

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Využití řas při čištění odpadních vod
Bakalářská práce**

Autor práce: Soňa Nováková

Obor studia: Udržitelné využívání přírodních zdrojů

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

© 2017-12-02 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Využití řas při čištění odpadních vod" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14.4. 2017 _____

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Pavlu Švehlovi Ph.D. za čas strávený konzultacemi, věcné připomínky a ochotu pomoci při tvorbě bakalářské práce.

Využití řas při čištění odpadních vod.

Souhrn

Tato bakalářská práce zpracovává problematiku využití řas při čištění odpadních vod. Odpadní vody se standardně čistí v procesu zahrnujícím primární tedy mechanické čištění, sekundární (biologické) čištění a případně i terciární dočišťování odpadní vody. Konvenční biologické čištění odpadních vod využívá v akivační nádrži činnost mikroorganismů kultivovaných ve formě tzv. aktivovaného kalu. Mikroorganismy používané v čistírnách odpadních vod jsou dvojího typu. Dělíme je na heterotrofní a autotrofní mikroorganismy. Heterotrofní mikroorganismy vyžadují přítomnost živin ve formě organických látek, čímž odstraňují organické znečištění z odpadní vody. Mezi autotrofní mikroorganismy patří například nitrifikační bakterie, které se podílejí na odstraňování dusíku. Řasy se řadí mezi autofototrofní organismy. Metoda čištění odpadní vody s jejich využitím vychází z principu, kdy řasy využívají sluneční záření, spotřebovávají oxid uhličitý a odstraňují anorganické látky z odpadních vod, přičemž produkují kyslík a biomasu. Při využití řas v procesu čištění odpadní vody je důležité zajistit dostatek slunečního záření a vhodnou teplotu. Metoda využívající řasy je výhodná hlavně díky úspoře energie nutné k aeraci, šetrnějšímu přístupu, snižování antropogenní produkce oxidu uhličitého a dalším možnostem, jak naložit se vzniklou biomasou řas. Sklizenou biomasu řas lze využít k výrobě biopaliva, na výrobu methanu, energie, hnojiv a k dalším účelům. V bakalářské práci jsou uvedeny rody řas, které lze pro účely čištění odpadních vod využít, podmínky nutné pro kultivaci biomasy řas a další faktory ovlivňující celý proces. Důležitou částí je také technické vybavení nutné pro kultivaci mikroskopických řas. Diskutovány jsou v rámci práce výhody a nevýhody systémů založených na využití řas ve srovnání s konvenčními postupy čištění odpadních vod.

Klíčová slova: řasy, odpadní voda, čištění odpadních vod, kultivace, biomasa

The Use of Algae for Wastewater Treatment

Summary

This Bachelor thesis solves the issue of the use of algae for wastewater treatment using. Usually, waste waters are treated by a standard process comprising of primary also called mechanical treatment, secondary treatment (biological) or even tertiary treatment of waste water. Conventional biological treatment of waste water takes place in the activation tank. In the activation tank, the activity of microorganisms cultivated in the form of so called activated sludge is used with the aim to remove the pollution. Microorganisms used for waste water treatment are of two basic types. We divide them on autotrophic and heterotrophic organism. Heterotrophic microorganisms require the presence of nutrients in the form of organic compounds thereby removing organic contamination from water. Among autotrophic microorganisms belong for example the nitrifying bacteria, which are involved in the removal of nitrogen. Algae belong to the autotrophic organisms. Method of the treatment of waste water with their use is based on the principle that the algae uses solar radiation, consume carbon dioxide and remove inorganic substances from waste water, producing oxygen and biomass. For successful using of algae in waste water treatment process, providing sufficient sunlight and a suitable temperature is essential. Method using algae is advantageous thanks to the savings of energy required for aeration, parsimonious access, reducing anthropogenic production of carbon dioxide and other options to deal with the resulting algal biomass. Harvested algal biomass can be used to produce biofuels for the production of methane, energy, fertilizers and for other purposes. In the thesis genera of algae which can be for wastewater treatment use are presented. Additionally, the conditions necessary for the cultivation of algal biomass and other factors affecting the process are mentioned. An important part is the technical equipment necessary for the cultivation of microalgae. Also the advantages and disadvantages of the systems based on the use of algae as compared with conventional methods of wastewater treatment are discussed.

Keywords: algae, wastewater, wastewater treatment, cultivation, biomass

Obsah

1. Úvod

2. Cíl práce

3. Řasy

3.1. Základní charakteristika řas

3.2. Taxonomické členění řas

3.3. Makroskopické řasy

3.4. Mikroskopické řasy

3.5. Rozmnožování řas

4. Řasy využívané k čištění odpadních vod

4.1. Chlorella

4.2. Eugena

4.3. Chlamydomonas

4.4. Scenedesmus

4.5. Nitzschia

4.6. Stigeoclonium

5. Konvenční čištění odpadních vod

6. Řasy v prostředí odpadních vod

6.1. Typické složení odpadních vod

6.2. Princip čištění odpadní vody mikroskopickými řasami

6.3. Prostředí pro kultivaci

6.4. Separace biomasy

6.5. Využití sklizené biomasy

7. Technické řešení

7.1. Možnosti kultivace

7.1.1. Otevřená kultivace

7.1.2. Vnitřní kultivace

8. Náklady na čištění odpadních vod řasami
9. Výhody a nevýhody využívání řas pro čištění odpadních vod
10. Další možnosti využití řas
11. Závěr
12. Přílohy
13. Seznam použité literatury

1. Úvod

Tématem bakalářské práce je využití řas při čištění odpadních vod. Práce se soustředí na seznámení čtenáře s metodou využívání mikroskopických řas v oblasti čištění odpadních vod. Jedná se o inovativní metodu, která ještě zatím není ve větší míře aplikovaná v praxi, ale je stále zkoumána a uvažována jako metoda využitelná k čištění odpadních vod v budoucnosti.

Principem této metody je využívání mikroskopických řas vybraných rodů k odstraňování anorganického znečištění z odpadní vody. Velkou výhodou této metody je fakt, že mikroskopické řasy jsou autotrofní organismy, které ke svému životu nepotřebují provzdušňování nádrží, což znamená velkou úsporu financí.

Jelikož mikroskopické řasy obsahují v buňkách chlorofyl, stačí jim k životu anorganické živiny v podobě znečišťujících látek obsažených v odpadní vodě, sluneční záření a oxid uhličitý. Kyslík vzniká jejich činností jako produkt. Díky jejich požadavkům na oxid uhličitý pro průběh fotosyntézy je dalším příznivým dopadem této metody snižování antropogenního vlivu společnosti na životní prostředí.

Realizaci této metody v praxi je navrhována dvěma základní principy kultivace mikroskopických řas a to buď metodou uzavřené, nebo otevřené kultivace.

Samotná kultivace mikroskopických řas podléhá určitým podmínkám, které jsou diskutovány v následujících kapitolách této bakalářské práce a budou dále rozebírány.

2. Cíl práce

Cílem práce je posoudit možnosti využití řas při čištění odpadních vod. Práce bude vypracována formou literární rešerše. Hlavní důraz bude přitom kladen na přehled mikroskopických řas využitelných pro čištění odpadních vod, presentovány budou různé varianty technologického řešení bioreaktorů využívajících aktivitu řas. Uvedeny budou typy odpadních vod, které je možno čistit s využitím řas včetně diskuze o možnostech zařazení bioreaktoru do fáze biologického čištění či dočištění.

3. Řasy

3.1. Základní charakteristika řas

Řasy jsou nejednotná skupina převážně fotoautotrofních organismů, které mají řadu společných znaků a jako celek představují určitou etapu ve fylogenezi fotoautotrofů vázaných na vodní prostředí. Z hlediska současného zařazení tato skupina zahrnuje několik oddělení zasahujících do tří říší (*Protozoa*, *Chromista*, *Plantae*). Zástupci se liší především submikroskopickou stavbou buněk, kombinací fotosyntetických pigmentů a chemickým složením zásobních látek. Vědní obor studující řasy se nazývá algologie popř. fykologie (Novák et Skalický, 2012).

Řasy se mohou vyskytovat a růst jako jednobuněčné, koloniální nebo ve vláknité formě. Mikroskopické řasy rostoucí v suspenzi ve vodním prostředí nazýváme fytoplankton. Bentické jsou mikroskopické řasy, které žijí na nebo ve sdružení se substrátem. Slovo perifyton se vztahuje na mikroskopické řasy rostoucí na substrátu spolu s dalším organismem a obecně je to vlastně synonymem pro biofilm mikroskopických řas (Stevenson, 1996).

Stejně jako rostlin i řasy využívají sluneční záření pro fotosyntézu. Fotosyntéza je významný biochemický proces, ve kterém řasy převádějí energii světla do energie chemických vazeb. Řasy zachycují sluneční energii díky fotosyntéze a převádějí anorganické sloučeniny na jednoduché cukry za využití zachycené energie (Stevenson, 1996).

Během dne jsou obvykle mikroskopické řasy v růstové fázi a dochází k fixaci uhlíku a energie skrze fotosyntézu. V noci autofototrofové využívají sacharidy, které naakumulovaly během dne pro syntézu proteinů, dělení buněk a dýchání. Potenciál nočního růstu je pravděpodobně ovlivňován komplexem faktorů prostředí, které zahrnují historii, stav živin a druhové složení populace (Boelee, 2013).

Nezávisle na systematickém zařazení do jednotlivých oddělení vykazují eukaryotické řasy určité obecně platné zákonitosti ve stavbě stélky, které jsou vysvětlovány jako organizační stupně v jejím vývoji. Stélky jsou jednobuněčné i mnohobuněčné (Novák et Skalický, 2012).

Mezi základní typy jednobuněčné stélky, které se u řas vyskytují, patří následující čtyři typy.

- a) Monadoidní – jednojaderná, bičíkatá, polární stavba
- b) Rhizopodová – jedno či mnohojaderná měňavkovitá stélka tvořící panožky různých typů
- c) Kapsální – odvozená od monadoidní, jednojaderná často s polární stavbou, obklopená slizem
- d) Kokální – jedno či mnohojaderná s pevnou často vrstevnatou stěnou

(Novák et Skalický, 2012)

Základní typy mnohobuněčné stélky lze rozlišit pomocí následujícího dělení do pěti skupin.

- a) Trichální – tvořena řadou jednojaderných buněk, může být jednoduchá nebo větvená
- b) Heterotrichální – odvozená rozvětvená stélka s funkčně a morfologicky rozlišenými větvemi
- c) Pletivná odvozená od předchozích dvou typů
- d) Sifonokladální – vláknitá nebo vakovitá jednoduchá nebo rozvětvená stélka z mnohojaderných buněk oddělených přepážkami
- e) Sifonální – vakovitá nebo vláknitá, vždy mnohojaderná

(Novák et Skalický, 2012)

3.2. Taxonomické členění řas

Klasifikace řas do taxonomických skupin je založena na stejných pravidlech jako klasifikace rostlin, ale organizace taxonomické skupiny řasy se podstatně změnila od roku 1960. Morfologický výzkum pomocí elektronových mikroskopů totiž zjistil a následně prokázal rozdíly ve vlastnostech jako je bičíkový aparát, proces dělení buněk, struktury organel a jejich funkce, které byly důležité v klasifikaci řas (Stace et Clive, 1994).

V současné době mezi řasy řadíme několik odlišných samostatných oddělení.

Chlorophyta – Zelené řasy

Chromophyta – Hnědé řasy

Rhodophyta – Ruduchy

Cryptophyta – Skrytěnky

Dinophyta – Obrněnky

Cyanobacteria – Sinice

Euglenophyta – Krásnoočka

Glaucophyta

Haptophyta

Chlorarachinophyta

(Novák et Skalický, 2012)

3.3. Makroskopické řasy

Jsou velké fotosyntetizující vodní rostliny, které můžeme spatřit i bez použití mikroskopu. Makroskopické řasy mají různé barvy jako je zelená, hnědá, červená a modrá. Mají také různé formy – některé rostou do výšky, jiné tvoří koberce. Mezi nejznámější obecně řadíme tři skupiny – *Chlorophyta*, *Rhodophyta* a *Phaeophyta* (Pedersen et al., 2008).

Populace makroskopických řas je velmi důležitá součástí biotopu a potravy pro mnoho mořských druhů stejně tak jako pro celý ekosystém. Makroskopické řasy se vyskytují v různých biotopech od arktických břehů až po tropické korálové útesy (Pedersen et al., 2008).

Makroskopické řasy lze sklízet v místě přirozeného výskytu, nebo na pobřežních konstrukcích. Makroskopické řasy se využívají na trhu s fytokoloidy jako je agar, algináty, karagenany (Stace et Clive, 1994).

3.4. Mikroskopické řasy

Definujeme je jako malé vodní fotosyntetické rostliny, které lze spatřit pomocí mikroskopu. Mikroskopické řasy jsou tedy tvořeny samostatnými buňkami, které mohou být ale spojeny do skupin buněk. Řasy mikroskopické zaznamenávají velký rozvoj v posledních desetiletích. Kultivují se v uměle vytvořených systémech - tzv. fotoreaktorech (Oh-Hama et. Miyachi, 1992).

3.5. Rozmnožování řas

Řasy se vyznačují velkou rozmanitostí ve způsobech rozmnožování. Vegetativní rozmnožování probíhá nejčastěji jako dělení u jednobuněčných řas, rozpad kolonií u koloniálních typů, nebo spočívá v rozpadu mnohobuněčných stélek. Při nepohlavním rozmnožování se uplatňují různé druhy pohyblivých i nepohyblivých výtrusů (spor), které vznikají uvnitř mateřské buňky. Pohyblivé výtrusy s bičíky se nazývají zoospory. Po roztržení buněčné stěny se nepohyblivé výtrusy i zoospory uvolní a postupně vyrostou v nové jedince (Kincl et al., 2006).

Vlivem zhoršování životních podmínek řasy často přecházejí na pohlavní rozmnožování. Při něm se spojují dvě haploidní pohlavní buňky gamety vznikající redukčním dělením v pohlavních orgánech zvaných gametangia v jednu diploidní buňku zygotu. Pohlavní orgány řasových organismů jsou vždy jednobuněčné. Pohlavní rozmnožování probíhá různými formami jako izogamie, anizogamie či oogamie (Kincl et al., 2006).

Jen u některých skupin se vyskytuje diploidní generace jako samostatný jedinec. V těchto případech dochází nejen ke střídání jaderných fází, ale i ke střídání generací zvané rodozměna (Kincl et al., 2006).

4. Řasy využívané k čištění odpadních vod

Řasy mohou být v rámci čištění odpadních vod využity pro různé účely, z nichž některé jsou zaměřeny na odstranění koliformních bakterií, snížení jak chemické spotřeby kyslíku (CHSK), tak biochemické spotřeby kyslíku (BSK), odstranění dusíku i fosforu a také odstranění těžkých kovů. S využitím řas je možno zpracovávat čistírenské kaly, odpad z chovu hospodářských zvířat, zemědělství a průmyslové odpadní vody (Adbel-Raouf et. al., 2012).

Řasy byly využity pro čištění komunálních vod v nádržích v omezeném měřítku již před mnoha lety. Mikroskopické řasy odstraňují anorganický dusík a fosfor z odpadních vod. Odstraňován je fosfor vyskytující se ve vodě ve formě fosforečnanů, dusík pak ve formě amoniaku, u nitrifikovaných odpadních vod pak v dusičnanové formě. Dochází k asimilaci těchto živin do biomasy řas. Asimilovaný dusík je využit pro syntézu proteinů a nukleových kyselin. Fosfor je také využit. Fosfolipidy jsou syntetizovány z fosforu a při dostatečném příjmu fosforu ve formě fosforečnanů může nastat i vnitřní ukládání v podobě polyfosfátů (Gonzalez et al., 1997).

Palmer roku 1969 uspořádal seznam řas v pořadí jejich tolerance organických polutantů. Seznam se skládá z 60 rodů a 80 druhů. Mezi nejvíce tolerantních osm rodů byly zařazeny *Euglena*, *Oscillatoria*, *Chlamydomonas*, *Scenedesmus*, *Chlorella*, *Nitzschia* a *Stigeoclonium* (Palmer, 1969).

Průzkum taxonů řas v systému šesti lagun v střední Asii byl dokončen Erganshevem a Tajievem roku 1986. Jejich analýza dlouhodobých dat odhalila, že zástupci z oddělení Chlorophyta byli dominantní jak v rozmanitosti, tak i v množství. Následovali jí zástupci oddělení Cyanophyta, Bascillariophyta a Euglenophyta (Ergashev et Tajiev, 1986).

Kultury řas jsou využívány pro účely čištění odpadních vod a masovou produkci různých rodů jako je *Chlorella* a *Dunatiella* asi 75 let. V současné době byl značný zájem vyvinut v některých zemích jako je Austrálie, USA, Thajsko, Tchaj-wan a Mexiko (Adbel-Raouf et. al., 2012).

Často studovanými řasami pro účely odstraňování živin z odpadních vod jsou *Chlorella*, *Scenedesmus*, ale také *Nannochloris*, *Botryococcusbraunii* a cyanobakterie *Phormidium* a *Spirulina* byly také prozkoumány. Většina systémů využívajících mikroskopické řasy pro čištění odpadních vod není založena na mono kultuře řas a výše zmíněné řasy mohou být pozorovány společně s mnoho dalšími druhy (Boelee, 2013).

V rámci následujícího textu jsou uvedeny rody řas významné pro čištění odpadních vod.

4.1. Chlorella

Chlorella je z rodu jednobuněčných zelených řas, čeledi *Chlorellaceae* náležící do kmene *Chlorophyta*. Byla objevena roku 1890. Podle odhadů přežívá na Zemi už asi 2,5 miliardy let. Má kulovitý tvar a velikost v průměru 1 – 10 µm, nemá bičík. V chloroplastu má obsažený zelený pigment – chlorofyl a a chlorofyl b. Prostřednictvím fotosyntézy se rychle množí a vyžadují pouze světlo, vodu, oxid uhličitý a malé množství minerálů k reprodukci.

Aby byla *Chlorella* dostatečně účinná a produktivní, musí být kultivována ve vodě syčené oxidem uhličitým, což významně zvedá provozní náklady. Ačkoliv produkce *Chlorella* vypadá slibně a zahrnuje kreativní technologie, její pěstování není v celosvětovém měřítku příliš rozšířeno (Lau et al., 1996).

Chlorella je schopná růst například při vysoké koncentraci dusičnanů a fosfátů, nebo v prostředí s přímým slunečním zářením (Kotrba et al., 2011).

Chlorella vulgaris je používána pro terciární čištění odpadních vod hlavně za účelem odstraňování sloučenin fosforu, dusíku a těžkých kovů. Je také využívána pro některé průmyslové procesy nesouvisející s čištěním odpadních vod (Oh-Hama et. Miyachi, 1992).

4.2. Euglena

Euglena je rod jednobuněčných bičíkatých organismů řazených do kmene *Euglenozoa* a říše *Excavata*. Buňka *Euglen* je kryta jemnou blanou – perikulou. Ta umožňuje měnit tvar. Bičíky má dva – jeden menší, který nevyčnívá a druhý větší, který umožňuje rychlý pohyb. V blízkosti bičíku se nachází stigma – světločivná skvrna, která lokalizuje, odkud přichází světlo.

Eugleny se vyskytují ve sladkých vodách, mořských vodách, brakických vodách a často i ve znečištěných vodách. Některé taxony se vyskytují i v biotopech s extrémně nízkým pH. Většina *Euglen* má v rámci buněk fotosyntetizující chloroplasty, což jim umožňuje autotrofní způsob výživy. Obsahují chlorofyl a a chlorofyl b. *Euglena* má chloroplast obklopen třemi membránami, což bereme jako důkaz, že se její chloroplast vyvinul ze zelených řas. Pokud jsou po delší dobu ve tmě, bez možnosti fotosyntézy, jsou schopné se živit organickými částicemi. Při heterotrofním způsobu výživy dochází k příjmu živin fagocytózou. Zásobní látkou je paramylon. Rozmnožování probíhá nepohlavně dělením (Carr et Whitton, 1973).

4.3. Chlamydomonas

Chlamydomonas je rod spadající do říše rostlin, oddělení zelené řasy a řádu *Volvocales*. Vyskytuje se ve vodě, půdě a dokonce i ve sněhu. Bylo jich popsáno více než 600 druhů. Využívají se jako významné modelové organismy. *Chlamydomonas* jsou jednobuněčné, mohou tvořit neforemné kolonie. Jejich velikost se pohybuje od 5 do 10 μm a mohou mít různé tvary. Nejčastěji jsou kulovitého, nebo eliptického tvaru. V bičíkaté fázi životního cyklu mají dva bičíky. Dále se u *Chlamydomonas* vyskytují chloroplasty, jedno buněčné jádro a pyrenoid. Rozmnožování probíhá splynutím gamet za vzniku cysty, která se následně dělí na čtyři vegetativní buňky.

Nejvíce rozšířeným druhem používaným v laboratořích pro výzkum obecně je *Chlamydomonas reinhardtii*. *Chlamydomonas* se používají jako modelové organismy pro výzkum mnoha zásadních otázek v buněčné a mikro buněčné biologii (Carr et Whitton, 1973).

4.4. Scenedesmus

Scenedesmus je rodem zelených řas spadajícím do kmene *Chlorophyta*. Jsou koloniální a nepohyblivý *Scenedesmus* je jeden z nejběžnějších sladkovodních rodů. Je obtížné ho identifikovat kvůli extrémně rozdílné morfologii v rámci druhu. Zatímco většina druhů *Scenedesma* se nachází napříč celým světem, určité druhy existují jen v některých lokalitách jako je Nový Zéland, kde je výskyt *S.intermedius* a *S.serratus*.

Scenedesmus se vyskytuje jako jednobuněčný. Rozmnožuje se nepohyblivými spórami nazývanými autospóry. Využívá se k experimentům zabývajícím se znečištěním a fotosyntézou. V procesu čištění odpadních vod poskytuje kyslík bakteriím a pomáhá odstranit škodlivé látky. Pěstování *Scenedesmy* může být využito k výrobě krmiva pro dobytek, organických hnojiv, papíru, papírovým konstrukcím a biodieslu (Carr et Whitton, 1973).

4.5. Nitzschia

Nitzschia je rod spadající pod kmen *Heterokontophyta*. Jedná se o zástupce ze skupiny řas řadící se mezi mořské řasy, které jsou také běžně nazývané rozsivky. Nachází se většinou v chladných vodách, je spojována jak s Arktidou, tak s Antarktidou, kde se vyskytuje jako významná rozsivka (Mitchell et Beardall, 1996).

Rosivky se řadí mezi skupinu jednobuněčných fotosyntetizujících organismů s dvojdílnou křemičitou schránkou. Tradičně jsou řazeny mezi hnědé řasy.

Nitzschia zahrnuje několik druhů rozsivek, které jsou známé díky produkci neurotoxinu zvaného kyselina kainová. Tento neurotoxin způsobuje nemoc zvanou amnestická otrava korýši. Bylo zjištěno, že druh *N. frigida* roste exponenciálně i při teplotách mezi -4 a -6 °C. *N. frigida* má aktivní uhlík koncentrující mechanismus spojený se schopností využít externí bikarbonát pro fotosyntézu (Mitchell et Beardall, 1996).

4.6. Stigeoclonium

Stigeoclonium je z rodu zelených řas, oddělení *Chlorophyta*, čeledi *Chaetophoraceae*. Jedná se o zelenou makroskopickou řasu s heterotricháním větveným typem stélky. Dorůstá od několika mm do několika dm (Nurul Islam, 1963).

Vzrůst stélky je rozmanitý, je velmi ovlivňován prouděním vody. Jednotlivé druhy vytvářejí rozsáhlé populace, jen málo rostou soliterně. Stélka je dělena na bazální a horní část. K substrátu se přichycuje pomocí rhizoidů. Rod *Stigeoclonium* je rozšířen po celém světě - od tropů až po polární oblasti (Guiry et Guiry, 2007).

5. Konvenční čištění odpadních vod

Čištění odpadních vod konvenčním způsobem se skládá z tří stupňů, tedy primární, sekundární a terciární stupeň, který však nemusí být na čistírně odpadních vod vždy zařazen. Odpadní vody jsou do čistírny odpadních vod přiváděny stokovou sítí.

Před vlastním procesem čištění odpadní vody je zařazeno předčištění pomocí lapáku šterku, česlí, lapáku písku případně i lapáku tuků. Předčištění je ochranný proces, který odstraňuje hrubé nečistoty, tak aby se nedostaly dále do procesu čištění.

Mechanický stupeň je uskutečňován na základě gravitační sedimentace nerozpuštěných částic v usazovacích nádržích. Během mechanického čištění vzniká primární kal.

Sekundární stupeň, navazuje na mechanické čištění odpadní vody. Jedná se o proces probíhající v aktivační nádrži za účasti mikroorganismů podílejících se na rozkladu organického znečištění. Mikroorganismy jsou součástí tzv. aktivovaného kalu. K tomu, aby mikroorganismy mohly odpadní vodu čistit je nutné provzdušňování nádrže. Voda z aktivační nádrže je dále odváděna do dosazovací nádrže. V dosazovací nádrži se odděluje vyčištěná voda od aktivovaného kalu a vzniká sekundární kal, jeho část je využita jako vratný kal pro aktivační nádrž.

Terciární stupeň, tedy dočištění odpadní vody následuje, pokud jsou vyšší požadavky na kvalitu vody vypouštěnou do recipientu. Terciární stupeň lze uskutečnit pomocí dočišťovací nádrže, chlorace, filtrace nebo srážením.

Voda, která podstoupila všechny stupně čištění je z čistírny odpadních vod odváděna a vypouštěna do recipientu (Chudoba et al., 1991).

6. Řasy v prostředí odpadních vod

Kultivace mikroskopických řas je proces přátelský k životnímu prostředí, který se využívá pro produkci organického materiálu, tedy biomasy pomocí fotosyntézy, za využití oxidu uhličitého, světelné energie a vody (Cai et al., 2013).

Voda využívaná mikroskopickými řasami může mít poměrně nízkou kvalitu, to znamená, že může být využita odpadní voda z průmyslových procesů a odpadní biomasa z biologického čištění vody, tj. aktivovaný kal (Andersen, 2015).

Není tomu příliš dlouho, co mikroskopické řasy začaly být považovány za významný organismus pro biologické čištění odpadních vod. Mikroskopické řasy mají schopnost odstranit z prostředí těžké kovy, organické sloučeniny, toxické látky a zabudovat je do svých buněk. Tyto specifické vlastnosti činí řasy levnější alternativou oproti konvenčním systémům čištění odpadních vod (Kaplan et al. 1998).

V porovnání s čištěním odpadních vod pomocí zcela heterotrofních systémů je velkou výhodou systémů využívajících mikroskopické řasy produkce kyslíku v procesu fotosyntézy, díky kterému lze ušetřit náklady na mechanické provzdušňování (Gordon et Seckbach, 2012).

Významné výhody poskytuje spojení kultivace mikroskopických řas za účelem čištění odpadních vod s následným využitím biomasy mikroskopických řas pro výrobu biopaliva. Spojením těchto dvou procesů dochází k eliminaci potřeby externí vody a hnojiv pro kultivaci řas na biopaliva a zároveň dochází k efektivnímu čištění odpadní vody, které z části vyrovnává významné výrobní náklady na výrobu biopaliva (Sturm et Lamer, 2011).

6.1. Typické složení odpadních vod

Vodní toky přijímají znečištění z mnoha různých zdrojů, množství i koncentrace znečištění kolísá. Zastoupení jednotlivých znečišťujících látek v odpadní vodě je odrazem životního stylu a technologií využívaných v produkční společnosti. Je to složitá směs organických a anorganických materiálů, ale i člověkem vytvořených sloučenin. Zdroje znečištění jsou různé a zahrnují odpadní vodu z měst a obcí, vody vytékající z výroby a průmyslových závodů, odtok ze zemědělské půdy, průsakové vody ze skládek pevného odpadu. Tyto zdroje znečištění jsou problémem a je požadováno řešení zajišťující jejich efektivní čištění (Cheremisinoff, 2002).

Složení městské odpadní vody je dáno složením jejích jednotlivých složek tj. vodami splaškovými, průmyslovými, balastními a srážkovými, které představují základní typy odpadních vod. Složení těchto typů odpadních vod i jejich vzájemný poměr není vždy shodný a proto nastává i velká variabilita ve složení městské odpadní vody. Průmyslové odpadní vody zvyšují koncentraci určitých specifických látek typických pro dané průmyslové odvětví, naopak balastní vody někdy městské odpadní vody silně naředují (Malý, 2000).

Odpadní vody jsou vody, které mají změněné vlastnosti a dělí do několika kategorií viz. Následující výčet (Malý, 2000).

a) Splaškové odpadní vody jsou odpadní vody vypuštěné do veřejné kanalizace z bytů a obytných domů, vody z městské vybavenosti (školy, restaurace, hotely). Specifické množství splaškové vody závisí na bytové vybavenosti a je prakticky totožné se spotřebou pitné vody. Průměrně se počítá se specifickou produkcí splaškových vod 150 l/osobu/den.

b) Průmyslové odpadní vody představují odpadní vody vypuštěné do veřejné kanalizace z průmyslových závodů a výroben. Mohou být předčištěné v závodě, tj. zbavené toxických a pro provoz veřejné kanalizace a čistírny odpadních vod škodlivých látek. Řadí se k nim i odpadní vody ze zemědělství. Tyto vody mohou být velice variabilní svým složením. Jejich složení závisí vždy na konkrétním odvětví průmyslu, ve kterém jsou produkovány.

c) Srážkové odpadní vody – Jejich množství závisí na velikosti odvodňované plochy a intenzitě srážek. Musí na ně být dimenzovaná kanalizace.

d) Balastní vody – Jsou vody, které se dostávají do kanalizace netěsnostmi. Například jsou to podzemní vody, které se dostávají do kanalizace, někdy i vody povrchové. Často tvoří svým objemovým množstvím významný podíl.

Koncentrace nerozpuštěných látek je v městských odpadních vodách zpravidla 100 až 500 mg/l koncentrace rozpuštěných látek bývá 500 až 1000 mg/l. V desítkách (10 – 50 mg/l) bývá obsažen amoniakální dusík i dusík vázaný do organických sloučenin. Dusík dusičnanový a dusitanový bývá zastoupen v koncentracích odpovídajících řádově desetinám mg/l. V jednotkách mg/l bývá obsažen celkový fosfor. V desítkách mg/l se vyskytují koncentrace Na, K^{+1} , Mg^{+2} , Ca^{+2} , Cl^{-} a SO_4^{2-} při čemž u posledních tří v hodnotách 100 mg/l i více. Významný je i obsah HCO_3^{-} jež bývá několik set mg/l. Koncentrace extrahovaných látek, z nichž tvoří největší část tuky, bývá řádově v desítkách mg/l (Hlavínek et al., 2003).

6.2. Princip čištění odpadní vody mikroskopickými řasami

Mikroskopické řasy nabízejí zajímavý stupeň v čištění odpadních vod, protože poskytují sekundární nebo terciární biologické čištění spojené s produkcí biomasy, která může být využita pro různé účely. Mají schopnost využít anorganického dusíku a fosforu k růstu. Mikroskopické řasy také mohou odebírat těžké kovy a i některé toxické organické sloučeniny.

Čištění odpadních vod pomocí řas je uskutečňováno díky kombinaci příjmu živin mikroskopickými řasami a vysokou koncentrací rozpuštěného kyslíku, který je v odpadní vodě. V důsledku dodání kyslíku mikroskopickými řasami do vody mohou probíhat i další biologické aerobní procesy. To nám umožňuje ekologicky bezpečné, méně nákladné a z pohledu odebírání kovů a živin efektivní čištění odpadních vod. Tato metoda je tedy perspektivnější, než současné konvenční čištění odpadních vod. Těchto výhod je možné dosáhnout pouze s malým nebo dokonce žádným použitím chemikálií. Mimoto je čištění odpadních vod pomocí řas chápáno i jako obnovování a recyklace přírodních zdrojů (Hoffmann, 1998).

Nezanedbatelný je fakt, že uhlík je základem pro růst mikroskopických řas. Produkce 1 tuny biomasy sušiny mikroskopických řas vyžaduje alespoň 1,83 tuny oxidu uhličitého. Oxid uhličitý může být fixován z atmosféry, nebo z externích průmyslových zdrojů. To znamená, že kultivace mikroskopických řas může také významně přispět ke zmírnění antropogenního uvolňování oxidu uhličitého (Chisti, 2007).

Mikroskopické řasy jsou velmi efektivní v odebrání dusíku, fosforu a toxických kovů z odpadních vod. Hrají důležitou roli v terciárním čištění odpadních vod (Adbel-Raouf et. al., 2012).

Řasy jsou šetrné k životnímu prostředí při čištění odpadních vod, v porovnání s ostatními běžně používanými procesy čištění odpadní vody (Pittman et al., 2011).

Bylo prokázáno, že produkce 70 – 100 tun/ha/rok mikroskopických řas může mít za následek úsporu 48400 – 74800 amerických dolarů ha/rok za odstraňování dusíku a 4575 – 7625 amerických dolarů/ha/rok za odstraňování fosforu (Rawat et al., 2013).

Výzkum zaměřený na různé rody řas ukázal, že rody *Chlorella* a *Scenedesmus* dosahují velmi vysokých hodnot ($\geq 80\%$) v odebrání N-amon, dusičnanů a fosforečnů z odpadních vod (Bohutskyi et al., 2015).

V závislosti na druhu má *Chlorella* efektivitu odebrání celkového dusíku (N_{celk}) v rozmezí od 23-100% a efektivitu odebrání celkového fosforu (P_{celk}) v rozmezí 20 – 100%. Specificky *Chlorella vulgaris* v laboratorních studiích odebírala 86 % anorganického N a 78 % anorganického fosforu (Adbel-Raouf et. al., 2012).

Z hlediska dusíkatých sloučenin řasy obecně inklinují spíše k preferenci amoniakálního dusíku nad dusičnanovým, takže zvýšená koncentrace amoniaku v odpadních vodách podporuje rapidní růst řas. Avšak, tolerance různých druhů řas vůči amoniaku se liší a je v rozmezí od 0,5 mg – 1 mg/l. Naopak je uváděno, že druhy *Chlorella* a *Scenedesmus* mají rozmezí tolerance N-amon mezi 30 – 300 mg/l (Cai et al., 2013).

Fosfor je klíčový faktor v energetickém metabolismu řas. Anorganický fosfor hraje významnou roli v růstu řas, H_2PO_4^- a HPO_4^{2-} jsou preferovanými formami fosforu pro začlenění do organických sloučenin skrze fosforylaci (Cai et al., 2013).

Kromě asimilace může být fosfát odstraňován i srážením. Pokud mikroskopické řasy přijmou dusičnany nebo přijmou více uhlíku, než který může být dodáván absorpcí z atmosféry, tak začne růst pH vody. Zvýšené pH rozpustí PO_4^{3-} a může nastat srážení kationtů, jako jsou Ca^{2+} a Mg^{2+} , které se běžně vyskytují v komunálních odpadních vodách. Nárůst pH je pravděpodobně způsoben tím, že řasy přijímají oxid uhličitý, který je kyselý. Úbytkem oxidu uhličitého dojde k zvýšení pH a následné srážení kationtů (Metcalf&Eddy,2003).

Aby došlo k souběžnému využití obou živin (dusíku i fosforu), měl by být poměr N:P ve správném rozpětí. Poměr udává míru odstraňování amoniaku ve srovnání s mírou odstraňování fosfátu. V odpadních vodách se udává optimální poměr N:P 7:1. Potřebný poměr se může lišit v závislosti na druhu řas (Cai et al., 2013).

Chlorella, *Ankistrodesmus* a *Scenedesmus* byly již úspěšně použity pro čištění odpadních vod znečištěných oleji, pekárenským průmyslem a papírnickým průmyslem. *C. vulgaris* a *Coenochloris pyrenoidosa* byly schopné odstranit mnoho kontaminantů, jako jsou fenoly, nitrofenoly, chlorfenoly a bifenoly (Pham et al., 2013).

6.3. Prostředí pro kultivaci

Existuje několik faktorů ovlivňujících rychlost růstu řas a mezi hlavními faktory ovlivňujícími kultivaci jsou: světlo, teplota, médium a živiny, pH, typ řas, aerace, míchání.

6.3.1. Světlo

Jako všechny zelené rostliny i řasy fotosyntetizují. Asimilují anorganický uhlík, který poté přeměňují na organickou hmotu. Světlo je zdrojem energie, který pohání tuto reakci a musí se brát v úvahu i spektrální kvalita a fotoperioda. Intenzita osvětlení hraje důležitou roli. Požadavky na osvětlení se velmi liší s hloubkou nádrže, v níž je kultura pěstována a hustotou kultury řas. U hlubokých kultur s velkou koncentrací buněk musí být intenzita slunečního záření navýšena tak, aby záření proniklo do kultury. Světlo může být přírodní, nebo dodávané

fluorescenčními trubkami. Příliš vysoká intenzita slunečního záření může vést k fotoinhibici. Je nutné se vyvarovat i přehřátí kultury, které může způsobit jak přirozené, tak i umělé osvětlení. Fluorescenční tuby vyzařují buď v modrém, nebo červeném slunečním spektru by měly být vhodné, protože se jedná o nejvhodnější typ světelného spektra pro podporu fotosyntézy. Doba trvání umělého osvětlení by měla být minimálně 18 hodin osvětlení za den. Mikroskopické řasy bývají v praxi kultivovány i pod téměř neustálým umělým osvětlením což zvyšuje v efektivitu systému (Lavens et Sorgeloos, 1996).

6.3.2. Teplota

Optimální teplota pro kulturu řas je obvykle mezi 20 a 24 °C, ačkoliv toto může být ovlivněno složením media kultury, druhem a kmenem použitých řas. Nejběžněji kultivované druhy mikroskopických řas tolerují teploty mezi 16 a 27 C°. Teplota pod 16 C° zpomaluje růst. Teploty vyšší než 37 C° jsou smrtící pro většinu druhů řas. Pokud je to nutné, kulturu řas lze ochlazovat tekoucí chladnou vodou protékající po povrchu kultivační nádoby, nebo využitím chladného vzduchu prostřednictvím chladících jednotek.) Tento problém přehřívání se však týká spíše tropických a subtropických oblastí (Lavens et Sorgeloos, 1996).

6.3.3. Médium

Koncentrace buněk v kultuře mikroskopických řas je obecně vyšší, než koncentrace v kultuře, která se nachází v přírodě. Proto musí být kultury obohaceny o živiny, které jsou v mediu v nedostatku. Makroskopické živiny zahrnují sloučeniny dusíku, fosforu a křemíku. Křemičitany jsou využívány hlavně rozsivkami pro růst. Mezi mikro živiny patří různé stopové prvky, jako je mangan, měď zinek a železo. Mikro živiny přijímají autofototrofní organismy ve formě aniontů, nebo kationů. Významné jsou také vitamíny, jako jsou thiamin (B1), kyanokobalamin (B12), a někdy biotin (B7). Mezi dvě nejčastěji používaná média pro růst řas se řadí Walneho médium a Guillardovo F/2 médium (Lavens et Sorgeloos, 1996).

Řasy také využívají i další živiny jako jsou sloučeniny křemíku a železo. Některé druhy chemických látek mohou být pro řasy toxické, pokud se vyskytují v příliš vysoké koncentraci. Určité současné kmeny řas jsou zvláště tolerantní k těžkým kovům a mohou dokonce pomoci absorbovat tyto kovy z prostředí (Cai et al., 2013).

Přestože jsou některé rody řas využívány k odstraňování těžkých kovů z odpadních vod, přítomnost těchto toxinů má negativní dopad na rychlost růstu řas (Cabanelas et al., 2013).

6.3.4. pH

Rozmezí pH pro většinu pěstovaných druhů řas je mezi 7 a 9, přičemž se optimální hodnota pohybuje od 8,2 do 8,7. Při nemožnosti dodržet přijatelné pH v kultuře může nastat kompletní kultivační kolaps v důsledku narušení mnoha buněčných procesů (Lavens et Sorgeloos, 1996).

6.3.5. Promíchávání a aerace

Promíchávání je nezbytný proces, který má zabránit sedimentaci řas a zajistit, že jsou všechny buňky řas v kultuře rovnoměrně exponovány světelnému záření a přítomným živinám. Promíchávání tedy vede k homogenizaci kultury mikroskopických řas. Zabraňuje se tak i tepelnému rozvrstvení a zároveň dochází ke zlepšení výměny plynů mezi kultivačním médiem a vzduchem.

V závislosti na rozsahu kultivačního systému se provádí promíchání kontinuálně, tedy nepřetržitě. Promíchání lze realizovat buď ručně pro malé kultivační zařízení, například zkumavky, kultivační tanky a cisterny, nebo za použití vodního kola pro nádrže velkého měřítka jako jsou kultivační rybníky. Vodní kolo plave na hladině a je spojeno vodotěsným kabelem se zdrojem energie na břehu. Lopatková vodní kola jsou účinná a často bývají použita v komerčních akvakulturách. Je nutné ale dodat, že ne všechny druhy řas musí dobře snášet intenzivní promíchávání (Curtis, 2010).

Aerace má také velký význam mimo jiné i proto, že vzduch je zdrojem oxidu uhličitého, který je nezbytný pro fotosyntézu.

Aerace je uskutečňována pomocí rozprašovačů. Rozprašovače bývají vyrobeny z biopolymeru, děrovaného plechu, nebo sintrovaného skla s různou velikostí otvorů. Rozptylovací zařízení je připojeno k základně fotobioreaktoru (viz. kapitola 7.1.2.). Fotobioreaktor je provzdušňován stoupajícími vzduchovými bublinami obohacenými o oxid uhličitý. Bubliny stoupají ode dna, kam jsou přiváděny rozptylovací soustavou, bubliny tak prostupují celým sloupcem fotobioreaktoru (Lavens et Sorgeloos, 1996).

6.4. Separace biomasy

Separace řas od média bývá označována jako sklizení řas. Sklizení řas se skládá ze separace řas od substrátu, sušení a jejich zpracování pro získání požadovaného produktu. Metody sklizně závisí primárně na typu řas. Je nutné snížit vysoký obsah vody v kultuře mikroskopických řas, ten musí být z řas odstraněn pro umožnění sklizení mikroskopických řas. Mezi nejběžnější metody sklizení řas se řadí flokulace, membránová filtrace a centrifugace.

Sklizení řas lze obecně dělit na proces skládající se ze dvou kroků. Těmito kroky jsou hromadné sklizení za použití výše zmíněné flokulace, membránové filtrace či centrifugace a zahušťování. Účelem sklizení je separace biomasy mikroskopických řas od suspenze. Tímto způsobem může celkový obsah pevné složky řas, tedy sušiny dosáhnou 2-7% za použití flokulace, flotace nebo gravitační sedimentace. Účelem zahušťování je vytvořit koncentrovanou kaši za pomoci procesů filtrace a centrifugace (Gouvenia, 2011).

Po sklizni se řasová suspenze nejprve zahustí odstředěním nebo filtruje. Dle potřeby se tento proces doplní o promytí, které odstraní nežádoucí metabolity, přebytečné živiny a bakterie. Zahuštěná suspenze mikroskopických řas je následně zchlazena a vzniklá „řasová polévka“, která se poté usuší. Velmi podstatný a energeticky náročný je zejména proces získávání zahuštěné biomasy. Tento proces vyžaduje jeden nebo více kroků oddělujících pevnou fázi od kapalné, protože nízká hustota buněk a malá velikost některých mikroskopických řas způsobují značnou náročnost celého procesu. Volba způsobu zpracování zhuštěné biomasy pro určitý kmen je zásadní, pokud sklizenou biomasu plánujeme využít pro následnou ekonomickou produkci (Lee et Shah, 2012).

Membránová filtrace

Je jednou z metod sklizení řas, která je zprostředkována díky vakuové pumpě. Membránová filtrace poskytuje dobře definované otvory pórů k separaci buněk řas z kultury. Výhodou membránové filtrace je to, že je schopná separovat a koncentrovat mikroskopické řasy i o velmi nízké hustotě. Tato metoda je limitována malými objemy a může vést k ucpávání a zanášení filtrů (Hlavínek et al., 2003).

Gravitační sedimentace

Sedimentace se běžně používá pro separaci mikroskopických řas. Hustota a poloměr buněk řas ovlivňuje rychlost sedimentace. Sedimentace je velmi jednoduchý, ale pomalý proces, který v prostředí s vysokou teplotou může vést ke zhoršení kvality biomasy. Zlepšení efektivity sklizení řas touto metodou může být zajištěno lamelovými separátory a sedimentačními tanky. Úspěch v odstraňování pevných částic kultury řas sedimentací z velké míry záleží na hustotě částic. Kultury s malou hustotou se neusazují tak dobře a separace bývá neúspěšná. Často se využívá flokulace pro zvýšení efektivity gravitační sedimentace (Gouvenia, 2011).

Flokulace

Flokulace je metoda separace řas od média za použití chemikálií, které přinutí řasy vytvořit větší agregáty. Hlavní nevýhodou této metody je to, že přidané chemikálie je obtížné odstranit ze separovaných mikroskopických řas, což dělá metodu neefektivní a neekonomickou pro komerční použití. Flokulační činidla, nebo také flokulanty jsou chemikálie, které podporují flokulaci tím, že způsobí sražení. Běžně se používají dva typy flokulantů, anorganické flokulanty a organické polymery. Kamenec ($KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$) a chlorid železitý ($FeCl_3$) jsou nejfrekventovaněji používané flokulanty pro separaci řas. Komerční produkt nazývaný Chitosan oblíbený pro čištění vody lze také využít jako flokulant, ale je mnohem dražší než ostatní flokulanty na trhu. Sklizení touto metodou při současných technicko-ekonomických standardech je metodou příliš drahou pro použití ve větším měřítku. Efektivita této metody záleží na množství různých faktorů, jako jsou velikost buněk, tvar buněk, síla buněčné stěny a povrch buněčné stěny. Zvážením těchto faktorů a odpovídající kombinací flokulace s jinou metodou je zde možnost podstatného vylepšení (Lee et Shah, 2012).

Flotace

Flotace je proces gravitační separace založený na uchycení částic na vzduchových bublinách. Ty jsou poté vyneseny na povrch hladiny a akumulovány tak, že mohou být později snadno odstraněny setřením či nasátím (Shelef et al, 1984).

Flotace se řadí mezi spolehlivé metody. Vrstva, která se vytvoří na hladině je stabilní a označuje se jako „vznos“, nebo také „float“. Během flotace dochází ke snížení specifické hmotnosti částic nabalením bublinek plynu, které jsou mikroskopických rozměrů. Specifická hmotnost vytvořených aglomerátů je menší než hmotnost kapalné fáze (Shelef et al, 1984).

Flotace se projevila jako účinnější než gravitační sedimentace při odstraňování řas z vody při stejných podmínkách. Flotace je výhodná vzhledem k tendenci řas spíše plavat, než sedimentovat, ale na druhou stranu je to metoda ekonomicky velmi náročná pro použití ve velkém měřítku (Shelef et al, 1980).

Centrifugace

Centrifugace je proces, během kterého se oddělují mikroskopické řasy od vodné části díky odstředivé síle, kterou vyvine centrifuga. Centrifugace je preferovanou metodou hlavně pro prodlouženou skladovatelnost biomasy řas získané z akvakultury díky vysokému obsahu sušiny a nízkému obsahu vody. Tato metoda je však velmi finančně náročná. V současné době je metoda centrifugace považována za příliš finančně i energeticky náročnou na to, aby byla využita jako primární metoda pro sklizení řas. Energetický vstup nutný pro proces centrifugace byl odhadnut na 3000 kW/tunu biomasy. Centrifugaci lze ale považovat za velmi užitečnou metodu pro použití při separaci biomasy řas, která pomáhá koncentrovat počáteční směs na kaši (Gouvenia, 2011).

6.5. Využití sklizené biomasy

Biomasa mikroskopických řas narostlá na odpadních vodách je potenciálně důležitá pro produkci biopaliv. Jednou z možností využití sklizené biomasy je její vrácení do methanizačních nádrží k tomu určených, kde se v anaerobních podmínkách rozkládá, při čemž vzniká methan. Místo toho by mohla být biomasa mikroskopických řas zpracována pro extrakci lipidů, které by se využily pro tvorbu biopaliva, nebo by se anaerobně naštěpily a využily na výrobu bioplynu. Methan lze využít například pro energetické účely zařízení

čistírny odpadních vod, což je výhodnější než ho nezpracovávat a vypouštět do ovzduší (Andersen, 2015).

Řasy lze využít pro výrobu biopaliv jako je bioplyn, bioethanol, biobuthanol, biodiesel. Význam využití a aplikace těchto paliv je velký a potenciální trh pro tyto produkty je velký a očekává se, že bude ještě větší. Mikroskopické řasy lze využít i na výrobu chemikálií, hnojiv, biopolymerů, bioplastů, barviv (Andersen, 2015).

7. Technické řešení

Pro pěstování produkčních kultur mikroskopických řas byla navržena řada kultivačních systémů a technologií s využitím přirozeného i umělého osvětlení. Pro každé kultivační zařízení je nutné zvážit několik základních parametrů, kterými jsou: osvětlení, teplota, míchání, výměna plynů, použitý materiál ke zhotovení zařízení a čištění komponentů systému. Volba vhodného systému a režimu pěstování pak musí být vypracována speciálně pro každý produkční kmen.

Existují základní biotechnologické postupy, které se používají pro kultivaci mikroskopických řas. Prvním je pěstování v otevřených nádržích, které mají plochy až řádu stovek hektarů. Druhý způsob představuje uzavřené systémy – fotobioreaktory nebo fermentory (Min et al., 2011).

7.1. Možnosti kultivace

7.1.1. Otevřená kultivace

Kultivace řas v otevřených nádržích byla rozsáhle zkoumána. Otevřené nádrže mohou být rozděleny na přírodní nádrže, umělé nádrže a kontejnery. Nejběžněji používané systémy zahrnují velké mělké nádrže, kruhové nádrže a oběžné systémy. Jednou z hlavních výhod otevřených nádrží je snadnější konstrukce a obsluha. Hlavním omezením otevřených nádrží je nízká využitelnost světla buňkami, ztráty výparem, difúze oxidu uhličitého do atmosféry a velké nároky na plochu. Mimoto, kontaminace nežádoucími mikroorganismy a jinými rychle rostoucími heterotrofními organismy omezila komerční produkci řas pro čištění odpadních vod v otevřených systémech pouze na ty druhy řas, které jsou schopné růst v extrémních podmínkách. Také z důvodu neefektivního mechanismu promíchávání v otevřeném systému při kultivaci dochází k nízké produkci biomasy, nejedná se tedy o příliš ekonomicky výhodnou variantu (Matsuo, 2001).

V komerčním měřítku obecně produkce mikroskopických řas pro využití k čištění odpadních vod vyžaduje schopnost výhodně vyprodukovat tunová množství biomasy řas. Vykultivovaná biomasa může být po využití v čistírnách odpadních vod využita k sekundárním účelům použití. To vyžaduje objem kultury od 10.000 litrů až k 1.000.000 litrů a proto jsou v současné době téměř všechny komerční kultury kultivovány v otevřených venkovních nádržích. *Chlorella spp.*, *Spirulina platensis* Geitler, *S. maxima* Geitler, *Dunaliella salina*,

Haematococcus pluvialis Flotow a *Nannochloropsis* jsou pěstovány v otevřených venkovních nádržích (Andersen, 2015).

Kultivace v otevřených nádržích je levnější, než kultivace v uzavřených fotobioreaktorech, ale je limitována relativně malým množstvím druhů řas, které se pro venkovní kultivaci hodí. Mimoto komerční venkovní kultivace mikroskopických řas je omezena na tropické a subtropické oblasti a regiony s nízkým úhrnem srážek a malou oblačností (Bettenbaugh et Bouwer, 2015).

7.1.2. Vnitřní kultivace

Fotobioreaktor

Fotobioreaktor je kontrolovaný systém zahrnující určitý typ světelného zdroje. Celý systém je uzavřený, nebo polouzavřený a mikroskopické řasy nejsou tedy v přímém kontaktu s okolní atmosférou. Nejčastěji se pro osvětlení uzavřených fotobioreaktorů používá umělé osvětlení či LED osvětlení. Při použití polouzavřených fotobioreaktorů, může být využit umělý zdroj osvětlení, nebo sluneční záření. Za jednoduchou variantu fotobioreaktoru lze považovat i nádrž zakrytou skleníkem. Jelikož se jedná o uzavřené systémy, musíme řasám zajistit dodávku všech potřebných živin, světla a podmínky vhodné pro růst (Matsuo, 2001).

Fotobioreaktor umožňuje kontrolu nad podmínkami prostředí a tím i velkou produktivitu řas. V uzavřených systémech se všechny požadavky zadávají do řídicího systému, který je poté pomocí kontrolních zařízení udržuje ve stanovené normě. Fotobioreaktor usnadňuje a umožňuje lepší kontrolu prostředí, ve kterém se řasy nacházejí. Příkladem je kontrola množství oxidu uhličitého, zásobení vodou, optimální teplota, dostatečné množství světla, hustota kultury, pH, dodávka plynu, promíchávací režim (Ruiz-Marin et al., 2010).

Fungování fotobioreaktoru lze stručně popsat v šesti bodech.

1. Od příkrmovací nádrže tok postupuje do membránového čerpadla, které zmírňuje tok řas v trubici. Do čerpadla je vestavěný sací ventil oxidu uhličitého.
2. Fotobioreaktor je používán k zvýšení biologického růstu řas díky kontrole parametrů prostředí včetně světla. Trubky jsou designovány tak, aby měly světlé a tmavé sektory, které pomáhají zvýšit hodnotu růstu řas. Většina fotobioreaktorů je obvykle konstruována ze skleněných či plastových trubek a kultura v nich cirkuluje pomocí

čerpadla dopředu. Trubky mohou být umístěny horizontálně či vertikálně, jsou ohnuty a vedeny tak, aby zachytily co největší množství světla. Pro vzdušňování trubek se uskutečňuje pomocí vývěvy či vzduchovým systémem. Výhodou trubek je velká plocha, která je vystavena osvětlení. Nevýhodou bývá oběh řas v trubkách, což se projevuje hlavně při provozu reaktorů většího měřítka. Správně navržený systém trubek zcela izoluje kulturu od možné kontaminace z vnějšího prostředí.

3. PBR mají zabudovaný čistící systém, který umožňuje vnitřní čištění trubic bez nutnosti odstavení produkce reaktoru.
4. Poté, co řasy protečou skrz PBR, prochází zpět do plnicí nádoby. Během průtoku řas trubicemi, senzory na přítomnost kyslíku určí, kolik kyslíku v řasách vzniklo a tento kyslík je poté uvolněn v příkrmovací nádrži. V této sekci rovněž probíhá optická kontrola hustoty buněk. Senzor stanoví množství mikroskopických řas které budou sklizeny.
5. Když jsou řasy připraveny na sklizení, projdou skrz spojitý filtrovací systém. Tento filtr vyseparuje řasy, které jsou připraveny na zpracování, zatím co ostatní řasy prochází zpět do příkrmovací nádrže.
6. Tok pokračuje (Ruiz-Marin et al., 2010).

Klíčové systémy fotobioreaktoru jsou: světelný systém, optická přenosová soustava, vzduchotechnický systém, systém plynové výměny, mixovací systém, systém vyživování, přístrojový systém a elektrický systém (Hoffmann, 1998).

Mezi subsystémy fotobioreaktoru patří: senzor kyslíku a oxidu uhličitého, senzor teploty, pH senzor, světelný senzor, senzor konduktivity, recirkulační čerpadlo, sklizňové čerpadlo, vstřikovací ventil oxidu uhličitého, substrátové čerpadlo, filtrový recirkulační ventil, přívod vody, konektory a hadice, systém uvolnění kyslíku, ovládací panel, krmná nádrž.

Systémy a subsystémy fotobioreaktoru jsou ve vzájemné interakci. Například optický přenosový systém a systém výměny plynů spolu komunikují skrze promíchávání, které se uskutečňuje v rekční oblasti fotobioreaktoru (Hoffmann, 1998).

Fermentor

Fermentory byly poprvé testovány v 70. letech a od 90. let jsou běžně využívány pro účely kultivace všude po světě a to především v Japonsku. Fermentory existují v široké škále velikostí od 1 litru do objemu více než 5 000 000 litrů. Komerční fermentory se využívají k výrobě sýrů, jogurtů a jsou běžně dostupné (Stevenson et al., 1996).

Odpadní voda může být do fermentoru dávkována semikontinuálně nebo kontinuálně. Semikontinuální režim průtoku je běžnější a jeho principem je, že část kultury je periodicky odebírána a nahrazována čerstvým médiem. Celý postup lze několikrát opakovat. Principem kontinuálního dávkování je udržování kultury v exponenciální fázi růstu, ta se vyznačuje rychlým nárůstem biomasy buněk, složení média je konstantní. Mezi fotobioreaktorem a fermentorem jsou i určité společné znaky (kontrola pH a teploty, sklizení, míchání). Významným rozdílem mezi fotobioreaktorem a fermentorem je zdroj energie, osvětlení, cirkulace, zásobení kyslíkem a sterilita (Andersen, 2015).

Ve fermentorech rostou kultury v dobře definovaných podmínkách, bez světla, ale potřebují organické sloučeniny jako zdroj uhlíku a energie, vyžadují intenzivní míchání a dostatečnou dodávku stlačeného vzduchu jako zdroj kyslíku pro katabolické procesy. Je také nezbytné pracovat sterilně s axenickou kulturou, jinak hrozí nebezpečí bakteriální kontaminace. Hustota biomasy může dosáhnout více než 100 g/l s produktivitou vyšší než 10 g/l objemu sušiny za den.

Ve většině případů rostou mikroskopické řasy fototrofně. Některé rody mikroskopických řas jsou ale schopné existovat i heterotrofně, příkladem je *Chlorella*. Při heterotrofním způsobu života žijí mikroskopické řasy ve tmě v médiu s obsahem anorganických solí a organickým substrátem, který slouží jako zdroj energie i uhlíku. Z čehož vyplývá, že *Chlorella* je rodem využitelným jak ve fotobioreaktoru, tak i ve fermentoru (Matsuo, 2001).

Cirkulace je ve fermentorech nezbytná pro rovnoměrné rozložení a distribuci živin i odpovídající výměnu plynů. Většina fermentorů dosahuje požadované cirkulace mixováním prostřednictvím oběžných kol nebo přepážek. Alternativní přístup míchání je založen na vzdušném mostu. Vzduch je dodáván na jednu stranu ponořené trubice a vytváří tak rozdílnou hustotu na straně, která je provzdušňovaná a na straně která provzdušňována není. Pro svou efektivitu vzdušný most vyžaduje značný přívod vzduchu, protože probublávání vzduchu musí nahradit všechnu energii pro promíchávání biomasy ve fermentoru. Zajištění dostatku

oxidu uhličitého je často hlavním limitujícím faktorem fermentoru pro dosažení rychlého tempa růstu a vysoké koncentrace buněk (Andersen, 2015).

8. Náklady na čištění odpadních vod řasami

Stanovení celkových nákladů na čištění odpadních vod pomocí řas je zatím obtížné určit, protože ještě neexistuje žádný optimalizovaný objekt pro použití této metody ve velkém měřítku v praxi. Čištění odpadních vod pomocí mikroskopických řas bude ekonomicky efektivní a výhodné, pokud bude spojeno s produkcí biopaliv. Tyto dva záměry se při snaze o realizaci budou s nejvyšší pravděpodobností prolínat a vzájemně se doplňovat. Výši nákladů také velmi ovlivňuje klimatický region, roční období, způsob kultivace, použitý systém a metody sklizení mikroskopických řas (Thajuddin et Subramanian, 2005).

Náklady na produkci oleje nutného pro výrobu biopaliv z biomasy mikroskopických řas jsou 1,40 USD za litr z fotobioreaktoru a 1,81 USD za litr při využití otevřených nádrží. Ovšem pokud se oba záměry spojí, tedy jak produkce biopaliv, tak čištění odpadních vod pomocí řas, náklady jsou 1,57 USD a úspora 15 kWh na 3,78 litrů produktu. Z ekonomického hlediska je nutné uvažovat i přidanou hodnotou řas, které byly využity pro čištění odpadních vod a následně i sekundárně jako hnojiva či krmiva pro zvířata (Gordon et Seckbach, 2012).

9. Výhody a nevýhody využívání řas pro čištění odpadních vod

Využití mikroskopických řas pro čištění odpadních vod nabízí několik zajímavých výhod oproti konvenčnímu způsobu čištění odpadních vod. Mezi tyto výhody se řadí nízké nároky na dodávku energie, produkce dále využitelné biomasy, snížení produkce oxidu uhličitého, omezení tvorby kalů. Proces je nákladově efektivní (Stevenson et al., 1996).

Odborníci tvrdí, že je z hlediska nákladů využití mikroskopických řas více efektivní způsob na snižování a redukci biochemické spotřeby kyslíku, patogenů, sloučenin fosforu a dusíku než aktivační proces či ostatní procesy sekundárního čištění odpadních vod (Powell et al., 2008).

Konvenční čištění odpadních vod vyžaduje vysoké náklady na energii nutnou pro aeraci, která je nutná k zajištění kyslíku pro aerobní bakterie, které poté mohou využívat organické sloučeniny obsažené v odpadní vodě. Zatímco při čištění odpadních vody založeném na mikroskopických řasách řasy produkují kyslík a není tedy nutná aerace. Aerace je z energetického hlediska velmi nákladným procesem, který tvoří 45 – 75 % z celkových nákladů čistírny odpadních vod (Lee et Shah, 2012).

Odstranění zhruba jednoho kilogramu biochemické spotřeby kyslíku v aktivačním procesu vyžaduje jednu kWh elektřiny pro aeraci, což odpovídá zároveň i jednomu kilogramu fosilního oxidu uhličitého z činnosti generátoru. Naproti tomu proces odstranění jednoho kilogramu biochemické spotřeby kyslíku fotosyntetickým okysličením, tedy s pomocí mikroskopických řas, nevyžaduje žádné náklady na aeraci a vyprodukuje dostatečné množství biomasy mikroskopických řas, které je možné využít k výrobě methanu a následné produkci jedné kWh elektrické energie (Powell et al., 2008).

Z procesů čištění odpadních vod s využitím mikroskopických řas vznikají kaly v podobě biomasy mikroskopických řas. Tento sekundární produkt je energeticky bohatý a je možné ho dále zpracovat na výrobu biopaliv, hnojiva, nebo jiné produkty. Další výhodou je snížení tvorby kalu ale i to, že postup čištění odpadní vody nevyužívá chemikálií. Systém využívající

mikroskopické řasy má negativní bilanci uhlíku, tedy více oxidu uhličitého je spotřebováno, nežli vyprodukáno (Rawat et al., 2011)

Mezi nevýhody čištění odpadních vod mikroskopickými řasami patří velké nároky na plochu v případě otevřené kultivace a vliv klimatického regionu na kulturu mikroskopických řas (Lee et Shah, 2012).

10. Další možnosti využívání řas

Řasy jsou v současnosti populární složkou, kterou lidé zařazují do svého jídelníčku. Řasy vhodné pro konzumaci jsou z celkového množství známých rodů řas redukovány hlavně na rody *Chlorella*, *Spirulina* a *Dunaliella*. To je do značné míry dáno tím, že je povinnost dodržovat striktní bezpečnostní regulativy, které jsou stanoveny pro potraviny určené ke konzumaci. Na trhu s potravinami je zastoupení výše zmíněných rodů 75%. Produkty z řas v obchodech najdeme v různých formách. Nejčastěji jsou to tablety, kapsle či tekutiny (Silva et al., 1996).

Řasy rodu *Chlorella* jsou pro jejich výjimečné nutriční hodnoty se dnes často prodává ve formě sušených lisovaných tablet. Při jejich výrobě *Chlorella* podstupuje proces desintegrace, který je nutný, aby zdraví prospěšné látky byly stravitelné člověkem (Bewicke et Potter, 1983).

Roku 1965 se uskutečnil Ruský CELLS experiment BIO-3, který probíhal na Sibiři a měl za úkol využít řasy k recyklaci vzduchu vydechovaného lidmi. Byly využity řasy rodu *Chlorella*. Řasy absorbovaly oxid uhličitý, který lidé vydechovali a nahradily ho kyslíkem. *Chlorella* byla kultivována pod umělým osvětlením a vyžadovala 8 m² exponované plochy na jednu osobu, aby dosáhla rovnováhy mezi oxidem uhličitým a kyslíkem. Experiment tedy stanovil, že 8 m² světlem exponované *Chlorelly* by mohlo odstranit v uzavřené místnosti oxid uhličitý a nahradit ho kyslíkem pro člověka (Silva et al., 1996).

Rod *Dunaliella* v posledních letech vzbudil velký zájem díky produkci bioaktivních molekul vysoké ekonomické hodnoty. Těmito bioaktivními molekulami jsou karotenoidy a polynenasycené mastné kyseliny.

Mikroskopické řasy také nacházejí uplatnění u aquakultur a farmě zvířat. Průzkum dokázal, že malé množství biomasy řas, které se začlení do krmiva pozitivně ovlivňuje fyziologické procesy zvířat. Byla použita *Chlorella*, *Scenedesmus* a *Spirulina*. V mořských kulturách se mikroskopické řasy využívají jako krmivo pro larvy, měkkýše, korýše a ryby. V akvakulturách je využíváno okolo 40 rodů s nejvyšším zastoupením *Chlorelly*, *Scenedesma*, *Dunalielly* a *Tetraselmisu* (Silva et al., 1996).

Mikroskopické řasy jsou také vhodné pro produkci biopaliva. Díky jejich schopnosti využívat sluneční světlo a oxid uhličitý k produkci různých organických molekul, které se dají využít jako zdroj energie na výrobu biopaliv. Mezi mikroskopické řasy, které byly nejvíce studovány pro tento účel patří *Chlamydomonas reinhardtii*, *D. salina* a některé druhy *Chlorelly* (Silva et al., 1996).

Řasy jsou také navrhнуты a zkoumány na odstraňování těžkých kovů díky jejich velké kapacitě sobce tohoto typu znečištění. Jejich velkou výhodou pro toto využití je značná efektivnost v odstraňování těžkých kovů, vznik z chemikálií netoxického kalu a nízké náklady (Kotrba et al., 2011).

11. Závěr

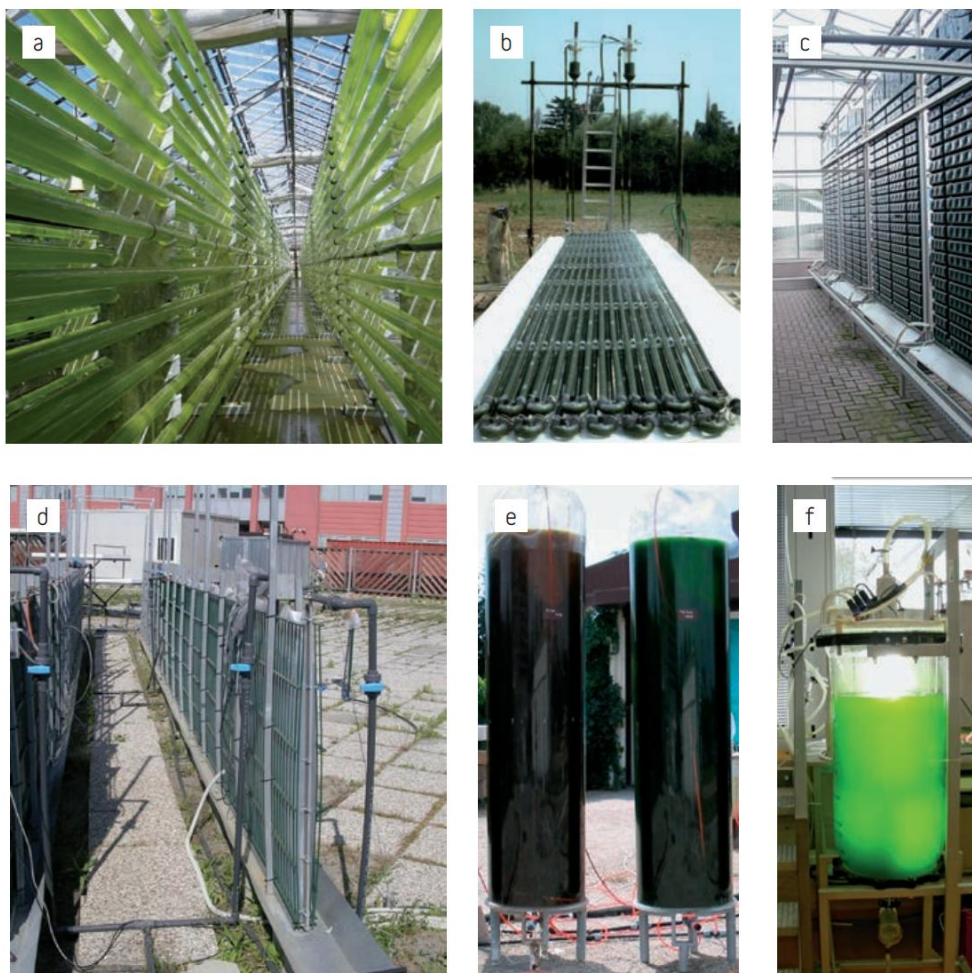
K zhodnocení metody založené na čištění odpadních vod pomocí řas je nutný širší úhel pohledu. Tato metoda je do budoucna velmi perspektivním řešením, které je přátelské k životnímu prostředí, ekonomicky výhodné a zajímavé z hlediska využití sklizené biomasy řas použité k čištění odpadní vody.

Jako velmi výhodné se zdá být spojení metody čištění odpadní vody pomocí řas s následným využitím sklizené biomasy řas k extrakci lipidů a výrobě biopaliva. Neméně zajímavé jsou úvahy spojené o kombinaci mikroskopických řas spolu s bakteriemi v systému, který by byl velmi výhodný z hlediska čištění odpadních vod. V takovémto systému by řasy mohly produkovat kyslík přímo pro bakterie.

Téma čištění odpadní vody pomocí řas je inovativní, proto k němu zatím nelze přesně interpretovat analýzu zobrazující ekonomické aspekty propracované pro reálné využití v praxi. V příštích letech bude pravděpodobně uskutečněno velké množství výzkumů na toto téma směřujících k praktickému začlenění systému využívajícího řasy do městských aglomerací, což povede k vytvoření přesných rozpočtů.

Mezi velmi podstatné hledisko pro aplikaci této metody v praxi je závislost na klimatickém regionu, množství slunečního záření dopadajícího na zemský povrch a podmínky okolí. Tyto aspekty je vždy nutné brát v ohledu u konkrétní lokality, kde by měl být systém realizován. Výše zmíněné faktory ovlivňují volbu systému a limity jeho použití. Metoda nebude pravděpodobně vhodná pro země s nízkou intenzitou slunečního záření a chladným klimatem.

12. Přílohy



Příloha 1: Příklady uzavřených nebo polouzavřených systémů – fotobioreaktorů, které se využívají pro velkoobjemovou produkci biomasy mikroskopických řas (Šterzl et al., 2015).

(a) Fotobioreaktor tvořený souběžnými řadami vodorovných skleněných trubic umístěných ve skleníku s pomocným umělým osvětlením; firma Salata GmbH, SRN

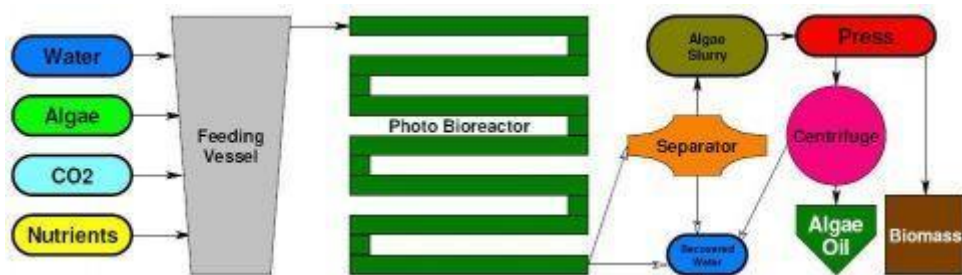
(b) Dvouúrovňový trubicový fotobioreaktor tvořený smyčkou plastových trubic; Centro di Studio dei Microrganismi Autotrofi del CNR, Scandicci, Itálie

(c) Série alveolárních plochých panelů postavených vertikálně (výrobce firma Subitec GmbH), umístěných ve skleníku v areálu tepelné elektrárny firmy Vattenfall v Senftenbergu, SRN

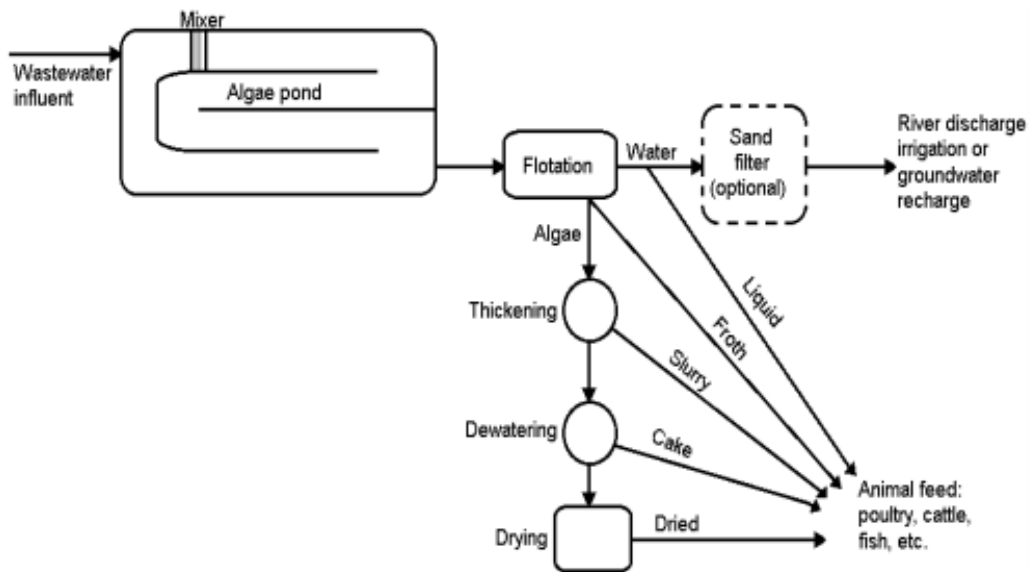
(d) Venkovní fotobioreaktor „Green Wall Panel“ uspořádaný ze souběžných plochých panelů z PE fólie (výrobce Fotosintetica & Microbiologica Srl., Itálie); umístěný v Istituto per lo Studio degli Ecosistemi del CNR, Sesto Fiorentino, Itálie

(e) Anulární fotobioreaktory tvořené dvěma polyakrylátovými válci umístěnými jeden uvnitř druhého tak, aby tvořily kultivační prostor osvětlený zvenčí (výrobce Fotosintetica & Microbiologica Srl., Itálie); umístěno v Istituto per lo Studio degli Ecosistemi del CNR, Sesto Fiorentino, Itálie

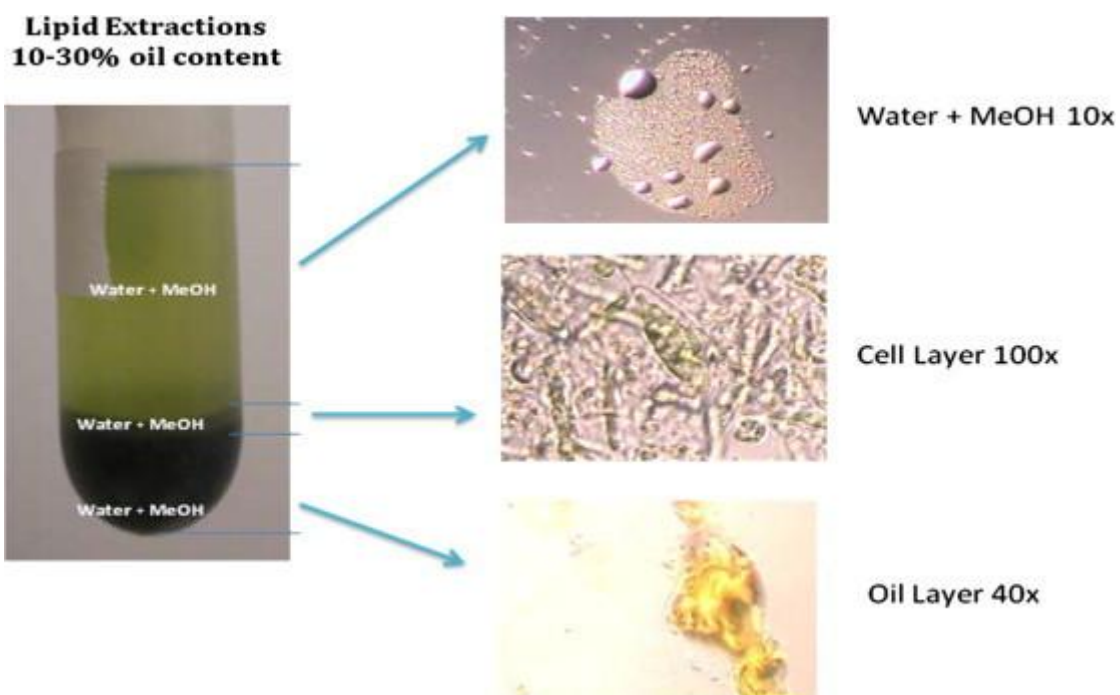
(f) Anulární skleněný fotobioreaktor o objemu 100 litrů s vnitřním LED osvětlením; navrženo a umístěno v Mikrobiologickém ústavu AV ČR, v. v. i., v Třeboni (Šterzl et al., 2015)



Příloha 2: Stručné schéma čištění odpadní vody pomocí řas ve fotobioreaktoru, znázorněny jsou vstupy do systému i výstupy z něj (Adbel-Raouf et al., 2012).



Příloha 3: Stručné schéma čištění odpadní vody pomocí řas při kultivaci řas v nádrži, znázorněny jsou i výstupy ze systému (Elena et al., 2017).



Příloha 4: Vzorek znázorňující jednotlivé fáze ve zkumavce. Na dně se nachází vrstva oleje z biomasy řas, která je využitelná pro výrobu biopaliv (Adbel-Raouf et al., 2012).



Příloha 5: Design PBR s horizontálním uspořádáním trubek (Adbel-Raouf et al., 2012).

13. Seznam použité literatury

Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A. A., Ibraheem I. B. M. 2012. Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 19 (3). 257-275.

Andersen, R. A. 2005. *Algal Culturing Techniques: A Book for All Phycologists*. Burlington: Elsevier. ISBN: 0-12-088426-7.

Bewicke, D., Potter, B. A. 1984. *Chlorella: the emerald food*. Berkeley, CA: Ronin Pub., ISBN 0-914171-02-x.

Boelee, N. C. 2013. *Microalgal biofilms for wastewater treatment*. ISBN: 9789461736666. 213 p.

Bohutskyi, P., Liu, K., Khaled Nasr, L., Byers, N., Rosenberg, J. N., Oyler, G. A., Betenbaugh, M. J., Bouwer, E. J. 2015. Bioprospecting of microalgae for integrated biomass production and phytoremediation of unsterilized wastewater and anaerobic digestion centrate. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 99 (14). 6139–6154.

Cabanelas, I. T. D., Ruiz, J., Arbib, Z., Chinalia, F. A., Garrido-Pérez, C., Rogalla, F., Nascimeno, I. A., Perales, A. 2013. Comparing the use of different domestic wastewaters for coupling microalgal production and nutrient removal. *Bioresource Technology*. 131. 429-436.

Cai, T., Park, S. Y., Li, Y. 2013. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 19. 360-369.

Carr, N. G., Whitton, B. A. 1973. *The biology of blue-green algae*. Berkeley: University of California Press, ISBN 0520023447.

Clive, A. Stach. *Plant taxonomy and biosystematics*. 2. ed., repr. New York [u.a.]: Cambridge Univ. Press, 1994. ISBN 0521427851.

Curtis, T. P. 2010. Low-Energy Wastewater Treatment: Strategies and Technologies. In: Mitchell, R., Gu, J. D. *Environmental Microbiology*. Wiley-Blackwell, Hoboken. NJ. p. 301 - 318. ISBN: 978-0-470-17790-7.

Ergashev A. E., Tajiev S. H., 1986. Seasonal Variations of Phytoplankton in a Series of Waste Treatment Lagoons (Chimkent, Central Asia) Part 2: Distribution of Phytoplankton Numbers and Biomass. *Clean - Soil Air Water*. 14 (6). 613–625.

- Elena, A., Orbeci Ch. Lazau, C., Sfirloaga P., Vlazan P., Bandas C., Grozescu I. Waste Water Treatment Methods. Water Treatment. InTech, 2013. DOI: 10.5772/53755. ISBN 978-953-51-0928-0.
- Gonzalez, L. E., Cañizares, R. O., Baena S. 1997. Efficiency of ammonia and phosphorus removal from Colombian agroindustrial wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus dimorphus*. *Bioresource Technology*. 60 (3). 259-262.
- Šterzl, J., Ctírad, J., Bilej, M. 2015. Praha : Středisko společných činností AV ČR, 2015. 19 stran ilustrováno (Věda kolem nás Osobnosti; 34) ISSN:2464-6245
- Gouveia, L. 2011. *Microalgae as a feedstock for biofuels*. Heidelberg: Springer. 69 p. ISBN: 9783642179976.
- Guiry, M. D., Guiry, G. M. 2007. *AlgaeBase version 4.2* World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway.
- Hlavínek, P., Mičín, J., Prax, P. 2003. *Stokování a čištění odpadních vod*. Brno: Akademické nakladatelství CERM. 283 s. ISBN: 80-214-2535-0.
- Hoffmann, J. P. 1998. Wastewater treatment with suspended and nonsuspended algae. *Journal of Phycology*. 1998. 34(5). 757-763. [cit. 2016-09-10]. ISSN: 00223646.,
- Cheremisinoff, N. P. 2002. *Handbook of water and wastewater treatment technologies*. Boston: Butterworth-Heinemann, ISBN 0750674989.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae . *Biotechnology Advances*. 25 (3). 294-306.
- Chudoba, J., Dohányos, M., Wanner, J. 1991. *Biologické čištění odpadních vod*. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury. *Ochrana životního prostředí*. ISBN 80-03-00611-2.
- Kaplan, D., Christiaen, D., Arad, S., 1988. Binding of heavy metals by algal polysaccharides. In: Stadler, T., Mollion, J., Verdus, M. C., Karamanos, Y., Morvan, H. and Christiaen, D. (eds.). *Algal Biotechnology*. Elsevier Applied Science. 179-187.
- Kincl, L., Kincl, M., Jakrllová, J. 2006. *Biologie rostlin: pro 1. ročník gymnázií*. Praha: Fortuna. ISBN 80-7168-947-5.

Kotrba, P., Macková, M., Macek, T. (ed.). 2011. Microbial biosorption of metals. Dordrecht: Springer. ISBN: 978-94-007-0443-5. Gordon, R., Seckbach, J. (ed.). 2012. The science of algal fuels: phycology, geology, Biophotonics, Genomics and Nanotechnology. New York: Springer. ISBN: 978-94-007-510-1

Lau, P. s., Tam, N. F. Y., Wong, Y. S. 1996. Wastewater nutrients removal by *Chlorella vulgaris*: optimization through acclimation. *Environmental Technology*. 17 (2). 183–189.

Lee, S., Shah, Y. T. 2012. Biofuels and bioenergy: processes and technologies. Boca Raton: Taylor & Francis. 341 p. ISBN: 9781420089554.

Lincoln, E. P., Hill, D. T. 1980. An integrated microalgae system. In: Shelef, G., Soeder, C. J. (eds.). *Algae biomass. Production and use*. Elsevier. 229–243 p.

Malý, J. *Chemie a technologie vody*. 2000. Brno: Vysoké učení technické. 140 s. ISBN: 80-214-0507-4.

Matsuo, T. 2001. *Advances in water and wastewater treatment technology: molecular technology, nutrient removal, sludge reduction and environmental health*. New York: Elsevier, ISBN 0444505636.

Metcalf, L., Eddy, H. P. 2004. *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and ReNew York*: McGraw-Hill. 1819 p. ISBN: 007124140X.

Min, M., Wang, L., Li, Y., Mohr, M. J., Hu, B., Zhou, W., Chen, P., Ruan, R. 2011. Cultivating *Chlorella* sp. In a Pilot-Scale Photobioreactor Using Centrate Wastewater for Microalga Biomass Production and Wastewater Nutrient Removal. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 165 (1).

Mitchell, C., Beardall, J. 1996. Inorganic carbon uptake by an Antarctic sea-ice diatom, *Nitzschia frigida*. *Polar Biology* 16 (2). 95-99.

Novák, J., Skalický, M. 2012. *Botanika: cytologie, histologie, organologie a systematika*. Praha: Powerprint. 336 s. ISBN: 978-80-87415-53-5.

Nurul Islam, A. K. M. 1963. *A Revision of the Genus Stigeoclonium*. *Nova Hedwigia, Beihefte, Beih.* 164. ISBN 978-3-768-25410-6.

- Oh-Hama, T., Miyachi, S. 1992. *Chlorella*. In: Borowitzka MA, Borowitzka LJ, (eds.). *Microalgal biotechnology*. Cambridge: Cambridge University. 3-26.
- Palmer, C. M., 1969. A composite rating of algae tolerating organic pollution. *Journal of Phycology*. 5 (1). 78–82.
- Lavens, P., Sorgeloos, P. (ed.). 1996. *Manual on the production and use of live food for aquaculture*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 295 p. ISBN 9251039348.
- Pedersen, S. F., Meland, M., Rebours, C. 2008. Macroalgae for an increasing organic Market. *Bioforsk. Focus*. 8 (2).
- Pham, M., Schideman, L., Scott, Raagopalan, N., Plewa, M. J. 2013. Chemical and biological characterization of wastewater generated from hydrothermal liquefaction of *Spirulina*. *Environmental Science & Technology*. 47 (4). 2131-2138.
- Sturm, B. S. M., Lamer, S. L. 2011. An energy evaluation of coupling nutrient removal from wastewater with algal biomass production. *Applied Energy*. 88 (10). 3499-3506.
- Pittman, J. K., Dean, A. P., Osundeko, O. 2011. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresource Technology*. 102 (1). 17-25.
- Powell N., Shilton A. N., Pratt, S., Chisti, Y. 2008. Factors Influencing Luxury Uptake of Phosphorus by Microalgae in Waste Stabilization Ponds. *Environmental Science & Technology*. 42 (16). 5958-5962.
- Rawat, I., Kumar, R. R., Mutanda, T., Bux, F. 2011. Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied Energy*. 88 (10). 3411-3424.
- Rawat, I., Kumar, R. R., Mutanda, T., Bux, F. 2013. Biodiesel from microalgae: a critical evaluation from laboratory to large scale production. *Applied Energy*. 103. 444-467.
- Ruiz-Marin, A., Mendoza-Espinoza, L. G., Stephenson, T. 2010. Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. *Bioresource Technology*. 101(1). 58-64.
- Shelef, G., Azov, Y., Moraine, R., Oron, G. 1980. Algal mass production as an integral part of wastewater treatment and reclamation system in algal biomass. In: Shelef, G., Soeder, C. J. (eds.). *Algae biomass. Production and use*. Elsevier. 163–190.

- Shelef, G., Sukenik, A., Green, M. 1984. *Microalgae Harvesting and Processing: A Literature Review*. Haifa: Technion Research and Development Foundation.
- Silva, P. C., Bassom, W., Moe, L. R. 1996. *Catalogue of the benthic marine algae of the Indian Ocean*. Berkeley: University of California Press, University of California publications in botany, vol. 79. ISBN 0-520-09810-2.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert A. 2006. Commercial application of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 101 (2). 87-96.
- Stevenson, R. J., Bothwell, M. L., Lowe, R. L. 1996. *Algal ecology. Freshwater benthic ecosystems*. San Diego: Academic Press. 753 p. ISBN: 9780080526942.
- Thajuddin N, Subramanian G. 2005 Cyanobacterial biodiversity and potential applications in biotechnology. *Current Science*. 89 (1). 47-57.
- Zaid-Iso. 1990. Water pollution in the Natural Rubber Industry. Special coordination meeting of the working group on environmental biotechnology. Kuala Lumpur.