	57	69	48	33	56	34
25	29	12	39	42	35	34
26	58	43	38	39	36	45
27	30	54	41	37	28	44
28	58	65	50	40	1	37
29	8	41	62	41	1	30
30	46	60	11	48	37	28
Počet vyklíčených semen	30	30	30	30	30	30
Průměr délky, mm	49,1	48,8	46,4	39,5	37,8	38,1

Průměrná délka v kontrole: 48,1 mm

Průměrná délka ve výluhu: 38,5 mm

Inhibice růstu kořene: 20 %

Příloha 6. Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických výluzích neupravených materiálů – Zkouška inhibice pohyblivosti Daphnia magna

24 hodin

	Počet imobilizovaných jedinců						
	Kontrola	Směs	Dub	Topol	Buk	Akát	Smrk
1	0	0	5	0	0	5	1
2	0	0	5	0	0	5	0
3	0	0	5	1	0	5	0
4	0	0	5	1	0	5	0
Imobilizované celkem	0	0	20	2	0	20	1
Inhibice pohyblivosti, %	-	0	100	10	0	100	5

48 hodin

	Počet imobilizovaných jedinců						
	Kontrola	Směs	Dub	Topol	Buk	Akát	Smrk
1	0	0	5	0	0	5	1
2	0	0	5	1	1	5	0
3	0	0	5	3	0	5	0
4	0	0	5	4	1	5	0
Imobilizované celkem	0	0	20	8	2	20	1
Inhibice pohyblivosti, %	-	0	100	40	10	100	5

Příloha 7. Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických výluzích neupravených materiálů – Test inhibice růstu Raphidocelis subcapitata

	Kontrola	Směs	Dub	Topol	Buk	Akát	Smrk
A
B	25 682	24 917	2 568	29 931	6 327	9 035	16 097
C	26 572	22 184	3 569	30 367	8 186	13 844	16 511
D	25 083	25 515	3 149	29 055	8 115	8 490	15 307
E	22 206	23 496	3 846	31 670	8 472	11 632	15 084
F	24 433	21 509	3 249	31 369	9 394	11 564	13 176
G	26 057	25 194	2 556	30 540	5 986	5 593	12 115
H
Eliminace barvy		6 000	10 129	7 825	6 000	8 283	6 000
	Kontrola	Směs	Dub	Topol	Buk	Akát	Smrk
A
B	25 682	30 917	12 697	37 756	12 327	17 318	22 097
C	26 572	28 184	13 698	38 192	14 186	22 127	22 511
D	25 083	31 515	13 278	36 880	14 115	16 773	21 307
E	22 206	29 496	13 975	39 495	14 472	19 915	21 084
F	24 433	27 509	13 378	39 194	15 394	19 847	19 176
G	26 057	31 194	12 685	38 365	11 986	13 876	18 115
H
Inhibice, %	-	-19	47	-53	45	27	17

Příloha 8. Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických výluzích materiálů upravených vysušením – Test na semenech Sinapis alba

Topol - upravený	Délky kořene, mm					
	Kontrola			Výluh		
	A	B	C	A	B	C
1	71	56	52	73	48	54
2	56	62	49	67	64	66
3	56	46	57	41	67	66
4	36	48	46	72	66	55
5	64	49	66	57	46	27
6	64	58	65	58	60	54
7	15	57	56	45	41	73
8	70	47	62	53	44	19
9	48	59	47	69	47	71
10	51	46	28	69	64	64
11	52	43	55	36	64	73
12	43	32	17	46	30	53
13	23	68	49	61	69	41
14	57	35	52	47	79	23
15	57	28	46	64	32	47
16	60	66	41	81	72	64
17	42	61	60	51	36	58
18	37	64	50	56	57	61
19	51	61	35	70	37	31
20	51	56	31	68	43	42
21	50	63	29	44	47	54
22	47	27	43	53	54	46
23	44	46	56	67	36	47
24	67	55	38	79	47	44
25	35	50	43	19	38	22
26	9	61	57	47	72	79
27	27	49	35	56	53	28
28	45	43	24	17	48	12
29	0	65	7	37	38	63
30	7	1	6	38	21	1
Počet vyklíčených semen	30	30	30	30	30	30
Průměr délky, mm	44,5	50,1	43,4	54,7	50,7	47,9

Průměrná délka v kontrole: 46,0 mm

Průměrná délka ve výluhu: 51,1 mm

Inhibice: -11 %

Příloha 8 (pokračování). Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických vyluzích materiálů upravených vysušením – Test na semenech Sinapis alba

Buk - upravený	Délky kořene, mm					
	Kontrola			Výluh		
	A	B	C	A	B	C
1	80	36	59	11	21	16
2	71	48	56	22	29	18
3	63	36	68	22	19	23
4	57	48	72	19	23	16
5	20	56	46	21	15	18
6	59	38	42	26	12	20
7	47	71	67	19	26	12
8	46	46	5	15	16	15
9	70	51	55	12	18	9
10	39	29	43	10	16	18
11	50	53	37	10	17	25
12	29	33	58	32	14	21
13	37	60	42	19	18	16
14	72	42	53	14	18	19
15	36	52	80	11	13	10
16	35	63	39	11	27	21
17	37	42	16	16	26	18
18	38	70	56	19	15	14
19	41	49	42	13	14	10
20	49	38	37	19	21	16
21	47	26	51	13	10	23
22	36	5	52	20	14	18
23	46	42	63	13	4	19
24	61	76	34	19	16	24
25	34	39	65	5	13	15
26	63	52	42	8	1	5
27	47	46	33	12	1	4
28	24	52	46	1	0	1
29	3	38	64	0	0	1
30	10	59	15	0	1	0
Počet vyklíčených semen	30	30	30	28	28	29
Průměr délky, mm	44,9	46,5	47,9	14,4	14,6	14,8

Průměrná délka v kontrole: 46,5 mm

Průměrná délka ve výluhu: 14,6 mm

Inhibice: 69 %

Příloha 8 (pokračování). Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických vyluzích materiálů upravených vysušením – Test na semenech Sinapis alba

Smrk - upravený	Délky kořene, mm					
	Kontrola			Výluh		
	A	B	C	A	B	C
1	50	45	46	23	17	22
2	53	49	61	23	21	6
3	46	68	62	22	19	10
4	44	38	54	11	14	20
5	33	44	49	20	18	9
6	53	47	34	12	10	25
7	20	41	32	21	17	12
8	56	68	41	15	23	9
9	54	39	36	16	12	18
10	59	55	19	14	16	17
11	59	62	43	11	18	24
12	46	39	54	15	14	15
13	49	49	43	26	24	13
14	33	57	57	13	19	18
15	34	42	59	11	12	14
16	67	38	50	18	24	25
17	60	34	38	15	16	11
18	26	29	48	18	12	10
19	48	47	28	21	17	16
20	52	46	46	18	21	24
21	51	72	49	18	12	8
22	32	49	42	23	26	18
23	36	42	47	20	11	7
24	51	35	57	9	14	10
25	27	49	26	18	12	6
26	53	59	67	15	3	2
27	44	46	56	14	6	5
28	67	42	49	8	12	1
29	20	39	42	5	8	17
30	74	59	45	2	0	0
Počet vyklíčených semen	30	30	30	30	29	29
Průměr délky, mm	46,6	47,6	46,0	15,8	14,9	13,1

Průměrná délka v kontrole: 46,7 mm

Průměrná délka ve výluhu: 14,6 mm

Inhibice: 69 %

Příloha 9. Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických vyluzích materiálů upravených vysušením – Zkouška inhibice pohyblivosti Daphnia magna

24 hodin

	Počet imobilizovaných jedinců			
	Kontrola	Topol	Buk	Smrk
1	0	0	3	4
2	0	1	3	4
3	0	1	3	3
4	0	0	5	5
Imobilizované celkem	0	2	14	16
Inhibice pohyblivosti, %	0	10	70	80

48 hodin

	Počet imobilizovaných jedinců			
	Kontrola	Topol	Buk	Smrk
1	0	0	5	4
2	0	2	5	5
3	0	2	5	5
4	0	1	5	5
Imobilizované celkem	0	5	20	19
Inhibice pohyblivosti, %	0	25	100	95

*Příloha 10. Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických vyluzích materiálů upravených vysušením – Test inhibice růstu *Raphidocelis subcapitata**

	Kontrola	Topol	Buk	Smrk
A
B	44 167	28 253	15 387	15 583
C	38 956	31 837	17 149	17 202
D	37 432	31 828	16 661	18 077
E	40 709	32 162	16 634	17 236
F	42 156	31 584	18 690	17 569
G	40 940	32 610	17 420	15 955
H
Eliminace barvy		11 384	2 151	13 201
	Kontrola	Topol	Buk	Smrk
A
B	44 167	39 637	17 538	28 784
C	38 956	43 221	19 300	30 403
D	37 432	43 212	18 812	31 278
E	40 709	43 546	18 785	30 437
F	42 156	42 968	20 841	30 770
G	40 940	43 994	19 571	29 156
H
	Kontrola	Topol	Buk	Smrk
Inhibice, %	-	-5	53	26

*Příloha 11. Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na statických vyluzích neupravených materiálů – 5týdenní test inhibice růstu *Raphanus sativus**

		Hmotnost sušiny, g					
		Kontrola		Směs		Topol	
		A	B	A	B	A	B
1	A	0,1521	0,1202	0,2820	0,1924	0,1127	0,1674
	B	0,1672	0,2094	0,1936	0,1028	0,1285	0,1117
	C	0,1608	0,1614	0,0781	0,1606	0,2340	0,1862
2	A	0,1429	0,1712	0,2045	0,1656	0,1762	0,1386
	B	0,1554	0,2497	0,1495	0,2047	0,1560	0,1494
	C	0,1248	0,0992	0,1701	0,0911	0,2172	0,1748
3	A	0,1798	0,0939	0,1982	0,1539	0,2132	0,1065
	B	0,1945	0,2314	0,1289	0,1143	0,1556	0,2164
	C	0,1619	0,1556	0,1482	0,1837	0,1197	0,1509
4	A	0,1063	0,1830	0,1774	0,1310	0,2600	0,1113
	B	0,1814	0,1453	0,1805	0,2345	0,1858	0,1407
	C	0,2204	0,1390	0,1180	0,1526	0,1380	0,1332
5	A	0,1328	0,0892	0,2641	0,1704	0,1391	0,1297
	B	0,1027	0,1401	0,1517	0,1226	0,1278	0,2028
	C	0,1904	0,1901	0,0899	0,1543	0,1012	0,1636
6	A	0,2637	0,1657	0,1670	0,1582	0,1851	0,1838
	B	0,1558	0,1800	0,1889	0,1676	0,1548	0,2055
	C	0,1141	0,1435	0,1522	0,2763	0,1937	0,1002
7	A	0,1159	0,1295	0,1652	0,1729	0,2246	0,0987
	B	0,1539	0,0425	0,2006	0,2283	0,2736	0,2830
	C	0,1977	0,2491	0,1962	0,1226	0,0646	0,1054
8	A	0,1397	0,1164	0,1378	0,2099	0,2721	0,2322
	B	0,2257	0,1256	0,2476	0,1620	0,1531	0,0769
	C	0,1106	0,1731	0,1436	0,1019	0,1901	0,1898
9	A	0,0471	0,1837	0,1564	0,1425	0,1094	0,1916
	B	0,3104	0,1223	0,2110	0,2248	0,1299	0,1593
	C	0,0573	0,1549	0,1049	0,1631	0,1647	0,1147
10	A	0,1195	0,2381	0,1987	0,1705	0,1698	0,2013
	B	0,1466	0,1131	0,2132	0,2044	0,1596	0,0559
	C	0,1892	0,0682	0,1406	0,1281	0,1749	0,2153
Průměrná hmotnost sušiny, g		0,1574	0,1528	0,1720	0,1656	0,1695	0,1566
Inhibice, %		-		-8,8		-5,1	

Příloha 12. Výsledky ekotoxikologických biotestů provedených na odtoku z kolon v náběhové fázi – 4týdenní test inhibice růstu Raphanus sativus

		Hmotnost sušiny, g			
		Kontrola		Směs	
		A	B	A	B
1	A	0,1644	0,1400	0,1498	0,1243
	B	0,0910	0,1667	0,1007	0,1199
	C	0,0647	0,1541	0,0945	0,1154
2	A	0,0805	0,2250	0,0678	0,1548
	B	0,1385	0,1026	0,1390	0,1399
	C	0,1156	0,1089	0,1034	0,0864
3	A	0,1910	0,1905	0,1303	0,1130
	B	0,0554	0,1125	0,0993	0,2109
	C	0,0912	0,1043	0,1209	0,0986
4	A	0,1588	0,2020	0,1029	0,1933
	B	0,1196	0,1013	0,1305	0,1158
	C	0,0706	0,1640	0,1378	0,0967
5	A	0,1841	0,1480	0,0912	0,1918
	B	0,0816	0,1313	0,0998	0,1447
	C	0,0798	0,1621	0,1352	0,1412
6	A	0,1318	0,1124	0,1220	0,1088
	B	0,1044	0,1329	0,1110	0,1831
	C	0,1330	0,1819	0,0750	0,0933
7	A	0,1408	0,2060	0,1436	0,0936
	B	0,1291	0,1199	0,1182	0,0744
	C	0,1319	0,1438	0,1323	0,1529
8	A	0,1614	0,1018	0,0943	0,1417
	B	0,1414	0,1433	0,1506	0,0474
	C	0,0845	0,1203	0,1003	0,1079
9	A	0,2468	0,1183	0,1422	0,1596
	B	0,1295	0,1661	0,1318	0,0943
	C	0,1197	0,1209	0,0708	0,0993
10	A	0,0888	0,1026	0,2104	0,0963
	B	0,1460	0,0736	0,1216	0,1584
	C	0,0952	0,2069	0,0799	0,1423
Průměrná hmotnost sušiny, g		0,1224	0,1421	0,1169	0,1267
Inhibice, %		-		7,9	