

---

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH**  
**PEDAGOGICKÁ FAKULTA**

**KATEDRA BIOLOGIE**

---

**Posouzení biologické čistitelnosti odpadních vod z výroby DPG**  
**(diphenylguanidinu)**

**Diplomová práce**

<b>Vypracovala:</b>	<b>Tereza Vepřeková</b>
Vedoucí diplomové práce:	Ing. Štěpánka Chmelová, Ph.D.
Studijní program:	M7504 Učitelství pro střední školy
Studijní obory:	Učitelství biologie Učitelství chemie

**České Budějovice**

**2010**

**Název diplomové práce:** Posouzení biologické čistitelnosti odpadních vod z výroby DPG (diphenylguanidinu)

**Autor:** Tereza Vepřeková

**Anotace:**

Cílem této diplomové práce je posouzení biologické čistitelnosti odpadních vod z výroby DPG (diphenylguanidinu). Teoretická část je zaměřena na vodu a způsoby čištění odpadních vod. Je zde stručně popsán mechanismus fyzikálního, chemického, biologického i kombinovaného čištění odpadních vod.

Pro praktickou část této práce, která se zaměřuje na posuzování odbouratelnosti DPG a anilinu byla zvolena metoda vysokoučinné kapalinové chromatografie, která umožnila stanovit jejich biodegradační schopnost. Součástí diplomové práce je také stanovení vedlejších produktů z výroby DPG, mezi které patří zejména fenylmočovina.

Dále je práce zaměřena na sledování charakteru biofilmu a aktivity bakteriální kultury *Rhodococcus erythropolis*, která je využívána k biodegradaci DPG v chemicko-biologické čistírně odpadních vod, LZD a.s.

**Title of diploma thesis:** Biological treatment expertise of sewage water rising from production of DPG (diphenylguanidine)

**Author:** Tereza Vepřeková

**Annotation:**

The main goal of this thesis is to expertise biological treatment of sewage water rising from production of DPG (diphenylguanidine). The theoretical part is focused on the water and means of sewage disposal. There is shortly described mechanism of physical, chemical, biological and combined methods of sewage disposal.

In practical part of this thesis, focused on expertising degradation of DPG and aniline was chosen high performance liquid chromatography (HPLC) technique, which made it possible to determined their biodegradation abilities. The next component of this thesis are sideline products determination, phenylurea especially.

This thesis is focused on monitoring of biofilm's character and the activity of *Rhodococcus erythropolis* bacterial culture, used in biodegradation of DPG in chemical-biological wastewater treatment plant, LZD a.s.

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem zadanou diplomovou práci na téma:

***Posouzení biologické čistitelnosti odpadních vod z výroby DPG (diphenylguanidinu)***

vypracovala sama s přispěním vedoucí práce. Pro svou práci jsem nepoužila podkladů cizích osob, aniž bych tuto skutečnost uvedla v seznamu použité literatury, uváděné na konci diplomové práce.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě Pedagogickou fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG, provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

**V Českých Budějovicích dne 15.4. 2010**

.....

**Poděkování:**

Děkuji své vedoucí diplomové práce Ing. Štěpánce Chmelové, Ph.D., za cenné rady, připomínky, trpělivost a porozumění, s nímž mě při této práci vedla.

Dále děkuji pracovníkům Lučebních závodů Draslovka a.s. Kolín, kteří se podíleli na přípravě vhodných podmínek pro moji práci, zejména Mgr. Milanu Dlouhému za cenné rady a pomoc v oblasti kapalinové chromatografie. Mé díky patří též Ing. Tomáši Ledererovi, Ph.D. z firmy Aquatest a.s. Praha.

Zároveň děkuji všem ostatním, kteří se jakkoliv podíleli na dokončení této práce.

# Obsah

1. ÚVOD.....	1
2. LITERÁRNÍ ČÁST.....	2
2.1. Koloběh vody v přírodě.....	2
2.2. Voda a její znečištění.....	3
2.3. Vlivy odpadních vod na vodní recipient.....	5
2.4. Složení vod.....	5
2.5. Typy odpadních vod.....	7
2.5.1. Splaškové vody.....	7
2.5.2. Dešťově odpadní vody.....	8
2.5.3. Balastní vody.....	8
2.5.4. Městské odpadní vody.....	9
2.5.5. Průmyslová odpadní voda a její složení.....	9
2.5.5.1. <i>Organické látky ve vodách.....</i>	11
2.5.5.2. <i>Druhy organických látek ve vodách.....</i>	12
2.5.5.3. <i>Anorganické látky ve vodách.....</i>	15
2.6. Technologie čištění odpadních vod ve velkých ČOV.....	16
2.6.1. Předčištění a mechanické čištění odpadních vod.....	18
2.6.2. Odlučování lehkých částic.....	18
2.6.3. Flotace.....	19
2.6.4. Sedimentace (Usazování).....	21
2.6.5. Filtrace.....	23
2.6.6. Koagulace (Číření).....	23
2.6.7. Neutralizace.....	24
2.7. Biologické čištění odpadních vod.....	25
2.7.1. Rozdělení biochemických čistírenských procesů podle konečného akceptoru elektronů.....	25
2.7.2. Stanovení biologické čistitelnosti průmyslových odpadních vod.....	27
2.7.3. Procesy aerobního rozkladu organických látek.....	27
2.7.3.1. <i>Rozdělení organismů podle zdroje živin a energie.....</i>	29
2.7.3.2. <i>Růst a množení mikroorganismů.....</i>	30
2.7.3.3. <i>Zákonitosti růstu mikroorganismů.....</i>	31

---

2.7.4.	Komplexní substrát a mechanismus odstraňování organických látek z odpadních vod.....	34
2.7.5.	Aktivační proces.....	35
2.7.6.	Biologické odstraňování anorganického dusíku z odpadních vod.....	44
2.7.7.	Odstraňování fosforu z odpadních vod.....	46
2.7.8.	Aerobní čištění směsnou kulturou v biofilmových reaktorech.....	47
2.7.8.1.	<i>Vznik, vývoj a struktura biofilmu.....</i>	<i>59</i>
2.7.9.	Anaerobní čistírenské procesy.....	51
2.7.9.1.	<i>Mechanismus a mikrobiologie anaerobních procesů.....</i>	<i>53</i>
2.7.10.	Přirozené způsoby biologického čištění .....	55
<b>3.</b>	<b>METODICKÁ ČÁST.....</b>	<b>59</b>
3.1.	Cíle práce.....	59
3.2.	Lučební závody Draslovka, a.s.....	60
3.3.	Diphenylguanidin.....	62
3.4.	Chemicko biologická čistírna odpadních vod v LZD a.s.....	67
3.5.	Odběr vzorků.....	70
3.6.	Analytické pracovní postupy.....	70
3.6.1.	HPLC stanovení anilinu, DPG a fenylmočoviny.....	71
3.6.2.	Sledování charakteru biofilmu.....	73
3.6.3.	Sledování aktivity bakteriální kultury.....	73
3.6.3.1.	<i>Stanovení <math>CHSK_{Cr}</math>.....</i>	<i>76</i>
3.7.	Metody analýzy a zpracování dat.....	77
<b>4.</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUSE.....</b>	<b>78</b>
4.1.	Odbouratelnost DPG a anilinu.....	78
4.2.	Stanovení vedlejších produktů z výroby DPG.....	92
4.3.	Tvorba biofilmu na bionosičích.....	93
4.4.	Sledování aktivity bakteriální kultury.....	96
<b>5.</b>	<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>101</b>
<b>6.</b>	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>102</b>

# 1. Úvod

Problematika čištění odpadních vod jak splaškových, dešťových, městských, tak průmyslových, je v současné době velmi aktuálním tématem. Je tomu tak z mnoha důvodů. Hlavním důvodem je skutečnost, že si člověk uvědomuje jedinečnost a životní nezbytnost této kapaliny. Voda, tak typická pro naši planetu, která právě díky ní nese označení „Modrá planeta“, je zdrojem vyčerpitelným, avšak nenahraditelným a nepostradatelným. Antropogenní kontaminace nás o tento zdroj pomalu, ale jistě připravuje a cizorodé látky (xenobiotika) se kumulují, jak ve vodě, půdě, rostlinách tak i organismech.

Počátky odvádění a čištění odpadních vod sahají až do dob starověkého Řecka a Říma. Ve středověku nastala katastrofální situace a jako stoky sloužily ulice samy. Ty pak byly čištěny pouze před velkými církevními svátky. Zlepšení přišlo až na přelomu 16. a 17. století, kdy splašky byly odváděny nejkratší cestou, přímo do řeky. Není divu, že v této době přinášely stoky více problémů než-li užitku. V Praze byla vystavěna první čistírna odpadních vod až na přelomu 19. a 20. století.

V současné době jsou odpadní vody čištěny mechanicky, chemicky a biologicky, nebo kombinací těchto metod. Je důležité dbát na to, aby se polutanty z chemického a jiných odvětví průmyslu, nedostaly do zásob povrchových, natož podzemních vod, které nemají takovou schopnost biodegradace cizorodých látek.

Biologické čištění odpadních vod je v současné době velmi preferováno. Tato metoda spočívá v biodegradaci, tedy rozkladu látek, které jsou zdrojem uhlíku pro mikroorganismy. Rozklad probíhá, v ideálním případě, až na oxid uhličitý a vodu přes velké množství meziproductů. Biologické metody nám přinášejí mnoho výhod. Mezi ně patří například velká flexibilita biologických systémů.

Uchovat čistou vodu na naší planetě, a v neposlední řadě dostatečné zásoby této životadárné tekutiny pro generace současné a budoucí, by tedy mělo být jedním z hlavních, do budoucna vytyčených cílů lidstva.

## 2. Literární část

### 2.1. Koloběh vody v přírodě

Voda, nejrozšířenější látka na Zemi, patří k základním složkám životního prostředí a je také podmínkou existence života na naší planetě.

Téměř 80% vody na Zemi je obsaženo v oceánech, 19% v zemské kůře pod povrchem země, 1% tvoří ledovce, 0,002% je obsaženo v tocích, jezerech a vodních nádržích a jen kolem 0,0008% vody je v atmosféře.

Tabulka 1: Zásoby vody v dílčích částech hydrosféry ([www.zemepis.com](http://www.zemepis.com))

Část hydrosféry	objem vody [tisíce km <sup>3</sup> ]	celkové zásoby [%]
Světový oceán	1360000	97,6784
Ledovce a dlouhodobá sněhová pokrývka	24000	1,7237
Voda v atmosféře (do výšky cca 11km)	13	0,0009
<b>Povrchová voda na souši:</b>		
Sladkovodní jezera	130	0,0093
Slaná jezera	105	0,0075
Umělé vodní nádrže	6	0,0004
Močály, bažiny	6	0,0004
Koryta řek (průměr roku)	1,25	0,0001
<b>Podpovrchová voda:</b>		
Půdní vláhá	25	0,0018
Voda v pásmu provzdušnění (zóna aerace)	40	0,0029
Voda v pásmu nasycení (zóna saturace)	8000	0,5746
<b>Celkové zásoby vody na Zemi</b>	<b>1392296,25</b>	<b>100,0000</b>

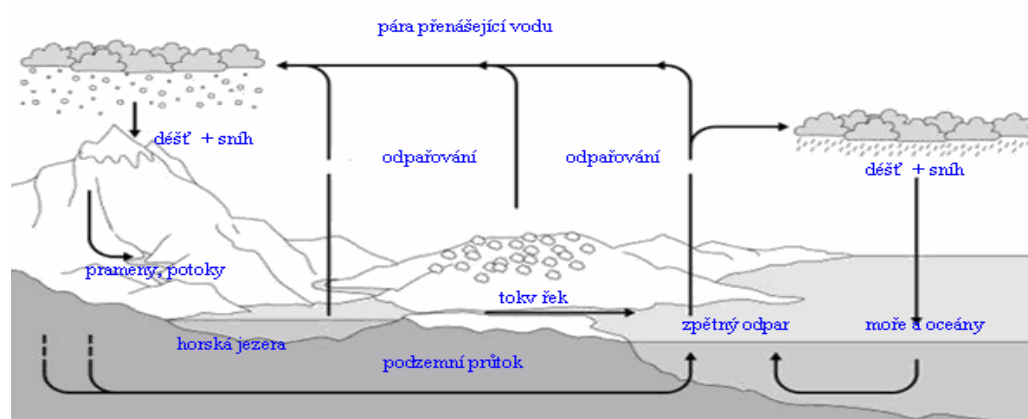
Veškeré zásoby vody na Zemi a v atmosféře bez rozdílu skupenství se nazývají hydrosféra. Vlivem slunce, které je iniciátorem a regulátorem oběhu vody v přírodě, dochází k výparu vody z vodní hladiny, půdy, povrchu rostlin atd. Voda se pak dostává do atmosféry, ve které je vlivem vzdušné konvence transportována na jiné místo a tam, za příznivých podmínek, může dojít ke kondenzaci a spadu srážek na zemský povrch. Zde je voda absorbována. Obohacuje vláhou půdní profil, zvětšuje zásoby podzemních vod, doplňuje



objemy v jezerech, řekách a rybnících a opět se vypařuje do atmosféry. Tomuto jevu říkáme koloběh vody v přírodě.

Koloběh vody je podmínkou vyrovnaného stavu vody v přírodě. Jedná se o nepřetržitý uzavřený proces vodní cirkulace na zemské kouli, jehož hnací silou je sluneční záření a zemská gravitace (Hlavínek a Říha, 2004).

Obr. 1: Koloběh vody v přírodě (www.tzb-info.cz)



## 2.2. Voda a její znečištění

Člověk využívá vodu při většině svých činností. V průběhu využívání vody dochází k jejímu znečišťování. Znečištění vody můžeme definovat jako takovou změnu fyzikálních, chemických a biologických vlastností vody, která omezuje nebo znemožňuje její použití k danému účelu. Pojem znečištění je však pojmem relativním. Z hlediska ochrany životního prostředí je možno považovat za znečištěnou veškerou vodu pocházející z přírodního zdroje, jejíž vlastnosti byly během jejího využití změněny a následně byla navracena do přírodního koloběhu vody (např. do vodního toku) (Švehla a kol., 2004).

Voda je látka podmiňující život na Zemi. Tvoří podstatnou složku biosféry, především těl živých organismů, a navíc pokrývá většinu zemského povrchu. Slouží jako univerzální rozpouštědlo či transportní prostředek. Voda je nejpoužívanější látkou v průmyslu, její spotřeba často převyšuje hmotnost výrobků.

Absolutně čistá voda se v přírodě nevyskytuje, vždy se jedná o roztok solí a plynů a obvykle jsou v ní přítomni i různí zástupci živých organismů. Pro život je nedostatek různých příměsí ve vodě dokonce škodlivý (např. jod). Nesrovnatelně častější je ale případ, kdy je ve vodě přebytek látek škodlivých. Pro omezení rizika působení polutantů chemického původu je nutné snažit se o to, aby se do vody vůbec nedostaly chemikálie s možným trvalým účinkem,

tj. mutageny, látky chemicky málo reaktivní nebo biologicky těžko rozložitelné. Pojem čistá voda pro zásobování obyvatelstva a pro průmyslové účely znamená, že voda může obsahovat řadu rozpuštěných směsí, ale jen takových, které pro ten či onen účel nevadí.

Spotřeba vody v průmyslové výrobě ČR pomalu klesá jednak zavedením úsporných opatření (v důsledku ekonomického tlaku), jednak zaváděním moderních nízkoodpadových technologií a likvidací ekologicky neúnosných výrobních postupů.

Prakticky veškerá voda použitá při výrobě, v sociální sféře či v domácnosti odpadá a je vypouštěna do řek či rybníků, kde zhoršuje jakost povrchové vody (při event. průsaku i vody podzemní), která je pak v mnoha případech pro další využití nevhodná (Sákra a Dirner, 2006).

Tabulka 2: Spotřeba vody v ČR v letech 1980-2004 ( $\text{mil.m}^{-3}$  za rok) (Sákra a Dirner, 2006)

Odběr pro kategorii	1980		1990		1995		2004	
	povrchová voda	podzemní voda	povrchová voda	podzemní voda	povrchová voda	podzemní voda	povrchová voda	podzemní voda
Vodovody	554	460,4	744,9	537,7	590	420	395,7	342,5
Průmysl	962,5	66,5	866,1	58,9	590	40	327,5	35,4
Energetika	1216,5	2,3	1060,9	1,3	810	–	878,8	2,2
Zemědělství	39,7	7,8	97,2	13,6	40	8	19,5	7,8
Ostatní užití	47,0	8,3	53,7	10,9	60	7	4,5	14,0
Celkem ČR	2820,0	545,3	2822,8	622,4	2090	475	1626	401,9

Pokud není znečištění vody příliš vysoké nebo není-li přívod znečišťujících látek, zejména organických, do toku velký, lze pozorovat tzv. **samočištění vody**. Znamená to, že po přechodném zhoršení jakosti vody v toku se její stav může postupně zlepšit až na úroveň původní jakosti. Stručné vysvětlení tohoto jevu spočívá v činnosti mikroorganismů a nižších tříd organismů. Především aerobní heterotrofní mikroorganismy dokáží využívat ve vodě přítomné organické látky jako zdroj živin pro stavbu vlastních buněk a zároveň jako zdroj energie pro své životní pochody. Výsledkem této činnosti je přeměna organických látek na biomasu a neškodné anorganické produkty jako oxid uhličitý a vodu. Jsou při tom

spotřebovávány i některé rozpuštěné anorganické sloučeniny dusíku a fosforu, tedy biogenní prvky nutné pro tvorbu organické živé hmoty (Sákra a Dirner, 2006).

### 2.3. Vlivy odpadních vod na vodní recipient

Nejvýznamnější negativní vlivy vypouštění odpadních vod do vodních toků a nádrží je možno shrnout do následujících bodů:

- Zanášení koryta řek suspendovanými usaditelnými látkami, příp. znečišťování břehů nerozpuštěnými látkami unášenými vodou.
- Estetické a organoleptické závady (pachové).
- Vyčerpávání rozpuštěného kyslíku, především mikrobiálním rozkladem organických látek, a tím znemožnění života vyšších organismů a vyvolání zhoršení organoleptických vlastností vody (viz předešlý bod).
- Epidemiologické závady vlivem přítomnosti patogenních organismů - virů, bakterií, protozoí aj.
- Kontaminace vody toxickými nebo jinak škodlivými látkami (těžké kovy, chlorované organické látky, fenoly, biologicky aktivní látky)
- Přívod látek způsobujících eutrofizaci povrchových vod.
- Zvyšování solnosti (obsahu solí) vody.
- Změnu teploty, především její zvyšování, což může být významné při vypouštění velkého množství vod chladících (Hlavínek a kol., 2006).

### 2.4. Složení vod

V přírodě se nevyskytuje voda chemicky čistá. Obsahuje vždy rozpuštěné plyny a rozpuštěné i nerozpuštěné látky anorganického i organického původu. Různé látky přijímá již v atmosféře, ale k hlavnímu jejímu obohacování rozpuštěnými látkami dochází při infiltraci půdou a horninami. Umělým zdrojem anorganických a organických látek v přírodních vodách jsou odpadní vody průmyslové a splaškové.

Látky obsažené ve vodách se z chemického hlediska dělí na anorganické a organické. Z fyzikálního hlediska mohou být přítomné buď v pravých roztocích jako iontově rozpuštěné látky (elektrolyty), nebo jako neiontově rozpuštěné látky (neelektrolyty), popř. jako látky nerozpuštěné (neusaditelné, usaditelné a vzplývavé).

Mezi iontově rozpuštěné látky patří zejména kationy  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  a  $\text{K}^+$ . Mezi nejdůležitější aniony patří hydrogenuhličitan, sírany a chloridy. Dále mohou být přítomné dusičnany, dusitany a fosforečnany. V iontové formě se mohou vyskytovat i některé organické látky.

Mezi neiontově rozpuštěné látky patří především sloučeniny křemíku, boru a některé organické látky a rozpuštěné plyny.

Mezi nerozpuštěné látky se řadí různé hlinitokřemičitany, hydratované oxidy železa a manganu, organický detrit, tuky, oleje aj. Nerozpuštěné látky jsou klasifikovány dle velikosti částic a jejich skupenství. Disperzní soustava tvořená kapalnou a tuhou fází se nazývá suspenze. Je – li tvořena dvěma kapalnými fázemi, nazývá se emulze.

Podle afinity k vodě se koloidní soustavy dělí na hydrofilní (koloidní roztoky) a hydrofobní (koloidní hydrosoly).

Koloidní roztoky jsou homogenní disperzní soustavy. Disperzními částicemi mohou být buď makromolekuly (molekulární koloidy), nebo různé asociáty nazývané micely (asociační či micelární koloidy).

Ve vodách patří mezi molekulární koloidy bílkoviny, polysacharidy, huminové látky, syntetické organické a anorganické polymery (organické flokulanty, polyfosforečnany) aj. Mezi micelární koloidy s povrchově aktivními vlastnostmi patří tenzidy včetně mýdel a z přírodních látek např. saponiny. Při překročení kritické micelární koncentrace se jejich molekuly spojují a vytvářejí částice koloidních rozměrů, tzv. micely.

Koloidní hydrosoly jsou heterogenní disperzní soustavy nerozpuštěných tuhých částic ve vodě. Ve vodách patří mezi hydrosoly např. hydratované oxidy železa, manganu a křemíku a různé hlinitokřemičitany (jíly, bentonity). Jílové minerály jsou hlinitokřemičitany vznikající zvětráváním primárních minerálů nebo syntézou z produktů zvětrávání. Klasifikují se podle vzájemného postavení křemíkových tetraedrů a hliníkových oktaedrů. Mezi jílové minerály patří např. kaolinit a montmorillonit (Pitter, 1981).

Celkový obsah látek ve vodě se určuje některými skupinovými stanoveními. Určuje se sušina veškerých látek, rozpuštěných i nerozpuštěných a její ztráta žíháním. Diference je zbytek po žíhání. Výsledky se udávají v  $\text{mg.l}^{-1}$ .

Veškeré látky se stanoví odpařením vzorku vody ve vodní lázni a sušením odparku při  $105^\circ\text{C}$ . Jde o součet obsahu rozpuštěných a nerozpuštěných látek.

Rozpuštěné látky se stanovují odpařením filtrovaného vzorku vody a sušením odparku při  $105^\circ\text{C}$ . Rozlišování mezi rozpuštěnými a nerozpuštěnými látkami závisí na způsobu

filtrace. Obvykle se za rozpuštěné považují látky, které prošly při filtraci vody membránovými filtry o velikosti pórů 0,1 až 1,0  $\mu\text{m}$ , nejčastěji 0,45  $\mu\text{m}$ .

Nerazpuštěné látky se stanoví buď výpočtem z obsahu látek veškerých a rozpuštěných, nebo jejich zachycením na papírovém či membránovém filtru, sušením při 105°C a zvažením.

Usaditelné a vzplývavé látky se obvykle stanovují jen objemově, změřením jejich objemu po určité době sedimentace. Pro bilanční čistírny se usaditelné látky často stanovují i hmotnostně (Pitter, 1981).

## 2.5. Typy odpadních vod

Jakákoliv voda, která po použití změní svoje vlastnosti - fyzikální, chemické - se nazývá vodou odpadní, zvláště pokud může ovlivnit jakost povrchových nebo podzemních vod.

Odpadními vodami jsou:

- Všechny druhy vod odváděné stokovou sítí.
- Odčerpávané vody podzemní z hydraulické ochrany u průmyslových objektů - rafinérie, sklady ropných látek, odkaliště z rudných, energetických nebo chemických výrobníků, průzkumy těžební činnosti.
- Vody z drenážních systémů jako součásti zařízení k odvodnění pozemních staveb.
- Vody jakkoliv znečištěné z výrobního provozu, příp. v důsledku vlhkosti suroviny.
- Tekuté odpady (např. kejda) (Hlavínek a kol., 2006).

### 2.5.1. Splaškové vody

Odpadní vody z domácností, hygienických zařízení, objektů společného stravování, ubytování atd. se nazývají splaškové vody (splašky). Jsou znečištěny organickými i anorganickými látkami. Obsahují také řadu mikroorganismů. Jedná se o živé i neživé organismy přicházející do odpadní vody s fekáliemi popř. i jinou cestou.

Splaškové vody jsou proto velice rizikové z hlediska jejich infekčnosti. Splaškové odpadní vody jsou obvykle závadné sensoricky (vzhledově a pachem), vždy pak hygienicky. Barevně jsou šedavé až hnědé s vysokým množstvím rozptýlených nerozpuštěných látek (jsou silně zakalené) a s poměrně vysokým množstvím rozpuštěných látek. Hlavní podíl znečišťujících látek splaškových odpadních vod připadá na moč a fekálie (Švehla a kol., 2004).

Tabulka 3: Produkce látek ve splaškových odpadních vodách (Malá, 2005)

Látky	organické	anorganické	celkové	BSK <sub>5</sub>	N	P
Produkty metabolismu [g/obyv. den]						
Látky celkem	80	30	110	0	1,6	-
Produkce celková dle ČSN 75 6501 [g/obyv. den]						
Nerozp. látky	40	15	55	30	1	0,2
(z nich usaditelné)	30	10	40		-	-
Rozpuštěné látky	50	75	125	30	10	2,3
Látky celkem	90	90	180	60	11	2,5

### 2.5.2. Dešťové odpadní vody

Dešťové odpadní vody obsahují samotnou dešťovou vodu, splachy a drenážní vodu. Dešťová voda, se při průchodu atmosférou a při splachování různých povrchových ploch kontaminuje různými nečistotami.

Koncentrace znečišťujících látek je nejvyšší v první fázi deště (Švehla a kol., 2004). Uvádí se, že koncentrace organického znečištění v těchto vodách je podobná jako ve vodách splaškových. Proto je snaha o jejich zachycení a čištění (Malá, 2005). Obecně platí, že kvalita dešťových odpadních vod velice kolísá a záleží na četných parametrech, kterými jsou například:

- Intenzita srážek
- Předchozí průběh dešťů (nakolik je znečištění z nepropustného povrchu a z kanalizace smyto)
- Charakteristické znaky sběrné oblasti stoky (podíl nepropustného a propustného povrchu, spád, rozloha atd.) (Švehla a kol., 2004).

### 2.5.3. Balastní vody

Jedná se o soubor vod mimovolně zachycených v síti. Mezi balastní vody patří přítok infiltrující vody z podzemních horizontů (prameny svedené do kanalizace), dešťové odpadní vody v oddílných sítích dostávající se do splaškové kanalizace apod. (Švehla a kol., 2004). Vody balastní jsou převážně málo znečištěné, a proto jejich přítomnost v městských odpadních vodách je příčinou jejich zředování, a to tím více, čím větší podíl tvoří. Někdy, zvláště u nekvalitně provedených kanalizací, může být ředění tak velké, že pro nízkou koncentraci znečištění (biologická spotřeba kyslíku = BSK<sub>5</sub> pod 50 mg.l<sup>-1</sup>) je jejich biologické čištění na čističkách odpadních vod (dále jen ČOV) problematické (Malá, 2005). Balastní

vody se stanovují měřením nebo odhadem. V našich podmínkách uvažujeme vody balastní 10-15% z celkového množství vod (Hlavínek a kol., 2006).

#### **2.5.4. Městské odpadní vody**

Městské odpadní vody jsou směsí splaškových odpadních vod, průmyslových odpadních vod, popř. též odpadních dešťových a balastních vod. Tato směs přichází kanalizací do ČOV. Pokud není v daném městě žádný průmysl, jsou městské odpadní vody pouze vodami splaškovými. V posledních letech však většina městských odpadních vod obsahuje i vody průmyslové (Švehla a kol., 2004).

#### **2.5.5. Průmyslová odpadní voda a její složení**

Složení i vlastnosti průmyslových odpadních vod jsou značně proměnlivé. Jejich znečištění je ovlivňováno charakterem a uspořádáním výrobních procesů v průmyslovém podniku. S vývojem technologie průmyslové výroby se mění i produkce znečištění. Některé složky, obsažené v odpadní vodě, se přestanou vyskytovat, jiné se objeví. Významné je také kolísání koncentrace i množství odpadních vod v krátkých časových intervalech.

Návrh technologie čištění průmyslových odpadních vod musí vycházet z podrobné analýzy vodního hospodářství podniku, z posouzení jednotlivých technologických procesů a způsobů, jak se v nich voda používá. Cílem této analýzy je hledání možností jak snížit produkci znečištění, omezit spotřebu vody nebo zařadit přímo do výrobního procesu vhodné procesy předčištění, které by dovolily recyklovat zachycené složky zpět do výroby nebo recirkulovat předčištěnou vodu (Chudoba a kol., 1991). Průmyslové odpadní vody jsou vypouštěny do vodních recipientů buď samostatně nebo spolu se splaškovými vodami prostřednictvím veřejné kanalizace. Tyto smíšené odpadní vody se nazývají městskými (bez ohledu na velikost obce). Podíl průmyslových vod bývá různý, v našich podmínkách činí obvykle 80 - 100% z vod splaškových (Malá, 2005).

Nejčastěji se vyskytujícími druhy průmyslových vod jsou:

- Technologické odpadní vody
- Chladicí vody
- Splaškové vody
- Srážkové vody ze znečištěných ploch
- Srážkové vody z neznečištěných vod
- Podzemní vody z hydrogeologických systémů ochrany.

Vzhledem k různým technologickým procesům průmyslových výrob není možné obecně charakterizovat kvalitu průmyslových odpadních vod. U těchto vod je třeba vždy posoudit, zda neobsahují v nepřipustných koncentracích látky toxické, hořlavé, výbušné a jinak škodlivé pro provoz kanalizace a čistírny. Povolené množství a kvalitu průmyslových odpadních vod vypouštěných do veřejných kanalizací stanovuje její správce v kanalizačním řádu. Vhodné pro společné čištění se splaškovými vodami, ale i samostatně, jsou odpadní vody, neobsahující extrémně vysoké koncentrace suspendovaných látek a v rozpustné nebo v koloidní formě obsahující biologicky rozložitelné organické látky, jako je většina sloučenin přírodního původu. Jejich koncentrace bývá někdy mnohonásobně vyšší než u splaškových vod, v hodnotách BSK<sub>5</sub> 1000 až 4000 mg.l<sup>-1</sup>. K tomuto typu patří odpadní vody z potravinářského průmyslu, jako jsou mlékárny, pivovary, sladovny, konzervárny, škrobárny, dále pak odpadní vody z průmyslu kožedělného (obsahující také Cr<sup>3+</sup>) a textilního. Pro posouzení organického znečištění průmyslových odpadních vod je zaveden pojem populační ekvivalent. Jestliže je z průmyslového závodu vypouštěna odpadní voda obsahující X kg BSK<sub>5</sub> za den, říkáme, že její populační ekvivalent (PE) je 1000.X/60, což je znečištění vyjádřené počtem hypotetických obyvatel.

Některé průmyslové odpadní vody obsahují organické látky, které jsou sice toxické, ale přitom biologicky rozložitelné. K těmto patří fenoly, obsažené v odpadních vodách z petrochemického průmyslu, tepelného zpracování uhlí aj. Běžnou složkou mnoha průmyslových vod jsou ropné látky, což je ropa a produkty jejího zpracování. Jejich zdrojem je petrochemický a strojný průmysl, ale i autoopravny, střediska dopravy aj. Analyticky jsou charakterizovány stanovením nepolárních extrahovatelných částic (NEL). Rozpustnost ve vodě je u jednotlivých sloučenin obsažených v ropných produktech značně odlišná a dosahuje hodnot od setin po stovky mg.l<sup>-1</sup>. Vůči mikrobiálnímu rozkladu jsou většinou velice rezistentní, i když existují bakteriální druhy, které je rozkládají. Podle stupně disperzity se rozlišují ropné látky rozpuštěné a nerozpuštěné ve vodě, při čemž posledně uvedené se ještě dělí na volné a emulgované. Dalšími, v městských odpadních vodách se běžně vyskytujícími látkami, jsou tenzidy, které mají svůj původ v průmyslových, ale i ve splaškových vodách, do nichž se dostávají s pracími prostředky. Tenzidy tvoří podstatnou složku pracích prášků, zvaných detergenty (dříve saponáty). Detergent obsahuje vedle povrchově aktivních látek - tenzidů - ještě další látky, a to aktivační přísady (polyfosforečnany, deriváty škrobu a celulosy), plnidla (síran sodný), barviva, parfémy, bělící prostředky aj.

Obsahují-li průmyslové odpadní vody nadměrné koncentrace toxických látek, musí být tyto látky před vypuštěním do veřejné kanalizace odstraněny. K těmto látkám patří např.



kyanidy. Mezi látky, jejichž koncentrace jsou přísně limitovány, patří také těžké kovy. Jsou obsaženy především v odpadních vodách z povrchové úpravy kovů (Zn, Cu, Ni, Cr, Cd), kde jsou často obsaženy i kyanidy. Do veřejných kanalizací nesmí být vypouštěny odpadní vody příliš kyselé nebo alkalické. Přípustné pH bývá 6,0 až 8,5. Rovněž nadměrný obsah jinak neškodlivých látek je nepřipustný (Malá, 2005).

Tabulka 4: Přípustné koncentrace těžkých kovů pro biologické procesy (Hlavínek a kol., 2006)

<b>kov</b>	<b>Zn</b>	<b>Ni</b>	<b>Cu, Cr(III)</b>	<b>As,Cd</b>	<b>Cr (VI), Pb, Ag</b>	<b>Hg</b>
přípustná koncentrace [mg.l <sup>-1</sup> ]	2	1	0,5	0,2	0,1	0,005

Technologické vody mohou obsahovat v různých kombinacích:

- Organické látky biologicky rozložitelné
- Organické látky biologicky nerozložitelné, přitom netoxické
- Toxické organické nebo anorganické látky
- Ropné látky
- Anorganické rozpuštěné soli
- Anorganické rozpuštěné látky s kyselým nebo zásaditým chováním (kyseliny nebo louhy a obdobně reagující soli)
- Vyšší koncentrace anorganických živin (rozpuštěné sloučeniny dusíku a fosforu)
- Nerozpuštěné látky organické a anorganické
- Radioaktivní látky
- Tepelné znečištění
- Mikrobiologické znečištění (Chudoba a kol., 1991).

### 2.5.5.1. Organické látky ve vodách

Látky přítomné ve vodách jsou jak organického, tak anorganického charakteru. Organických látek, ať již přirozeného nebo antropogenního původu, bývá přítomno poměrně velké množství. V povrchových či odpadních průmyslových vodách roste jejich počet do stovek. Drtivá většina je však přítomna ve velmi nízkých koncentracích, a proto by separace a identifikace jednotlivých sloučenin byla velice složitá a pracná. Z tohoto důvodu se při ochraně vod identifikují (jako individua) hlavně látky nějakým způsobem významné, např.

toxické nebo biologicky obtížně rozložitelné. Identifikovat všechna jednotlivá individua není v mnoha případech ani nezbytné, neboť směs organických látek se nejčastěji odstraňuje jako celek biologickým způsobem. Proto se za vhodnější považuje stanovení celkového obsahu organických látek, bez rozlišování složek.

Metod existuje celá řada, ale nejvhodnější je taková, která má souvislost s metodou čištění, tj. oxidačním odbouráváním. Byla proto zvolena nepřímá metoda, určující obsah organických látek podle množství kyslíku spotřebovaného na jejich oxidaci. Pokud metoda používá biologickou oxidaci, hovoří se o **biochemické spotřebě kyslíku (BSK<sub>5</sub>)**. Index 5 naznačuje, že se spotřeba kyslíku měří v průběhu 5 dní a výsledkem je hodnota udávající mg kyslíku, spotřebovaného na oxidaci organických látek v 1 l vody. Užívá-li se k oxidaci chemických činidel (dnes převážně dichroman draselný v kyselém prostředí) označuje se výsledek analogicky jako **chemická spotřeba kyslíku – CHSK**. Protože chemická oxidace je daleko hlubší než biologická, umožní porovnání obou údajů určit obsah biologicky snadno a obtížně rozložitelných látek. Tyto dvě nepřímé metody jsou doplňovány třetí metodou, stanovující celkový obsah organického uhlíku (TOC) (Sákra a Dirner, 2006).

### 2.5.5.2. Druhy organických látek ve vodách

Ve vodách se vyskytují tyto druhy organických látek:

- **Fenoly a polyfenoly**

Fenoly mohou být ve vodách buď přirozeného nebo antropogenního původu. Fenolové sloučeniny se vyskytují ve všech orgánech rostlin a dřevin a skupinově se označují jako rostlinné fenolové sloučeniny. Fenolové sloučeniny mohou být vyluhovány vodou a způsobovat její barevnost.

Ve vodách, které jsou znečištěny průmyslovými odpady, koncentrace vzrůstá v době vodního květu. Při chloraci fenolů vznikají chlorfenoly, které silně zapáchají.

- **Huminové látky**

Odumřelé rostlinné a živočišné látky obsažené v půdě se biologicky rozkládají. Po delší době se tvoří humus, tmavě zbarvená amorfní organická složka půdy. Huminové látky jsou obsaženy v půdě, v rašelině a v dnových sedimentech, odkud jsou vyluhovány vodou. Z vodohospodářského hlediska je nutné odlišovat vodní a půdní humus, který se svým složením liší. Složení vodního humusu (vznikajícího rozkladem planktonu a rostlin a hromadícího se ve dnových sedimentech) se liší i podle původu (nádrže, toky).

Vodní humus je méně stabilizován než humus půdní a obsahuje méně uhlíku a dusíku a více kyslíku. Huminové látky jsou přítomné ve všech přírodních vodách. Pro vody z rašelinišť je charakteristická větší koncentrace železa, manganu a amoniakálního dusíku. Chemicky jsou huminové látky dobře oxidovatelné a biologicky jsou velmi rezistentní. Přítomnost těchto látek ve vodě se projevuje jejím zbarvením a případně i zapácháním. Vodu zbarvují žlutě až hnědě. Huminové látky jsou v pitných, užitkových a provozních vodách nežádoucí. Vadí zejména v těch odvětvích průmyslu, kde mohou znehodnocovat kvalitu výrobků jejich zbarvením např. v textilním a papírenském průmyslu.

- **Lignin a ligninosulfonové kyseliny**

Lignin je po celulóse a hemicelulóse další významnou složkou rostlinných tkání. Jeho obsah ve vodě je asi 20 až 30%. Výroba celulósy ze dřeva spočívá v jejím oddělení od ligninu a dalších doprovodných látek. Při sulfitovém způsobu se působením hydrouhličitanů převádí lignin na rozpustný ligninosulfonan. Při sulfátovém způsobu přechází lignin působením hydroxidu sodného na alkalignin. Odpadní vody z výroby celulósy jsou velmi závadné, a proto je důležité znát vlastnosti ligninu při řešení problémů v hydrochemii a technologii vody.

Struktura ligninu není zcela objasněna. Lignin není chemickým individuem a jeho struktura se zjišťuje podle produktů jeho chemického a biologického rozkladu. Lignin lze charakterizovat jako bezdusíkatou makromolekulární látku aromatického charakteru. Při výrobě celulósy sulfitovým způsobem se lignin převádí varem na ligninosulfonové kyseliny. Tyto kyseliny jsou ve vodě rozpustné a tvoří biologicky těžko rozložitelnou součást znečištění odpadních vod.

Z fyzikálně chemických vlastností ligninosulfonanů je nutno uvést jejich povrchovou aktivitu, která je příčinou pění vod, znečištěných sulfitovými výluhy. Ligninosulfonany způsobují hnědé zbarvení povrchových vod.

- **Pesticidy**

Prostředky k hubení rostlinných a živočišných škůdců se nazývají pesticidy. Pesticidy jsou cíleně vnášeny do životního prostředí, a proto jsou potenciálními kontaminanty jeho složek. Obsahy pesticidů ve vodách jsou zčásti legislativně regulovány. Týká se to hlavně finální pitné vody, pro kterou byly v rámci Evropské unie převzaty její požadavky. Pro jednotlivý pesticid platí mezní hodnota  $0,1 \mu\text{g.l}^{-1}$  a pro sumu pesticidů  $0,5 \mu\text{g.l}^{-1}$ .

- **Karcinogenní látky**

Karcinogenní látky jsou obsaženy v exhalacích ze spalování paliv, ve výfukových plynech motorových vozidel, a tedy i v prašném spadu velkých měst. Daleko více než voda je však karcinogenními látkami znečištěna atmosféra a potraviny. Sorbují se na nerozpuštěných látkách. Jsou málo rozpustné a kumulují se v sedimentech. Biochemicky jsou značně rezistentní.

- **Tenzidy a detergenty**

Velmi frekventovanou skupinu polutantů představují tenzidy, které jsou používány téměř ve všech sférách průmyslové výroby a kromě toho jsou jednou z hlavních komponent většiny pracích a čistících prostředků (Štěrbá a Rosol, 1989).

Jsou to povrchově aktivní látky s dlouhým hydrofobním řetězcem a alespoň jednou hydrofilní skupinou. Ve vodách se mohou vyskytovat saponiny z odpadních vod cukrovarnického průmyslu.

Detergenty, kromě tenzidů, obsahují aktivační přísady (polyfosforečnany, peroxoboritany, křemičitany), plniva (síran sodný) a některé speciální přísady (optické rozjasňovací prostředky, barviva, parfémů). Syntetický detergent obsahuje synteticky vyrobené tenzidy (Hlavínek a Říha, 2004).

- **Ropné látky**

Ropa, jako surovina, se uplatňuje v mnoha sférách lidské činnosti. Jako s polutantem se s ní setkáváme nejprve při těžbě, kdy dochází ke znečištění půdy a podzemních vod v rozsáhlém okolí těžebních lokalit vrtnými kaly a ložiskovými vodami, dále při přepravě, ať již železniční, automobilové či prostřednictvím ropovodů a posléze při vlastním zpracování a využívání v jednotlivých výrobcích, kde jednotlivé frakce a deriváty ropy slouží jako suroviny (výroba fenolů, léčiv, gumy aj.) (Štěrbá a Rosol, 1989).

Benziny, petroleje, plynové oleje, mazací oleje a další výrobky z ropy patří ke skupině látek stanovovaných po extrakci do rozpouštědla jako nepolární extrahovatelné látky (Hlavínek a kol., 2003).

Čím je délka řetězce větší, tím je horší rozpustnost ropných uhlovodíků. Olejovitý film na hladině se začíná vytvářet při koncentraci větší než 0,1 až 0,2 mg.l<sup>-1</sup>. 50 litrů oleje stačí pokrýt km<sup>2</sup> vodní plochy o tloušťce vrstvy 0,05 mm.

Ropné uhlovodíky ovlivňují pach a mají schopnost kumulovat se ve vodních organizmech a dnových sedimentech. Olejový film na hladině zpomaluje přístup

kyslíku do vody a ovlivňuje tak biochemický rozklad probíhající ve vodách (Hlavínek a Říha, 2004).

- **Chlorované organické látky**

Patří k látkám s podobnými vlastnostmi jako ropné látky. Ve vodě mohou být ve formě volné, emulgované i rozpuštěné (Hlavínek a kol., 2003).

Kromě již zmíněných chlorfenolů a chlorovaných pesticidů se ve vodě vyskytuje řada dalších organických chlorderivátů, jejichž obsah je důležitým ukazatelem jakosti vody. Vzhledem k mimořádné škodlivosti těchto látek, z nichž některé patří mezi karcinogenní nebo potenciálně karcinogenní látky, je jim věnována zvláštní pozornost. Kromě identifikace jednotlivých látek má význam i stanovení koncentrace veškerých organických chlorovaných látek jako jednoho z možných ukazatelů kvality vody (Hlavínek a Říha, 2004).

### 2.5.5.3. Anorganické látky ve vodách

Obsah anorganických látek přírodního původu se mění od přirozeně tvrdých vod až po vody minerální. Antropogenním působením se obsah nežádoucích rozpuštěných chemických sloučenin může zvýšit do vysokých hodnot. Přesto však lze v převážné většině případů hovořit o konečném počtu chemických individuů.

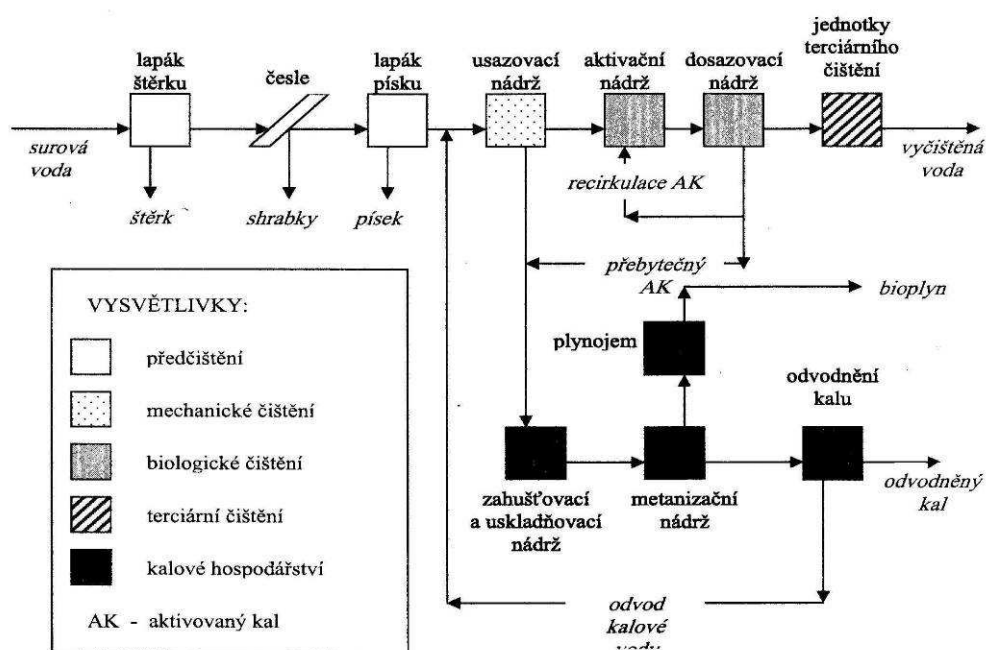
Podzemní vody obsahují látky, které se ve vodě rozpustily při průchodu horninovým prostředím, především jsou to různé soli sodíku, draslíku, vápníku a hořčíku, železa a dalších prvků, obvykle ve formě kationů. Z anionů přistupují chloridy, sírany, dusičnany atd. Ve vodách povrchových a odpadních k nim přistupuje řada dalších anionů, která je specifická pro to či ono odvětví průmyslu. Dokonce i vody srážkové se při průchodu atmosférou obohatí o rozpuštěné plyny. Z nich jsou nejméně žádoucí oxidy síry a dusíku, neboť pH srážkových vod může klesat až na hodnotu 3 a jedná se pak o tzv. kyselé deště, jejichž destruktivní působení na lesní porosty je dostatečně známo.

Z biogenních prvků má význam obsah dusíku a fosforu – kladný jako nezbytné prvky pro biologické čištění vod, při jejich vysoké koncentraci. Význam záporný pro podporu eutrofizace vod. Ke stanovení obsahu anorganických látek se užívají metody obvyklé v chemické analýze anorganických sloučenin (Sákra a Dirner, 2006).

## 2.6. Technologie čištění odpadních vod ve velkých ČOV

Technologie čištění odpadních vod vychází z procesu samočištění probíhajícího v přírodních vodách. V přírodních vodních tocích a nádržích dochází k zachycování částí nerozpuštěných látek na různých překážkách, kde se nahromaděné látky dále biologicky rozkládají. Ostatní nerozpuštěné látky v přírodních tocích a vodních nádržích postupně sedimentují a k jejich biologickému rozkladu dochází v bahnitých usazeninách většinou bez přístupu kyslíku (anaerobně). Nerozpuštěné anorganické (biologicky inertní) látky ve vodě pouze sedimentují a tvoří spolu se zbytky nerozpuštěných organických látek sedimenty na dně vodního toku popř. nádrže (Švehla a kol., 2004). Městským čistírnám se říká také čistírny odpadních vod veřejných kanalizací. Veřejná kanalizace je ve smyslu zákona o vodách soubor objektů a zařízení k odvádění, popřípadě i zneškodňování odpadních a srážkových vod z obcí a sídlišť (Chudoba a kol., 1998).

Obr. 2: Blokové schéma technologické linky velkých a středních čistíren městských odpadních vod (Švehla a kol., 2004)



V první fázi čištění, kterému se říká předčištění se surová voda zbavuje hrubých nerozpuštěných předmětů a látek, jejichž přítomnost je nežádoucí v dalších procesech čištění. Předčištění obvykle zahrnuje lapák štěrku, česle a lapák písku. Jenom velice zřídka se za lapáky písku řadí lapáky tuků (Chudoba a kol., 1991). Lapáky štěrku se obvykle zařazují tam,

kde se používají strojně stírané jemné česle. Ty jsou součástí kanalizace. Jedná se v podstatě o jímky, ve kterých se zachytí hrubé a těžké předměty sunuté odpadní vodou po dně stokové sítě (Švehla a kol., 2004). Odpadní voda zbavená předčištěním hrubých nečistot a písku se převádí na tzv. mechanické čištění. Hlavní jednotkovou operací je zde sedimentace v usazovacích nádržích, ve kterých se zachytí většina usaditelných látek. Materiál oddělený v usazovacích nádržích od odpadní vody se nazývá primární kal (pochází z mechanicko - primárního čištění) (Švehla a kol., 2004). Odpadní voda zbavená hrubých nečistot předčištěním (česle, lapáky písku) a většiny usaditelných látek a tuků mechanickým čištěním (usazovací nádrže) se přivádí na biologické aerobní čištění. Biologické aerobní čištění se skládá z vlastní biologické jednotky (reaktory se suspenzní kulturou ve vzosu - aktivační nádrže nebo biofilmové reaktory s kulturou přisedlou na náplni) a z nádrže separační – dosazovací. Často se biologické aerobní čištění také označuje jako sekundární čištění (Chudoba a kol., 1991). Biologická jednotka a jednotka separační tvoří nezbytné součásti aerobního biologického čištění. V biologické jednotce se odstraňují zejména biologicky rozložitelné organické látky, a to biochemickými oxidačními a syntézními pochody. Syntézou nové biomasy se odstraňuje z odpadních vod i část dusíku a fosforu. Suspenze biomasy se od vyčištěné vody odděluje v dosazovací nádrži a vrací se (recirkuluje) potrubím zpět do aktivační nádrže. V systémech s biofilmovými reaktory se v dosazovací nádrži separuje stržený biofilm, který se již nerecirkuluje zpět do biologického reaktoru. Přebytná biomasa v obou systémech (označovaná jako sekundární kal, v případě aktivačního systému též přebytný aktivovaný kal) je zahušťován v zahušťovací nádrži. Sekundární kal může být zahušťován samostatně, případně je zahušťována směs primárního a sekundárního kalu. Primární i sekundární kal je zpracováván v kalovém hospodářství ČOV s využitím anaerobních procesů. Kalové hospodářství se skládá z nádrže zahušťovací, z nádrže metanizační (vyhňovací), z mechanického odvodňování kalu a z plynojemu. Do metanizační nádrže vstupuje většinou směs zahuštěného primárního a sekundárního kalu, která se nazývá směsný surový kal. Mechanicko – biologicky vyčištěná odpadní voda je někdy podrobena dalšímu, tzv. terciárnímu čištění. Terciární čištění je možné definovat jako jakékoliv zpracování odtoků z mechanicko – biologických čistíren za účelem snížení zbylého chemického a mikrobiologického znečištění. Při tomto způsobu čištění se nejčastěji používá chlorace, biologické dočišťování ve stabilizačních nádržích, filtrace (mikrosíta, písek, náplň z plastů aj.) adsorpce na aktivním uhlí a srážení (Švehla a kol., 2004).

### 2.6.1. Předčištění a mechanické čištění odpadních vod

Při čištění městských odpadních vod je třeba odstranit především hrubé, makroskopické látky, jejichž přítomnost by mohla vést v dalších stupních čištění k mechanickým závadám a zanášení objektů a zařízení ČOV.

Z hlediska technologie čištění se jedná o poměrně jednoduché procesy založené na jevech jako jsou sedimentace (lapáky písku, lapáky šterku), flotace (lapáky tuků a olejů) nebo cezení (česle, síta) (Hlavínek a kol., 2006).

Pro odstranění hrubých nečistot z vody jsou vhodná **česle a síta**. Ta bývají různé konstrukce a rozličné velikosti průlin, popř. otvorů, které určují velikost zachycených částic. Zařízení, sloužící k hrubému a jemnému cezení vody, se používá jako první čistící článek v ČOV. Jejich hlavní funkcí je chránit ČOV (zejména čerpadla) proti poškození. Česle bývají vyrobeny z oceli. Základní rozlišení česlí je na česle hrubé a jemné. Další dělení je podle způsobu jejich vyklízení na česle ručně a strojně stírané. Produktem, který vzniká na česlích jsou shrabky (Švehla a kol., 2004).

**Lapáky písku** jsou zařízení, která slouží k zachytávání písku a minerálních částic, s takovou účinností, aby byla zajištěna ochrana dalších objektů a zařízení ČOV. Je navržen tak, aby byly zachyceny částice do velikosti zrn 0,2 až 0,25 mm (Hlavínek a kol., 2006). Lapáky písku pracují na principu snížení průtočné rychlosti vody. Využívá se zde gravitační síly a rozdílu hustot. Tento lapák může současně oddělovat plovoucí látky (tuky). Protože se proudění zpomalí, začnou lehčí látky vzplývat. Hladina je stírána hladinovou lištou do žlabu, odtud je setřený tuk veden ke zpracování do kalového hospodářství. Lapáky jsou pravoúhlé nebo kruhové nádrže, obvykle vybavené zařízením pro stírání dna i hladiny ([www.etext.czu.cz](http://www.etext.czu.cz)).

Podle směru průtoku vody rozlišujeme lapáky písku horizontální, vertikální a lapáky s příčnou cirkulací (Dohányos a kol., 1998).

### 2.6.2. Odlučování lehkých částic

K látkám s hustotou menší než je hustota vody patří především ropné látky (i když některé jejich frakce jsou těžší než voda) a tuky. Na částice působí v separačním procesu stejné síly jako při odlučování částic sedimentací. Rozdíl je v tom, že síla vztlaku je větší než síla gravitační, a proto se částice pohybují vzhůru, při čemž síla odporu třením má opačný směr než je pohyb částic (Hlavínek a kol., 2006).



V **lapáku tuků** je možno odstranit tuky, oleje a další plovoucí nečistoty vyskytující se v odpadní vodě. Zařazení samotného lapáku tuku do technologické linky městské ČOV je nutno zvážit podle koncentrace tuků, olejů a jiných plovoucích nečistot v odpadní vodě. Pokud lapák tuku není zařazen, zachycují se tuky spolu s ostatními plovoucími látkami v usazovací nádrži. U velkých čistíren nebo tam, kde jsou vyšší koncentrace tuků z místního průmyslu, se za lapáky písku budují samostatné lapáky tuku. Pro městské odpadní vody se nejčastěji používají lapáky tuku provzdušňované. Tuky mají být na ČOV skladovány co nejkratší dobu před jejich finální likvidací, nejlépe spálením (Švehla a kol., 2004).

### 2.6.3. Flotace

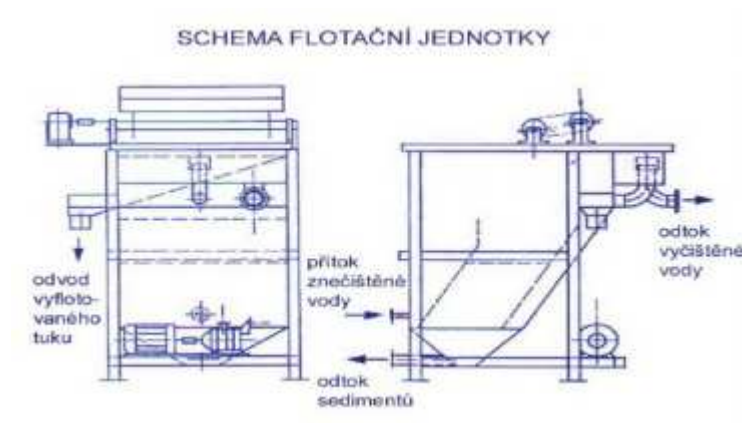
Flotace je separační proces, používaný k oddělování tuhé fáze od kapalné, při kterém se nerozpuštěné látky spojují s mikrobublínkami plynů a vytvářejí flotační komplexy, jejichž specifická hmotnost je menší než specifická hmotnost kapaliny. V důsledku toho stoupají flotační komplexy ke hladině, ze které jsou odstraňovány (Hlavínek a kol., 2006).

Flotace je metoda vhodná pro odstranění nerozpuštěných látek, jejichž specifická hmotnost je blízká specifické hmotnosti vody a proto tyto látky nelze odstranit sedimentací, která probíhá pomalu nebo neprobíhá vůbec. Takové látky se vyskytují v papírenských vodách, v textilním průmyslu (prádelny a barvírny), v potravinářském průmyslu (tuky) a v průmyslu zpracování ropy. Flotace se rovněž používá často pro oddělování vločkovitých kalů, vznikajících při čištění zaolejovaných vod a stabilizovaných emulzí (univerzální deemulgační čistírny). Vzduch potřebný pro flotaci může být do systému dodáván ve formě jemných bublinek pomocí jemnobublinné aerace. V tomto případě se jedná o tzv. **mechanickou flotaci**. Bublínky vzduchu takto vzniklé jsou poměrně velké (obvykle o průměru 1 mm) a flotační komplexy proto mají malou stabilitu. Aby se vytvořily stabilnější komplexy, přidávají se pěnotvorné látky (tenzidy) a sběrné látky. Jinou možností je tříštění bublinek ultrazvukem. Tento způsob se používá především pro odstranění hrubozrnných suspendovaných látek (Dohányos a kol., 1998).

Vzniku mikrobublin, jejichž optimální velikost je 10 až 100  $\mu\text{m}$ , se v disperzním prostředí dosáhne různými způsoby, podle nichž dělíme flotaci:

- Snížením tlaku v systému – vakuová flotace
- Jemnobublinným provzdušněním (event. za přídavku smáčedel) - volná flotace
- Expanzí vody nasycené vzduchem při zvýšeném tlaku - tlaková flotace
- Denitrifikační pochody v biomase za vzniku plynného dusíku - biologická flotace
- Přídavkem chemikálií uvolňující plyn (např. peroxidu vodíku uvolňujícího kyslík) - chemická flotace (Hlavínek a Malý, 1996).

Obr. 3: Flotační jednotka (schéma) (Hlavínek a kol., 2006)



Obr. 4: Flotační jednotka (odpovídá schématu) (Hlavínek a kol., 2006)



## 2.6.4. Sedimentace (Usazování)

Usazování patří k nejrozšířenějším separačním procesům, kde separace tuhých částic je dána gravitací závisující na velikosti a tvaru částice, na její hustotě a na hustotě kapaliny. Z hlediska usazování je důležitý i charakter suspenze. V technologii vody se rozlišují suspenze tvořené z částic zrnitých a vločkovitých. U zrnitých nemění částice při usazování svůj tvar (částice proti vodnému prostředí ostře ohraničené - písek). Rozhraní mezi oběma fázemi (pevnou a kapalnou) je tvořeno plochou povrchu částice. U vločkovitých suspenzí netvoří pevné částice s kapalinou ostré rozhraní. K vločkovitým suspenzím patří např. biologický aktivovaný kal nebo hydroxidy těžkých kovů. Z empirických zkušeností se separují částice o sedimentační rychlosti vyšší než  $10^{-5}$  m za hodinu (Švehla a kol., 2004).

### Rozlišení separace suspendovaných částic sedimentací

Při sedimentaci částic suspenze se rozlišuje:

- Prostá sedimentace, při níž si částice zachovávají individuální charakter a pro každou platí vztahy pro pád izolované částice.
- Rušená sedimentace, u níž dochází při nárůstu objemové koncentrace suspendovaných částic nad cca 0,5% k vzájemnému ovlivňování. Při tom si částice zachovávají svůj individuální charakter, svůj tvar i velikost (Hlavínek a Malý, 1996).

### Zahušťování suspenzí

Zvyšuje-li se koncentrace suspenze, vytváří se při její sedimentaci rozhraní mezi kapalinou a vrstvou zahuštěné suspenze (kalem). Částice ztrácejí individuální charakter a vytvářejí pórovitou vrstvu, která svým pohybem ve směru tíhového zrychlení vylučuje kapalnou fázi a tím se zahušťuje. U biologických kalů (aktivovaného) dochází k tomuto jevu při koncentracích 0,5 až  $5 \text{ kg.m}^{-3}$ , u kalů anorganických při koncentracích podstatně vyšších (nad  $50 \text{ kg.m}^{-3}$ ) (Malá, 2005).

### Usazovací nádrže

Pro zachycení usaditelných látek slouží ve vodárenství i při čištění odpadních vod usazovací nádrže. Dle směru průtoku a tvaru se rozlišují usazovací nádrže:

- Pravoúhlé s horizontálním průtokem (Lipského typu)
- Kruhové s horizontálním průtokem (radiální)
- S vertikálním průtokem

**Pravoúhlé nádrže s horizontálním průtokem** jsou obdélníkového tvaru. Voda jimi protéká po délce, přitom vtokový a odtokový objekt jsou zpravidla na opačných koncích podélné nádrže. Kal je stírán do jímký umístěné u vtokového objektu a odtud odváděn potrubím. U **kruhové horizontální nádrže** je suspenze přiváděna do uklidňovacího válce v jejím středu odkud postupuje k obvodu, kde je umístěn přepadový žlab pro odvádění vody zbavené usaditelných látek. Kal je na dně shrnován stěracím zařízením do středu nádrže, odkud je odváděn potrubím. U **vertikálních nádrží** je suspenze přiváděna středovou troubou ke spodnímu horizontu usazovacího prostoru, odkud postupuje směrem vzhůru do sběrných žlabů. Kal se shromažďuje v konickém kalovém prostoru pod prostorem usazovacím a je odváděn ze dna nádrže potrubím, působením hydrostatického přetlaku. Tyto nádrže nebývají vybaveny stěracím zařízením, sklon stěn však musí být cca 2:1, aby po nich kal klouzal ke dnu. Nádrže s vertikálním průtokem se navrhují většinou pro malé ČOV jako nádrže dosazovací (Malá, 2005).

### **Dosazovací nádrže**

Usazovací nádrže sloužící k oddělení biologického kalu sedimentací se nazývají dosazovací nádrže. Jsou zpravidla nedílnou součástí biologických čistíren s aktivací nebo s aerobními biologickými kolonami (Malá, 2005). Dosazovací nádrže musí mít velkou separační účinnost, proto se doporučuje, aby tyto nádrže byly vybaveny zařízením k zachycování vloček vyflotovaných k hladině. K tomu účelu se používají norné stěny a stírání hladiny. V případě, že nejsou do provozu čistírny zařazeny primární usazovací nádrže, je toto opatření nezbytné (Dohányos a kol., 1998).

### 2.6.5. Filtrace

Filtrace je obvykle jedním ze závěrečných technologických článků při úpravě vody, následuje buď jako druhý stupeň (za sedimentací nebo čiřením), anebo za rychlým nebo pomalým mícháním. V obou uvedených případech se na filtrech zachycují přepadající vločky. Mezi nejdůležitější faktory, které bezprostředně ovlivňují účinnost filtrace patří charakter a množství suspendovaných látek ve filtrované vodě, zrnitost a výška filtrační náplně, filtrační rychlost, filtrační odpor písku k průtoku filtrované vody, teplota vody a s ní související viskozita (Dohányos a kol., 1998).

Filtrace se používá při čištění odpadních vod tehdy, jestliže jsou požadavky na nízkou koncentraci nerozpuštěných látek v odtoku. Často se také využívá jako předčištění před procesy, kde by přítomnost nerozpuštěných látek v čištěné vodě vadila (úprava vody ionexy, membránové separační procesy, adsorpce). Nebo pro dočištění odtoku z biologických čistíren, neboť hlavní podíl zbytkového znečištění tvoří právě neusaditelné nerozpuštěné látky, které lze zachytit filtrací. Filtrace se používá rovněž pro zachycení zbylých vloček po koagulaci.

Při čištění odpadních vod se používá filtrace ve dvou odlišných technologických variacích:

- Filtrace suspenzí s malou koncentrací přes vrstvu zrnitého materiálu
- Filtrace koncentrovaných suspenzí přes filtrační přepážku (Dohányos a kol., 1998).

### 2.6.6. Koagulace (Čiření)

Koagulace, neboli čiření, je fyzikálně chemický proces, kterým se z vody odstraňují koloidní látky anorganického a organického původu. Cílem tohoto technologického postupu je vytvořit takové podmínky, aby se nečistoty přítomné ve vodě převedly do separovatelné formy větších celků, které lze z vody odstranit např. sedimentací nebo filtrací.

Čiření spočívá v dávkování dvojmocných nebo trojmocných solí železa a hliníku, koagulantů, které hydrolýzou poskytují hydroxid železitý a hlinitý. Na jeho povrchu pak dochází k adsorpci iontů, a vznikají tak např. kladně nabitě produkty částečné hydrolýzy železité či hlinité soli a sorbovaných iontů Fe a Al, které koagulují, popřípadě reagují s nečistotami koloidní povahy se záporným elektrickým nábojem. Vznikají separovatelné částice, vločky, které se mohou odstranit, jak již bylo výše uvedeno, sedimentací, filtrací či průchodem vločkového mraku v čiřičích. Nejčastěji jsou vytvořené vločky z vody separovány filtrací vločkovým mrakem, kde vlivem adhezních sil dochází k separaci suspenzí podobně jako u pískových filtrů.

Jako koagulační činidla - koagulanty, jsou nejčastěji používány sole železa a hliníku, chlorid železitý, síran železitý (pod obchodním názvem Prefloc či Feripres), síran železnatý a síran hlinitý.

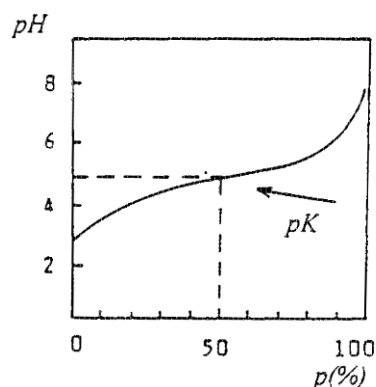
Zařízení, která jsou používána pro čiření vody jsou čířiče. Dochází v nich ke koagulaci, sedimentaci a částečné filtraci a upravovaná voda v nich proudí vertikálně odspoda nahoru. K filtraci či separaci kalu dochází ve vločkovém mraku, který se udržuje ve vznosu buď hydraulicky nebo hydraulicko-mechanicky. Upravená voda odchází z hladiny čířiče a je odváděna na filtry (Dohányos a kol., 1998).

### 2.6.7. Neutralizace

Neutralizace je pochod, který je obvykle předřazen dalším chemickým či biologickým čistícím metodám a často bývá jedinou čistící metodou. Je při ní upravováno pH vody na přijatelnou hodnotu. Hodnota pH vody ve vodárenských tocích musí být po smíšení vod odpadových s vodami v recipientu v mezích 6,0 až 8,5. V ostatních povrchových vodách 6,0 až 9,0. Při neutralizaci vznikají jednak dobře rozpustné soli, jednak málo rozpustné sloučeniny, které v procesu čištění vody vypadávají a je proto nezbytné zařadit po neutralizaci jejich vhodné oddělení fyzikální cestou (sedimentací, filtrací) (Sákra a Dirner, 2006).

Odpadní vody z některých průmyslových výroby mají kyselý nebo zásaditý charakter, obsahují kyseliny nebo zásady. Kyseliny jsou sloučeniny uvolňující disociací vodíkové kationy  $H^+$ , zásady jsou sloučeniny, uvolňující disociací hydroxidové aniony  $OH^-$ . Při neutralizaci kyseliny se přidává zásada a při neutralizaci zásady kyseliny. Při neutralizaci je důležitý nejen stechiometrický poměr kyseliny a zásady, ale i závislost pH na přidaném neutralizačním činidle. Tuto závislost, vyjádřenou graficky, nazýváme neutralizační křivkou.

Obr. 5: Neutralizační křivka kyseliny octové ([www.sci.ujep.cz](http://www.sci.ujep.cz))



Pro neutralizaci kyselých vod se používá roztok NaOH nebo levnější  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . Rozpustnost  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  je pouze cca  $1 \text{ g.l}^{-1}$ , používá se však jeho suspenze zvaná vápenné mléko. Pro neutralizaci alkalických vod se používá roztok  $\text{H}_2\text{SO}_4$  nebo HCl, dále je možné použít kouřové plyny, obsahující  $\text{CO}_2$ , příp. i  $\text{SO}_2$  (Hlavínek a Malý, 1996).

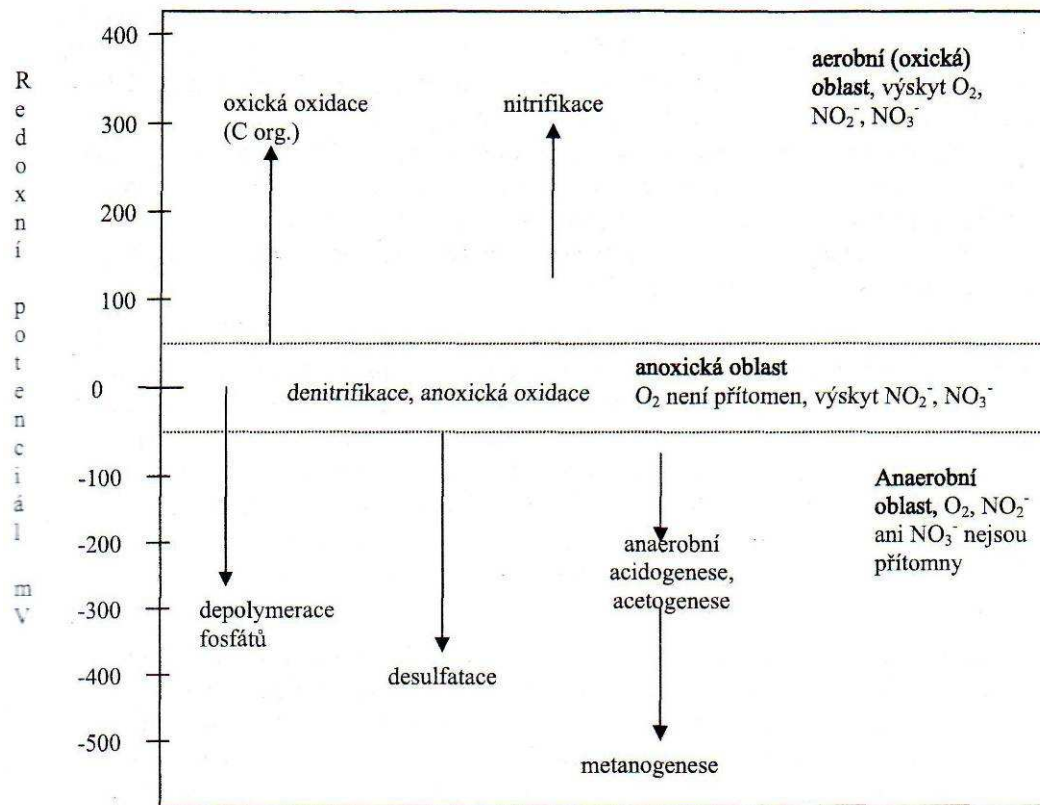
## **2.7. Biologické čištění odpadních vod**

Využívání mikroorganismů pro čištění odpadních vod a zpracování odpadů je klasickým příkladem aplikace biotechnologií v ochraně životního prostředí. Donedávna se pod pojem biologické čištění odpadních vod zahrnovaly výlučně aerobní čistírenské technologie. V posledních letech však vývoj anaerobních technologií čištění odpadních vod a anaerobních procesů zařadil tyto způsoby na úroveň aerobních (Švehla a kol., 2004).

### **2.7.1. Rozdělení biochemických čistírenských procesů podle konečného akceptoru elektronů**

Základním principem všech biologických čistírenských procesů jsou biochemické oxidačně - redukční reakce. Rozhodujícím faktorem pro rozdělení těchto reakcí je konečný akceptor elektronů a s tím související hladiny oxidačně - redukčních potenciálů. Rozdělení biologických čistírenských procesů podle hladiny redoxních potenciálů je patrné z obrázku č.6.

Obr. 6: Hladiny redoxních potenciálů charakterizující biologické čistírenské procesy (Švehla a kol., 2004)



Původní aerobní oblast se v současném názvosloví označuje jako oxická (kyslíkatá). Probíhají v ní pochody oxidace organických látek a nitrifikace. Rozpuštěný kyslík je konečným akceptorem elektronů. Podle obr.6 je oxická oblast při hodnotách redoxních potenciálů nad 50 mV. Oblast v níž se hodnoty redoxních potenciálů pohybují v rozmezí od -50 do 50 mV nazýváme oblastí anoxickou (bezokyslíkatou) a probíhá v ní denitrifikace (anoxická oxidace, nitrátová respirace). Rozpuštěný kyslík není přítomen, v roztoku jsou dusičnany a dusitany. Dusičnanový a dusitanový dusík slouží jako konečný akceptor elektronů. Pochody depolymerace polysulfátů a desulfatace zde probíhají jenom v nepatrné míře. Není-li přítomen rozpuštěný kyslík ani dusičnany či dusitany, dostáváme se do oblasti zvané anaerobní, pro kterou jsou charakteristické hodnoty redoxních potenciálů pod -50 mV. Probíhá zde depolymerace polysulfátů (při biologickém odstraňování fosforu), desulfatace, anaerobní acidogenese, acetogenese a methanogenese. Konečným akceptorem elektronů je v tomto případě vlastní organická látka (část molekuly se oxiduje, část se redukuje) (Dohányos a kol., 1998). Faktem je, že organické látky způsobující znečištění v odpadních vodách nebo vyskytující se v jiných odpadech, jsou substrátem (potravou) pro



mikroorganismy. V podstatě se tedy jedná o řízené kultivace mikroorganismů (Švehla a kol., 2004).

### **2.7.2. Stanovení biologické čistitelnosti průmyslových odpadních vod**

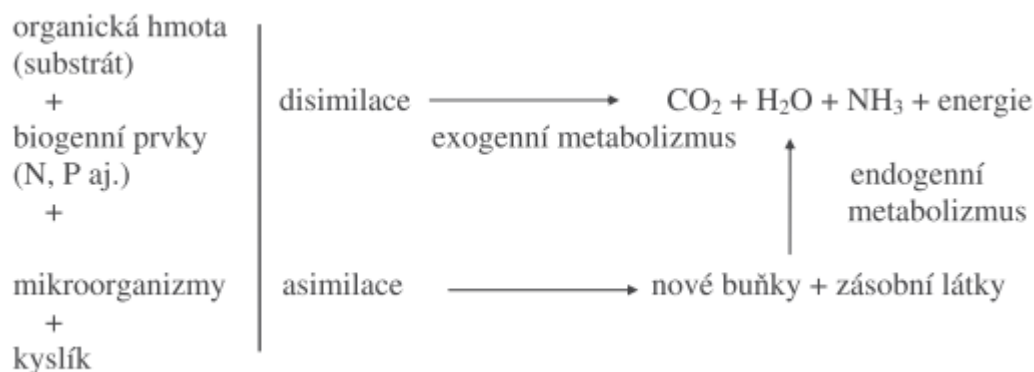
Prakticky všechny městské odpadní vody lze čistit biologicky bez závažných problémů. Naproti tomu při biologickém čištění odpadních vod průmyslových se často setkáváme s nemalými potížemi, pramenícími z charakteru organického i anorganického znečištění přítomného v těchto vodách. Pro čištění průmyslových odpadních vod se navrhuje způsoby fyzikálně chemické, chemické a biologické. Použitelnost jednotlivých postupů závisí na množství a složení odpadní vody. Z ekonomických důvodů a pro vysokou účinnost se dává přednost biologickému čištění. Tento postup je však možný a efektivní pouze v tom případě, kdy znečištění odpadní vody způsobují látky biologicky rozložitelné. Jeho hlavní předností je skutečnost, že nevnáší do čištěné vody jiné znečišťující látky. Pojem biologická rozložitelnost je relativní, protože závisí na vhodné a dostatečné adaptaci mikroorganismů a na podmínkách, za kterých byl rozklad sledován. Místo o látkách nerozložitelných je proto přesnější hovořit pouze o látkách biologicky obtížně rozložitelných nebo ještě lépe velice pomalu rozložitelných. Ze stejných důvodů je i pojem toxicity vody relativní. Látky v odpadní vodě mohou být toxické pro ryby, avšak pro mikroorganismy aktivovaného kalu mohou být při stejné koncentraci zcela neškodné. Musí být voleny vždy takové druhy testovacích organismů, které odpovídají účelu, pro který se toxicita určuje (Chudoba a kol., 1991).

### **2.7.3. Procesy aerobního rozkladu organických látek**

Hlavním účelem biologického čištění je odstranění organických látek z odpadní vody, které se uskutečňuje působením mikroorganismů a je výsledkem jejich metabolické činnosti. Tento biochemický proces je provázen, nebo mu předchází proces adsorpce suspendovaných a koloidních látek z odpadní vody na velice aktivní povrch biomasy aktivovaného kalu nebo u biofilmových reaktorů na povrch biofilmu. Může se jednat o látky biologicky rozložitelné nebo biologicky více či méně rezistentní, jako např. látky ropné nebo těžké kovy (kovy jsou přijímány i buňkami organismů), které se tímto způsobem z odpadní vody odstraní. Vedle výše uvedených procesů se za vhodných podmínek mohou uplatnit v průběhu aerobního biologického čištění i další, jako je mikrobiální oxidace amoniaku na dusitany a dusičnany

působením nitrifikačních bakterií (nitrifikace). Při biologickém čištění odpadních vod v aerobních podmínkách se uplatňují biochemické procesy, podmíněné činností aerobních mikroorganismů, které rozkládají organické látky obsažené ve vodě (substrátu) oxidačními procesy za přítomnosti molekulárního kyslíku. Schematicky lze proces mikrobiálního rozkladu organické hmoty v aerobních podmínkách znázornit tak, jak je vidět na obrázku č. 7.

Obr. 7: Mikrobiální rozklad organické hmoty v aerobních podmínkách (Malá, 2005)



Konečnými produkty tohoto velmi složitého procesu s velkou řadou dílčích stupňů a meziproduktů jsou  $\text{CO}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$  a ze substrátu obsahujícího dusík zpravidla amoniak. Z důvodu, že výslednými produkty rozkladu jsou anorganické látky, jedná se v podstatě o mineralizaci organické hmoty. Rozkladným procesem získávají mikroorganismy energii, nezbytnou ke stavbě jejich buněčné hmoty. K syntéze buněčné hmoty potřebují mikroorganismy také biogenní prvky, které získávají z vnějšího prostředí, i z rozloženého organického substrátu. Z makrobiogenních prvků C, H, O, N a P, bývá při čištění odpadních vod někdy deficitní dusík a fosfor, který je třeba přidávat ve formě sloučenin tyto prvky obsahujících. Syntetickými pochody (asimilací) se tvoří organická hmota pro nové buňky a zásobní látky mikroorganismů. Při nedostatku exogenního substrátu získávají mikroorganismy energii především procesem tzv. endogenního metabolismu, při němž jsou rozkládány zásobní látky. Průběh obou procesů není však přesně oddělen. Endogenní metabolismus probíhá někdy i v přítomnosti substrátu (Hlavínek a kol., 2006).

Při biologickém čištění odpadní vody v aerobních podmínkách musí být splněny všechny výše uvedené základní podmínky. Organická hmota jako substrát bývá k dispozici v odpadní vodě, stejně jako biogenní prvky, jejichž případný deficit musí být dotován. Zajištění dostatečného přívodu kyslíku je základní podmínkou pro aerobní proces. Mikroorganismy musí být v biologické jednotce vypěstovány v potřebném množství jejím zpracováním, přičemž se vychází z jejich přítomnosti ve splaškové vodě. Při čištění

samostatných průmyslových vod je často nutné naočkování biologické jednotky biologickým kalem z jednotky již provozované. Pokud se jedná o specifický substrát (např. s obsahem fenolů), je nutné zpracování biomasy na tento substrát s postupným zvyšováním jeho přiváděného množství do reaktoru.

Způsoby aerobního čištění odpadních vod se rozdělují na přirozené, simulující přírodní podmínky a na umělé, probíhající v reaktorech. Umělé způsoby čištění lze rozdělit na procesy s biomasou ve vznosu, nazývané aktivace a na procesy s biomasou přisedlou, mezi nimiž mají dominantní postavení zkrápěné biologické kolony a rotační diskové reaktory (Malá, 2005).

### 2.7.3.1. Rozdělení organismů podle zdroje živin a energie

Tabulka 5: Rozdělení mikroorganismů podle zdroje energie a uhlíku (Hlavínek a kol., 2006)

	<i>zdroj energie</i>	<i>zdroj uhlíku</i>
<b><i>Autotrofní</i></b>		
Fotosyntetické	světlo	CO <sub>2</sub>
Chemosyntetické	anorg. oxidoredukční. reakce	CO <sub>2</sub>
<b><i>Heterotrofní</i></b>	org. oxidored. reakce	org. uhlík

Mikroorganismy musí mít ve svém životním prostředí k dispozici zdroje biogenních prvků, kterými jsou uhlík, kyslík, vodík, dusík, fosfor a síra. Formy, v nichž se vyskytují, musí být pro mikroorganismus přístupné a jejich kvantitativní zastoupení ve vhodném poměru. Kromě toho je však pro realizaci životních projevů nezbytná přítomnost dalších prvků ve formě kationů (K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, méně Co<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>) nebo anionů. Nevyváženost poměru biogenních nebo přítomnost či nedostatek dalších prvků významně ovlivňuje aktivitu daného organismu. Zdroje živin a energie pro bakterie mohou být rozdílné. Z jednoho zdroje může bakteriální buňka čerpat živiny pro růst, z jiného energii pro životní pochody. Podle požadavků na živiny je obvyklé rozlišovat mikroorganismy na autotrofní a heterotrofní. Do první skupiny se řadí rody a druhy, kterým postačují pouze anorganické sloučeniny, protože si z nich dovedou syntetizovat všechny složky svých buněk. Takovými zdroji jsou např. CO<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Švehla a kol., 2004).

Další členění (dle nároků na kyslík):

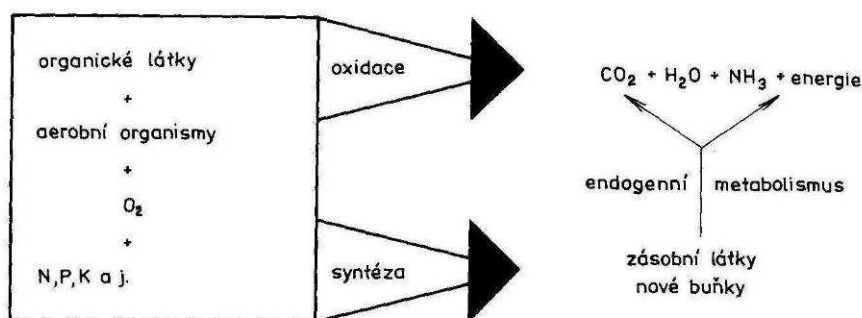
- Aerobní organismy (s kyslíkem),
- Anaerobní organismy (bez kyslíku),
- Fakultativní organismy (s kyslíkem i bez kyslíku) (Hlavínek a kol., 2006).

Podle požadavků na zdroj energie lze také rozlišit několik skupin mikroorganismů. V zásadě může být energetickým zdrojem světlo nebo chemická látka. Fototrofní organismy jsou schopny získat energii z přeměny energie světelné v chemickou pomocí asimilačních barviv, podobných chlorofylu vyšších rostlin, případně spolu s barvivy karotenoidními. Chemotrofní mikroorganismy pak získávají energii oxidací chemických sloučenin. Zvláštním případem jsou organismy paratrofní, jejichž energetická potřeba je kryta z vnitrobuněčných zásob hostitelské buňky (např. viry, rickettsie) (Švehla a kol., 2004).

### 2.7.3.2. Růst a množení mikroorganismů

Pochody probíhající při biologickém čištění odpadních vod lze znázornit v podstatě stejným schématem jako pochody probíhající při BSK.

Obr. 8: Schématické znázornění pochodů probíhajících v lahvičce při stanovení BSK (Chudoba a kol., 1991).



Část organických látek odstraněných z odpadní vody se zoxiduje na  $CO_2$  a  $H_2O$  a část se spotřebuje na syntézu zásobních látek a nových buněk. Jako zásobní látky jsou nejčastěji syntetizovány polysacharidy a lipidy. Syntéza se navenek projevuje zvětšováním hmotnosti biomasy a zvyšováním počtu mikroorganismů. Přitom je třeba rozlišit pojmy růst a rozmnožování. Růst znamená obecně zvýšení koncentrace biomasy, aniž by nutně muselo dojít k dělení buněk. U některých mikroorganismů mateřské buňky podstatně zvětšují svoji

velikost a hmotnost před tím, než se rozdělí na dvě buňky dceřiné. Tak například mikroorganismy aktivovaného kalu mohou zvětšit svoji hmotnost až na trojnásobek původní hmotnosti dříve, než dojde k dělení buněk. Naproti tomu jiné mikroorganismy se množí bez předchozího podstatného zvětšení hmotnosti biomasy. Například homogenní vlákna *Sphaerotilus natans* jsou schopna se rozpadat za tvorby konidií, přičemž dochází k podstatnému růstu jejich biomasy (Chudoba a kol., 1991).

### 2.7.3.3. Zákonitosti růstu mikroorganismů

Pro pochopení biochemických přeměn využívaných při biologických způsobech čištění odpadních vod je potřebné znát vzájemně související zákonitosti růstu a rozmnožování mikroorganismů, kteří jsou jejich nositeli. Jednobuněčné mikroorganismy se množí dělením, což znamená, že po určité růstové době, zvané generační doba, se mikroorganismus rozdělí na dva samostatné jedince. Generační doba je statistickým průměrem, zjištěným z velkého počtu jedinců (Malá, 2005).

#### Jednorázové systémy

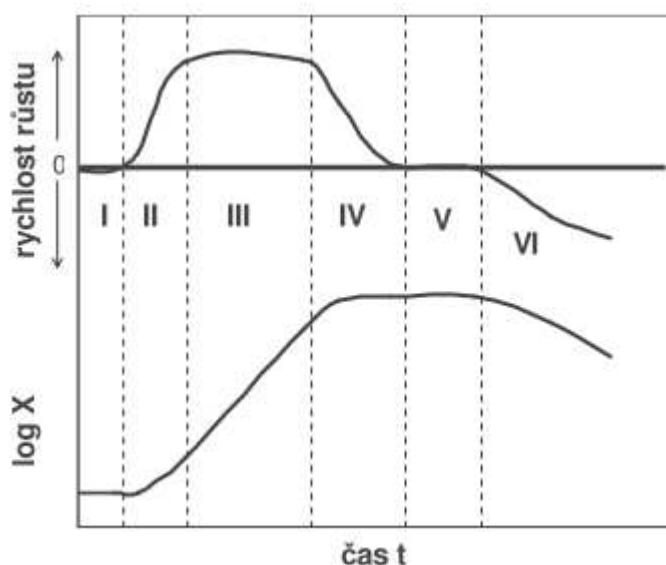
Roztok substrátu (odpadní voda) se smísí s aktivovaným kalem a směs se provzdušňuje. Během provzdušňování dochází k úbytku substrátu (pokles koncentrace CHSK, BSK<sub>5</sub>) z počáteční hodnoty  $S_0$  na hodnotu  $S_1$  závislou na době provzdušňování. Současně s úbytkem substrátu dochází k přírůstku sušiny biomasy z počáteční hodnoty  $X_0$  na hodnotu  $X_t$ . Průběh funkce  $S_t = f(t)$  je závislý na počátečním poměru  $S_0/X_0$ , dále na aktivitě mikroorganismů tvořících směsnou kulturu a na charakteru organických látek tvořících substrát. Aktivita kalu je v tomto uspořádání závislá na tom, odkud byl aktivovaný kal převzat, tj. na jeho historii (na povaze substrátu používaného při předchozí výživě, na způsobu kultivace, na zatížení a stáří kalu apod.)

Pro tento systém je charakteristické, že mikroorganismy jsou v prostředí s měnící se koncentrací substrátu. Dále je pro toto uspořádání podstatné, že se po určité době (obvykle po vyčerpání substrátu) sledování procesu ukončí, systém se zruší a dál se neprovozuje.

Pro praktickou aplikaci při čištění odpadních vod nemá tento systém význam. Je však výhodný pro výzkumnou práci v laboratorním měřítku.

Protože je rychlost odstraňování substrátu největší na začátku, bude v tomto stadiu dosahovat maxima také rychlost spotřeby kyslíku (Švehla a kol., 2004).

Obr. 9: Růstová křivka mikroorganismů a závislost růstu na čase (Malá, 2005)



Na růstové křivce lze rozlišit několik časových fází:

- I. **Lagová fáze.** Rychlost růstu je nulová. Mikroorganismy se adaptují na prostředí. Délka této fáze závisí na fyziologickém stavu mikroorganismů a na prostředí. Jsou – li mikroorganismy na prostředí předem přizpůsobeny, může být tato fáze vyloučena.
- II. **Fáze zrychleného růstu.** Rychlost růstu se zvětšuje.
- III. **Fáze exponenciálního růstu.** Rychlost růstu je za daných podmínek (teplotních aj.) maximálně dosažitelná a zůstává konstantní, dokud se nestane limitujícím faktorem koncentrace substrátu, který se z roztoku postupně vyčerpává.
- IV. **Fáze zpomaleného růstu.** Rychlost růstu klesá. Limitujícím faktorem se stává koncentrace substrátu.
- V. **Fáze stacionární.** Růst se zastavuje, neboť substrát je vyčerpán. Bakterie příp. rozkládají zásobní látky (endogenní respirace), jejich počet se nezmenšuje, hmotnost však poněkud klesá.
- VI. **Fáze poklesu.** Mikroorganismy odumírají a jejich počet se snižuje (Malá, 2005).

Na průběhu růstové křivky v případě, že X znamená hmotnost organismů, lze zaznamenat prakticky jen tři fáze. Fáze lagová a zrychleného růstu splynou s fází exponenciální. Hmotnost mikroorganismů se zvyšuje před tím, než nastane jejich množení. Následuje fáze zpomaleného růstu a zcela odpadá fáze stacionární. Po vyčerpání exogenního substrátu dochází totiž k okamžité oxidaci endogenního substrátu, čímž se snižuje hmotnost biomasy. Počet živých mikroorganismů však zůstává konstantní. Poslední je fáze poklesu,

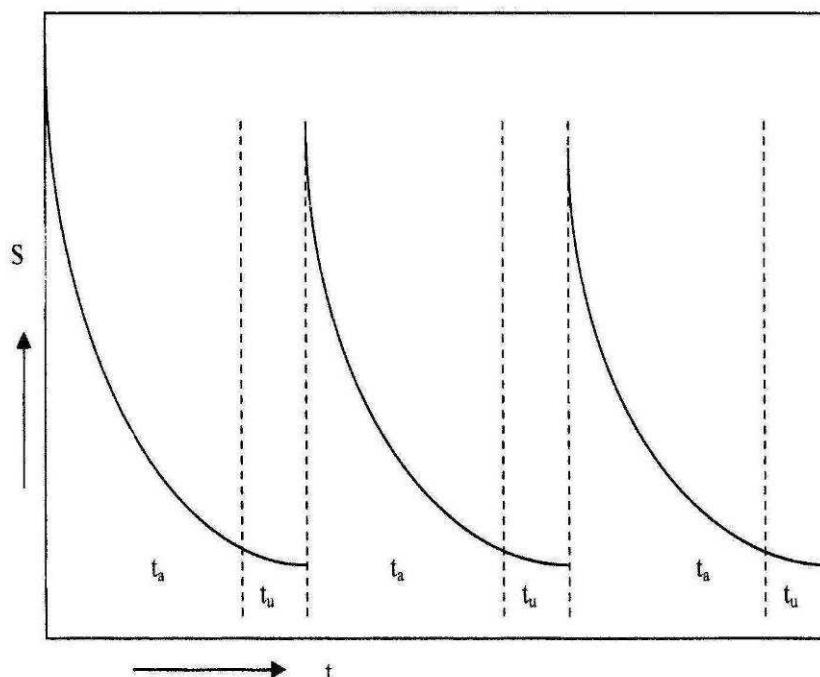
přičemž pokles hmotnosti biomasy je mnohem pozvolnější než pokles počtu živých mikroorganismů (Dohányos a kol., 1998).

### **Semikontinuální systém**

Semikontinuální kultivaci si můžeme představit jako časově se opakující jednorázový proces. Provozujeme ji tak, že po určité době odebereme část biomasy a kultivačního media a obsah nádrže doplníme novým roztokem substrátu. Opakujeme-li toto po libovolně dlouhou dobu při konstantní době kultivace a konstantním množství odebírané biomasy a kultivačního media, realizujeme uspořádání, kterému se říká semikontinuální kultivace nebo semikontinuální systém.

Na začátku každého provzdušňovacího cyklu se smíchá substrát o koncentraci  $S_0$  se zbylou kapalinou v nádrži, ve které je koncentrace substrátu  $S_t$ . Je-li  $t$  dostatečně velké, pak je obvykle  $S_t \ll S_0$ . Výsledná směs má proto na začátku provzdušňování koncentraci substrátu  $S_s$ , která je vždy nižší než  $S_0$ . V průběhu provzdušňování klesne koncentrace substrátu z počáteční hodnoty  $S_s$  na hodnotu  $S_t$ . Tato hodnota je závislá na intenzitě provzdušňování a na koncentraci a aktivitě směsné kultury. Průběh několika za sebou následujících cyklů je znázorněn na obrázku č. 9.

Obr. 10: Znáornění několika po sobě následujících cyklů odstraňování substrátu při semikontinuální kultivaci (Švehla a kol., 2004)



### Kontinuální systémy bez recirkulace biomasy

Růstovou křivku můžeme sledovat pouze v jednorázovém (vsádkovém, diskontinuálním) systému. V kontinuálním systému jsou poměry poněkud odlišné. Nejjednodušší je zřejmě případ kontinuální kultivace čisté kultury bez recirkulace mikroorganismů (chemostat). Změna koncentrace mikroorganismů v krátkém časovém úseku je dána přírůstkem mikroorganismů a jejich úbytkem. K úbytku mikroorganismů dochází dvojím způsobem. Kontinuálním odtokem z reaktoru a odumíráním a rozkladem jednotlivých buněk (Dohányos a kol., 1998).

### 2.7.4. Komplexní substrát a mechanismus odstraňování organických látek z odpadních vod

Většina odpadních vod představuje komplexní substrát, ve kterém jsou vedle jednoduchých rozpuštěných látek přítomny i rozpuštěné látky vysokomolekulární (polysacharidy, lipidy, bílkoviny) a rovněž i látky nerozpuštěné (jemné a koloidní disperze).

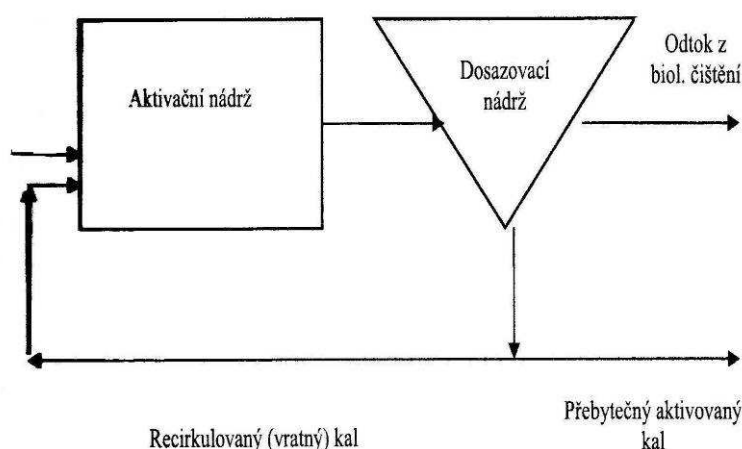


Látky přítomné v jemné koloidní disperzi jsou z odpadních vod odstraňovány fyzikálními a fyzikálně chemickými pochody. Jde v podstatě o koagulaci a sorpci těchto látek na shlucích mikroorganismů (vločkách, nárostech) tvořících směsnou kulturu. Látky takto zachycené mohou být podle své povahy buď dále enzymaticky štěpeny, nebo jsou-li inertní, tvoří součást vloček nebo nárostů. Odstraňování nerozpuštěných látek koagulačními a sorpčními pochody probíhá mnohem rychleji než odstraňování látek rozpuštěných enzymatickými pochody. Při výkladu mechanismu odstraňování rozpuštěných látek můžeme předpokládat, že se kolem vloček nebo nárostů tvoří kapalný film, který není součástí pohybující se okolní kapaliny, ve které jsou znečišťující látky rozpuštěny. Tyto látky musí nejprve projít filmem (difúzí), přičemž rozpuštěné molekuly podléhají přitažlivým silám tuhých částic (vloček, nárostů). Tyto síly tak umožňují přiblížení potravy na dosah mikroorganismů přítomných ve vločkách a nárostech. Další transport buněčnou membránou dovnitř do bakteriálních buněk je enzymatickým pochodem. Nízkomolekulární látky jsou přímo přenášeny do buňky stereospecifickými enzymovými transportními systémy. Vysokomolekulární látky jsou nejprve štěpeny hydrolytickými exoenzymy (hydrolázami) na sloučeniny nízkomolekulární a ty jsou opět přenášeny do buněk. Uvnitř buněk jsou organické látky dále štěpeny za katalytického působení řady nejrůznějších enzymů, na jejímž konci stojí enzymy dýchacího řetězce. V dýchacím řetězci je vodík odebraný organickým látkám spalován na vodu. Uhlík se z těchto látek uvolňuje jako  $\text{CO}_2$  dekarboxylací v cyklu citrónové kyseliny (v Krebsově cyklu). Biologické čištění je tedy komplexem následných fyzikálně chemických a biochemických reakcí, které na sebe navazují (Chudoba a kol., 1991).

### **2.7.5. Aktivační proces**

Aktivační proces nebo také aktivace je nejstarší kontinuální kultivací mikroorganismů v nesterilních podmínkách. Blokované schéma procesu je uvedeno na obrázku č. 11 (Švehla a kol., 2004). Systém se skládá z vlastní biologické jednotky (aktivační nádrž) a z jednotky separační (dosazovací nádrž).

Obr. 11: Blokové schéma aktivačního procesu (Švehla a kol., 2004)



Surová odpadní voda přitéká po hrubém předčištění a po odstranění usaditelných látek v usazovací nádrži do aktivační nádrže, ve které se mísí s recirkulovaným (vratným) aktivovaným kalem. Směs se intenzivně provzdušňuje tlakovým vzduchem nebo mechanickými aerátory. Recirkulací kalu se dosahuje vyšší koncentrace biomasy v biologickém reaktoru.

Po projití směsi aktivační nádrží se aktivovaný kal separuje od vyčištěné vody v separační nádrži (tzv. dosazovací nádrži). Zahuštěný aktivovaný kal se recirkuluje zpět na začátek aktivační nádrže. Odstraňování nerozpuštěných a rozpuštěných organických látek z odpadní vody má za následek kontinuální tvorbu nové biomasy, která se ze systému musí periodicky odstraňovat ve formě přebytečného aktivovaného kalu (Švehla a kol., 2004).

### Vznik aktivačního procesu

Pokusy s provzdušňováním městské odpadní vody byly prováděny již koncem 19. a začátkem 20. století v Anglii a ve Spojených státech. K podstatnému snížení organického znečištění a k dosažení úplné nitrifikace bylo však třeba značně dlouhých dob provzdušňování – několik dnů až týdnů. Během těchto pokusů se v provzdušňované odpadní vodě obvykle tvořila vločkovitá suspenze, která však byla vždy po ukončení pokusů vylita i s odpadní vodou. Později začali tyto vločky nechávat usazovat a znovu používat při další aeraci. Při tom se pozorovalo, že se stoupající koncentrací suspenze se proces čištění zkracoval. Protože se tento „kal“ choval aktivně ve smyslu odstraňování organického znečištění z odpadních vod,

byl nazván aktivovaným kalem (activated sludge). A tak vznikl aktivační proces (Dohányos a kol., 1998).

### Směsná kultura zvaná aktivovaný kal

Aktivovaným kalem nazýváme směsnou kulturu, kterou se poprvé podařilo vypěstovat v Manchesteru v roce 1913 dlouhodobým provzdušňováním městských splašků. Na rozdíl od čistých kultur, ve kterých jsou jednotlivé bakterie většinou volně pohyblivé, vyskytují se bakterie v aktivovaném kalu převážně ve formě zoogleí (z. *ramigera*, z. *uva*). Z bakterií se nejčastěji vyskytují následující rody: *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Azotobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Mycobacterium*, *Nocardia* aj.

Kromě různých druhů bakterií mohou být v aktivovaném kalu přítomny v menším množství také houby, plísňe a kvasinky. Pravidelně bývají přítomny i bakterie nitrifikační *Nitrosomonas* a *Nitrobacter*. V aktivovaném kalu jsou rovněž často přítomny různé vláknité mikroorganismy, například *Sphaerotilus*, *Leptomitus*, *Leucothrix*, *Beggiatoa*, *Nocardia*, *Microthrix parvicella* atd. Pokud tyto organismy z jakýchkoliv důvodů převládnu v aktivovaném kalu, způsobují značné technologické potíže, projevující se špatnými usazovacími a zahušťovacími vlastnostmi kalu.

Z vyšších organismů jsou pravidelnou součástí aktivovaného kalu různá protozoa, vířnící, hlístice aj. Z ciliátových prvoků je nejvíce zastoupena *Vorticella*, *Opercularia*, *Epistylis*. Prvoci slouží často jako indikátorové organismy pro odhad stavu aktivovaného kalu. Názory na jejich funkci v aktivovaném kalu se postupem doby měnily. Nakonec bylo experimentálně prokázáno, že výrazně snižují obsah volně pohyblivých bakterií ve vyčištěné vodě a tím přispívají k jejímu vyčištění. V aktivovaném kalu jsou přítomni proto, že v něm nacházejí bohatou potravu.

Kvalitativní i kvantitativní složení aktivovaného kalu závisí hlavně na složení substrátu, na němž byl daný kal vypěstován, a na hodnotách technologických parametrů během kultivace. Aktivovaný kal se liší od většiny čistých kultur mikroorganismů také tím, že je schopen se oddělovat od kapalně fáze prostou sedimentací. Dobrá flokulace a sedimentace vloček kalu je jednou z nejcennějších vlastností této směsné kultury (Dohányos a kol., 1998).

## Mikrobiologické složení aktivovaného kalu

Prostředí aktivovaného kalu je prostředí vodní. Nepřetržité promíchávání obsahu aktivační nádrže a recirkulace vraceného kalu zajišťuje ideální prostředí pro různorodé mikroorganismy a současně inhibuje růst velkých organismů. Jak již bylo řečeno, v aktivovaném kalu se obvykle vyskytují bakterie, prvoci a vířníci, i když všechny druhy nemusí být zastoupeny. Někdy mohou být zastoupeny též hlístice. Bakterie a protozoa jsou hlavní složkou dobré biocenózy aktivovaného kalu, které rozkládají a odstraňují nečistoty, organické látky z odpadní vody. Řasy, které potřebují světlo, se v aktivovaném kalu vyskytují zřídka, ale v letních měsících často zarůstají přepadové hrany dosazovací nádrže.

Z mikrobiálního hlediska závisí kvalitativní složení aktivovaného kalu do značné míry na složení odpadní vody přitékající do reaktoru, na prostředí, ve kterém byl kal vypěstován, na technologickém procesu a do jisté míry na obsluze a provozu čistírny. Čistící procesy a tím i čistící účinnost aktivace závisí na kultivaci mikrobiální kultury, která odstraňuje a asimiluje znečištění a na tom, zda se vytvořená biomasa dobře usazuje, zahušťuje a zda je pak dostatečně aktivní, když se znovu vrací do aktivační nádrže.

Když je biocenóza složena převážně z heterotrofních bakterií, základní složení aktivovaného kalu tvoří houby a prvoci. Autotrofní nitrifikující bakterie jsou schopny využívat anorganické látky pro svůj růst a jsou přítomné v různém množství podle použitého technologického postupu čištění a koncentrace dusíku a uhlíku v odpadní vodě. Vířníci, (*Rotatoria*) se nejčastěji nalézají v systémech s dlouhou dobou aerace od 6 do 30 hodin nebo lépe v aktivacích se stářím kalu delším než 10 dní.

- **Bakterie = (*Bacteria*)**

Bakterie bývají přítomny v aktivovaném kalu jako jednotlivé bakterie mikrometrických rozměrů a častěji jako viditelné zoogleální kolonie. Některé bakterie aktivovaného kalu jsou striktně aerobní, nemohou proto existovat mimo aerobní prostředí. Aktivovaný kal může také obsahovat spory striktně anaerobních bakterií. Většina bakterií aktivovaného kalu je fakultativní, tj. může využívat nejenom molekulární kyslík z vody, ale i kyslík z chemických sloučenin, což umožňuje, že si aktivovaný kal zachovává svou čistící schopnost po určitou dobu bez přísunu kyslíku. Uvádí se, že biocenóza aktivace snese až 24 hodinové periody anaerobního prostředí, i když se mohou více či méně zhoršit usazovací a zahušťovací vlastnosti aktivovaného kalu.

- **Houby = (*Fungi*)**

Houby jsou mnohobuněčné mikroorganismy, které metabolizují rozpuštěné organické látky, takže mohou za specifických podmínek konkurovat bakteriím ve smíšené kultuře. Dominantní růst hub v aktivovaném kalu umožňuje nízké pH, nedostatek dusíku a kyslíku nebo vysoký obsah cukrů. Mnohé druhy hub tvoří vlákna, která zhoršují separační vlastnosti takového aktivovaného kalu a zvyšují tak nebezpečí úniku tuhých částic z dosazovací nádrže a tím dochází ke zhoršení čistící účinnosti aktivace.

- **Prvoci = (*Protozoa*)**

*Protozoa* jsou jednobuněčné mikroorganismy, které mohou konzumovat bakterie i částice koloidních rozměrů. Převládajícím druhem prvoků v aktivovaném kalu jsou *Ciliata*, ale doposud bylo identifikováno přes 200 druhů prvoků. Většina prvoků je striktně aerobních, proto jsou vynikajícím indikátorem aerobního prostředí. Bylo ale též zjištěno, že některé druhy přežijí bez nesnází až 12 hodin trvající anaerobní podmínky. Rozměry prvoků se pohybují od 10 do 200  $\mu\text{m}$ , jsou tedy přibližně o jeden až dva řády větší než bakterie. Tudíž jsou dobře viditelné pod mikroskopem, takže jsou vhodným biologickým indikátorem stavu aktivovaného kalu z provozního hlediska. *Protozoa* jsou mnohem více citlivá na toxické látky než bakterie. Jejich úbytek nebo nepohyblivost v aktivovaném kalu mohou indikovat toxické prostředí. Větší množství prvoků v aktivační nádrži obvykle indikuje, že aktivační systém je dobře provozovaný a stabilní.

- **Vířníci = (*Rotatoria*)**

Vířníci jsou vyšší řád mnohobuněčných mikroorganismů, větších než *Protozoa* a jsou schopni konzumovat části vločky i jednotlivé mikroby. Podobně jako *Protozoa* jsou vířníci striktně aerobní mikroorganismy a vyskytují se pouze ve velmi stabilních aktivačních systémech s dlouhou dobou držení. Vířníci jsou mnohem citlivější na toxické prostředí než bakterie (Rešetka, 1983).

### **Flokující aktivovaný kal**

V optimálních podmínkách kultivace získáváme aktivovaný kal ve formě dobře flokujících a sedimentujících vloček. Tvorba vloček není bezpodmínečně nutná pro účinné odstranění rozpuštěných organických látek z čištěné odpadní vody. Je však nutná pro získání čirého odtoku vyčištěné odpadní vody a dostatečně zahuštěného recirkulovaného aktivovaného kalu. Mechanismus bioflokulace a faktory, které ji ovlivňují, se zabývalo

mnoho autorů. Bioflokulace je způsobena snížením elektrického náboje pod kritickou hladinu, čímž je umožněno buňkám se spojovat během pohybu. K snížení povrchového náboje buněk dojde tehdy, když se buněčné stěny obalí polysacharidovým materiálem, produkovaným buňkami převážně v období stacionární a endogenní růstové fáze. Bioflokulace je spojena s tvorbou intracelulárního polymeru kyseliny poly- $\beta$ -hydroxymáslé. Většina odborníků však přikládá tomuto polymeru funkci zásobní látky, která je využívána během endogenní růstové fáze, tj. v období, kdy dochází k maximální bioflokulaci. V současné době nejpropracovanější je teorie spojování buněk pomocí extracelulárních polymerů. Přitom se nevyklučuje i určitý význam snížení povrchového náboje. Tato teorie předpokládá, že bioflokulace je následek interakce mezi přirozeně produkovanými vysokomolekulárními polyelektrolyty a bakteriálními buňkami takovým způsobem, že polyelektrolyty spojují a vážou jednotlivé buňky do agregátů a vloček, schopných se oddělovat od kapalné fáze sedimentací.

Bylo zjištěno, že bakterie žijící v přirozeném prostředí, a tedy i v aktivačních nádržích, mají na svém povrchu velké množství ven vyčnívajících vzájemně propletených polysacharidových nebo glykoproteinových vláken vytvářejících kolem buňky nebo skupiny buněk plst'ový obal – glykokalyx. Glykokalyx je definován jako extracelulární vláknitá struktura obsahující polysacharidy, nacházející se nad vnější membránou gramnegativních a nad peptidoglykanem grampozitivních bakterií. Podle této definice je glykokalyxem i to, co je nazýváno polysacharidové pouzdro. Bakteriální buňka se poutá na jinou buňku interakcí svých polysacharidových vláken s polysacharidovými vlákny druhé buňky.

Glykokalyx má v aktivovaném kalu významnou úlohu při tvorbě zooglee a tím i při bioflokulaci. Druhově specifický glykokalyx je nositelem selektivní schopnosti adheze bakterií na určitou jinou buňku.

Mechanismus bioflokulace není ještě zcela objasněn. Pro technologickou aplikaci je důležité, že existují určitá rozmezí technologických parametrů (stáří a zatížení kalu), při kterých lze získat dobře flokující a sedimentující směsnou kulturu s minimálním obsahem volně dispergovaných bakterií (Chudoba a kol., 1991).

### **Neflokující aktivovaný kal**

Za určitých podmínek přestanou mikroorganismy aktivovaného kalu aglomerovat a tvořit usaditelné vločky a vyskytují se převážně ve formě jednotlivě dispergovaných buněk. Odtok z takového systému je i po sedimentaci silně zakalen a vykazuje velké hodnoty BSK<sub>5</sub> a

CHSK. V praxi se usazovací a zahušťovací vlastnosti aktivovaného kalu posuzují podle kalového indexu (KI).

*Tabulka 6: Podle velikosti kalového indexu rozlišujeme aktivované kaly do tří kategorií (Hlavínek a kol., 2006)*

normální	$KI < 100 \text{ ml.g}^{-1}$
lehký	$KI = 100 - 200 \text{ ml.g}^{-1}$
zbytnělý	$KI > 200 \text{ ml.g}^{-1}$

Obsah organických látek v roztoku může být přítom velmi malý. Obvykle tvoří část směsné kultury dobře separovatelné vločky a část je ve formě neusaditelné disperze. Příčin disperzního růstu je mnoho, lze je však rozdělit do dvou skupin.

Do první skupiny patří technologické parametry procesu. Obecně lze říci, že čím je vyšší zatížení kalu a nižší jeho stáří, tím vyšší část směsné kultury se nachází v disperzním růstu.

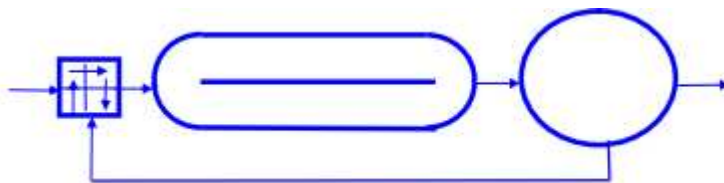
Aktivovaný kal s malým obsahem neusaditelných mikroorganismů vzniká při stáří kalu nad 3 dny. Naopak při stáří kalu pod 1 den je třeba počítat s vysokým obsahem volně dispergovaných bakterií nepodléhajících sedimentaci, a tudíž i se silně zakaleným odtokem.

Do druhé skupiny faktorů způsobujících a vyvolávajících deflokulaci směsné kultury patří faktory související se složením a vlastnostmi čištěné odpadní vody. Přejídnou deflokulaci mohou například způsobit nárazové změny v teplotě vody, její solnosti a hodnotě pH. Trvalá deflokulace může být způsobena nedostatkem některých makronutrientů, mikronutrientů nebo přítomností různých toxických látek (Chudoba a kol., 1991).

### Opatření pro potlačení bytnění kalu

- **Kinetická selekce organismů** – tato metoda vychází z rozdílné závislosti rychlosti růstu organismů
- **Selektory anoxické, anaerobní** – selektory mohou být definovány jako přítokové části aeračního systému, ve kterých jsou udržovány vyšší koncentrace substrátu za účelem podpoření růstu rychle rostoucích mikroorganismů (nevláknitých) a potlačení pomalu rostoucích (vláknitých) (Hlavínek a kol., 2006).

Obr. 12: Schéma selektorového systému s mechanickou aerací ve vlastní aktivaci (oběhová aktivace) (Hlavínek a kol., 2006)



- **Chlorování** – chlor je vůči mikroorganismům toxický, při čemž jeho účinek vůči organismům vláknitým s velkým specifickým povrchem (plocha na hmotnostní jednotku) je větší než vůči organismům jiných tvarů. To lze při opatrném dávkování plynného chloru nebo chlornanu využít k selektivnímu potlačení růstu vláknitých mikroorganismů. Chlor je dávkován obvykle do vratného aktivovaného kalu. Účinek se projeví po několikadenním dávkování chloru. Po přerušeném dávkování se však kalový index pozvolna opět zvyšuje, a proto je třeba chlorování opakovat (Hlavínek a Malý, 1996).

### Aerace aktivačních nádrží

Za uspokojivý průběh aktivačního procesu jsou odpovědné především organismy, které se neobejdou bez kyslíku – aerobní organismy. Proto je jedním z nejdůležitějších úkolů při posuzování aktivačního procesu dodávat do aktivační nádrže dostatečné množství kyslíku. Dostatek kyslíku je pro aerobní systémy klíčovou podmínkou jejich dobré funkce. Do aktivačních nádrží se kyslík přivádí buď jako čistý plyn (kyslíková aktivace), nebo častěji ze vzduchu. Obsah nádrží se provzdušňuje těmito způsoby:

- Stlačeným vzduchem – pneumatická aerace
- Mechanickými aerátory – mechanická aerace
- Kombinací předchozích dvou způsobů – kombinovaná aerace
- Ejektory nebo injektory – hydropneumatická aerace



**Při pneumatické aeraci** se vzduch rozptyluje do vody různými aeračními elementy (děrovanými trubkami, porézními materiály keramickými nebo plastovými ve tvaru hadic, trubek, zvonů, disků aj.). V závislosti na velikosti otvorů a na poréznosti materiálu vznikají vzduchové bubliny o různém průměru. Podle průměru vzduchových bublin ( $d$ ) se rozlišují tři druhy pneumatické aerace:

- Jemnobublinná ( $d = 1$  až  $4$  mm)
- Středněbublinná ( $d = 5$  až  $10$  mm)
- Hrubobublinná ( $d > 10$  mm) (Švehla a kol., 2004).

**Mechanické aerátory** dělíme na aerátory s osou horizontální (aerační válce) a na aerátory s osou vertikální (aerační turbíny). Jejich značné rozšíření bylo způsobeno jejich ekonomickou výhodností ve srovnání se středněbublinnou aerací. Ve srovnání s pneumatickou aerací však mají řadu nevýhod (Dohányos a kol., 1998).

**Kombinovaná aerace** se v poslední době prosazuje zejména v oběhových aktivacích ve variantě jemnobublinné aerace + horizontální ponorné míchadlo. Oddělení hydrodynamického a oxygenačního faktoru umožňuje optimalizovat dávku kyslíku a ovlivňovat průběh nitrifikace a denitrifikace.

**Hydropneumatická aerace** je poněkud energeticky náročnější než ostatní způsoby aerace. Je však velice jednoduchá na provedení. Čerpadlem se čerpá aktivační směs do ejektoru, v jehož zúžené části nastává podtlak (princip vodní vývěvy), a tím dochází k nasávání vzduchu (Švehla a kol, 2004).

## 2.7.6. Biologické odstraňování anorganického dusíku z odpadních vod

Přísun sloučenin dusíku do přírodních vod odpadními vodami je nežádoucí z těchto důvodů:

1. Amoniakální dusík má vysokou spotřebu kyslíku na biochemickou oxidaci.
2. Umožňují růst zelených organismů a tím se podílejí na eutrofizaci povrchových vod.
3. Vyšší koncentrace dusičnanů v pitné vodě jsou nebezpečné pro děti kojeneckého věku (methemoglobinémie).
4. V ČR je přípustná koncentrace amoniaku v povrchových vodách  $3 \text{ mg.l}^{-1}$ , ve vodárenských tocích  $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$ .

V odpadních vodách se anorganický dusík vyskytuje nejčastěji v amoniakální formě. Dosud známé způsoby jeho odstraňování jsou:

- Zachycování na měničích iontů.
- Stripování vzduchem.
- Oddestilování z alkalického prostředí.
- Vysrážení ve formě fosforečnanu amonnohořečnatého.
- Biologické odstraňování nitrifikací a denitrifikací.

Biologické odstraňování anorganického dusíku spočívá v biochemické oxidaci amoniakálního dusíku na dusitany a dusičnany (nitrifikace) a v jejich následující biochemické redukci na plyný dusík (denitrifikace) (Dohányos a kol., 1998).

### Nitrifikace

Nitrifikace probíhá ve dvou stupních. V prvním (proces je nazýván nitritace) se amoniakální dusík oxiduje na dusitany s využitím činnosti bakterií rodů *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira* a *Nitrosocystis*. Ve druhém (proces označujeme jako nitrataci) jsou vzniklé dusitany oxidovány na dusičnany mikroorganismy *Nitrobacter* a *Nitrocystis*. Obě skupiny organismů jsou chemolitotrofní a jako zdroj uhlíku potřebují  $\text{CO}_2$  (Švehla a kol., 2004).

Tabulka 7: Průběh nitrifikace (Hlavínek a kol., 2006)

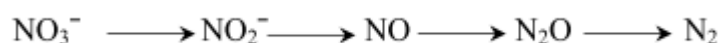
stupeň	proces	reakce	rod bakterií	růstová rychlost
1. stupeň	nitritace	$2\text{NH}_3 + 3\text{O}_2 \longrightarrow 2\text{NO}_2^- + 2\text{H}^+ + 2\text{H}_2\text{O}$	Nitrosomonas	menší
2. stupeň	nitratace	$2\text{NO}_2^- + \text{O}_2 \longrightarrow 2\text{NO}_3^-$	Nitrobacter	větší
celkově	nitrifikace	$\text{NH}_3 + 2\text{O}_2 \longrightarrow \text{NO}_3^- + \text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}$		

Růstová rychlost nitrifikačních bakterií je ovlivněna také teplotou. S rostoucí teplotou roste i produkce dusičnanů. V létě je tedy největší a v zimním období klesá. Malá růstová rychlost musí být kompenzována zvýšeným množstvím nitrifikačních bakterií, tedy delší dobou zdržení kalu v procesu – vyšším stářím kalu (Hlavínek a kol., 2006).

### Denitrifikace

Denitrifikace je označení pro biochemickou redukci dusičnanů a dusitanů na  $\text{N}_2$ . V malém množství může vznikat též  $\text{N}_2\text{O}$ . Mohou ji provádět četné organotrofní bakterie jako např. rody *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Chromobacterium*, *Denitrobacillus* aj. Během denitrifikace dochází k oxidaci organických látek, přičemž je redukován dusičnanový resp. dusitanový dusík (Švehla a kol., 2004).

Schématicky lze naznačit průběh reakcí takto:



Tabulka 8: Srovnání hlavních údajů o nitrifikaci a denitrifikaci (Hlavínek a kol., 2006)

	NITRIFIKACE	DENITRIFIKACE
reakce	biochemická oxidace	biochemická redukce
prostředí	aerobní (oxické)	anoxické
hlavní mikroorganismy	chemolitotrofní	organotrofní
hlavní vstupující sloučenina	amoniakální dusík ( $\text{N-NH}_4^+$ , $\text{N-NH}_3$ )	dusičnany ( $\text{NO}_3^-$ )
hlavní vystupující sloučenina	dusičnany ( $\text{NO}_3^-$ )	plynný dusík ( $\text{N}_2$ )
uvolňuje se	vodíkový iont ( $\text{H}^+$ )	hydroxidové ionty ( $\text{OH}^-$ )
vliv na pH	klesá do kyselé oblasti	roste
optimální pH	7 – 8,5	6-9
závislost na teplotě	velká	malá
růstová rychlost bakterií	malá	velká
potřeba organického substrátu	ne	ano

### 2.7.7. Odstraňování fosforu z odpadních vod

Přísun fosforu do povrchových vod vodami odpadními je nežádoucí, protože (podobně jako dusík) podporuje jejich eutrofizaci. Přitom fosfor je limitujícím prvkem, neboť v sušině řas je jeho obsah kolem 2%, kdežto dusíku kolem 10%.

Z odpadních vod lze fosfor odstranit metodami fyzikálně chemickými a biologickými. Fyzikálně chemické metody jsou založeny na tvorbě nerozpustných fosforečnanů vápenatých, hlinitých a železitých.

Biologické odstraňování fosforu je založeno na schopnosti některých mikroorganismů aktivovaného kalu akumulovat za určitých podmínek fosfor ve formě polyfosfátů. V současné době je známo kolem 20 druhů mikroorganismů, které mohou akumulovat polyfosfáty. Mezi nejznámější patří *Acinetobacter sp.* a bakterie patřící do skupiny *Acinetobacter/Moraxella*. Výhodou biologického odstraňování proti srážecím metodám je to, že nepotřebuje chemikálie a není spojeno se vznikem anorganických kalů s nutností jejich zpracování (Dohányos a kol., 1998).

## 2.7.8. Aerobní čištění směsnou kulturou v biofilmových reaktorech

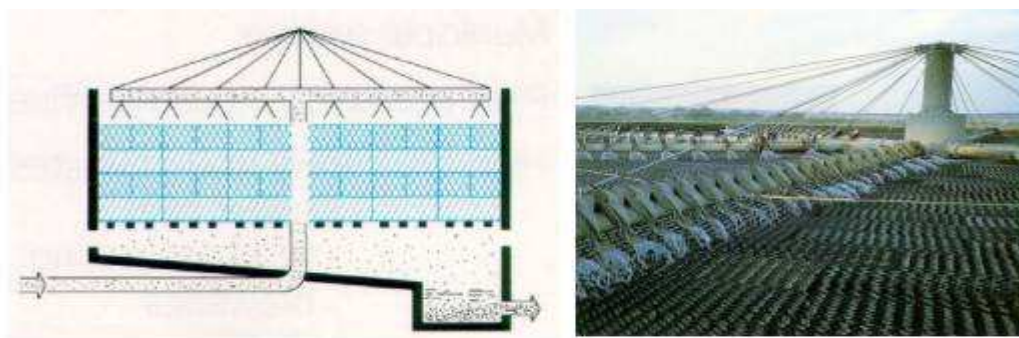
V poslední době procházejí biofilmové reaktory jistou renesancí, což souvisí především s vývojem a výrobou vhodnějších nosičů biomasy a se zavedením některých nových kultivačních technik. Nelze ovšem na biofilmové reaktory pohlížet jako na konkurenty či alternující zařízení k aktivačnímu procesu (Dohányos a kol., 1998). Technika kultivace biomasy ve formě biofilmu patří do skupiny kultivací s tzv. imobilizovanými buňkami. Buňky jsou na povrchu nosiče zachyceny díky polymerním organickým látkám slizovitého charakteru, které jsou produkovány buňkami samými, tzn. že biofilm se stabilizuje na povrchu nosiče samovolně. Biofilmový systém je výsledkem složité interakce procesů fyzikálních, fyzikálně chemických a biochemických. Nosič biofilmu je pouze materiálem nesoucím biofilm. Svými vlastnostmi nijak neovlivňuje biochemické procesy probíhající v biofilmu (Švehla a kol., 2004).

Charakteristickým rysem biofilmových reaktorů je kultivace biomasy ve formě nárostů – biofilmu, tj. imobilizované na vhodném nosiči. Z tohoto hlediska je účelné rozdělit biofilmové reaktory podle typu nosiče a podle způsobu jeho kontaktu s odpadní vodou a případně se vzduchem. Potom můžeme biofilmové reaktory rozdělit do následujících základních skupin (Dohányos a kol., 1998).

### 1. Zkrápěné biologické kolony (tzv. biofiltry)

Jsou tvořeny vrstvou materiálu, uloženého na roštovém dně v otevřeném plášti válcového tvaru. V obvodu pláště pod úrovní roštového dna jsou otvory pro přístup vzduchu. Odpadní voda se přivádí na kolonu zkrápěcím zařízením, většinou na principu Segnerova kola. Voda protéká náplní kolony, při čemž dochází ve styku s biofilmem k jejímu čištění. Pod roštovým dnem je pevné dno, ze kterého je tato voda odváděna do dosazovací nádrže (Malá, 2005).

Obr. 13: Schéma zkrápěného filtru, zkrápěcí zařízení – Segnerovo kolo (vpravo) (Malá, 2005)



Důležitým faktorem čištění je kyslík, který si odebírají mikroorganismy ze vzduchu, proudícího tělesem naplně v důsledku teplotního spádu mezi teplotou uvnitř kolony a teplotou ovzduší (komínový tah). Výjimečně se používá i aerace nucená (Malá, 2005).

## 2. Ponořené biologické kolony

S pevným ložem – kolona je zcela naplněna odpadní vodou, která zpravidla protéká zdola nahoru a do níž je ponořen nepohybující se nosič biomasy.

S expandovaným a fluidizovaným ložem – kolona je protékána zdola nahoru, původní objem nosiče (obvykle volně sypané materiály) je u expandovaného lože částečně zvětšen protékající vodou a narostlou fixovanou biomasou. Částičky nosiče se navzájem nepohybují. Fluidizované lože je charakterizováno vzájemným pohybem částic nosiče biofilmu vyvolaným proudem čištěné odpadní vody

## 3. Rotační biofilmové reaktory

Nosičem biomasy u rotačních diskových reaktorů (RDR) jsou vhodně tvarované kotouče, které pomalu rotují v čištěné odpadní vodě. Při oxických procesech jsou disky ponořeny do vody jen částečně a dochází ke střídavému kontaktu biofilmu s vodou a se vzduchem. Rotační klecové reaktory pracují na stejném principu jako RDR, nosič biomasy je upevněn v rotující konstrukci (kleci).

Obr. 14: Rotační bioreaktor (Malá, 2005)



#### 4. Reaktory s kombinovanou kultivací biomasy

Biofilmové procesy mohou být využívány též v kombinaci s aktivačním procesem. Do této kategorie je možno zařadit systémy sloužící pro biologické čištění odpadní vody, kde je nosič biofilmu mimo aktivační nádrž a systémy, kde nosič biofilmu je umístěn do aktivační nádrže. Nosič může být do nádrže nainstalován buď pevně, s vlastním pohybem, nebo se pohybuje spolu s aktivační směsí (Švehla a kol., 2004).

##### 2.7.8.1. Vznik, vývoj a struktura biofilmu

Až donedávna jsme mohli o struktuře a funkci biofilmu usuzovat pouze podle hrubého měření biomasy a metabolické aktivity. Toto omezení znamenalo pro vědce, zabývající se výzkumem a aplikací biofilmu, možnost získávat jen hrubé informace o mikrobiální ekologii, fyziologii a chemických charakteristikách biofilmů. V posledních deseti letech bylo vyvinuto několik nových technik, které napomáhají k objasnění struktury a funkce biofilmů. Jsou to molekulární sondy, které identifikují různé mikroorganismy v komplexním společenství stejně jako jejich metabolické funkce. Mikročidla, která ukazují koncentrační gradienty klíčových nutričních a chemikálií. Konfokální laserová skenovací mikroskopie k popisu morfologie biofilmu a vývoj nové generace matematických modelů, které dokáží předpovědět strukturu a funkci biofilmu.

Použitím těchto metod bylo dokázáno, že biofilmy zastupují biologický systém s vysokou organizační úrovní, kde bakterie vytváří členěná, řízená a funkční společenství (Davey a kol., 2000).

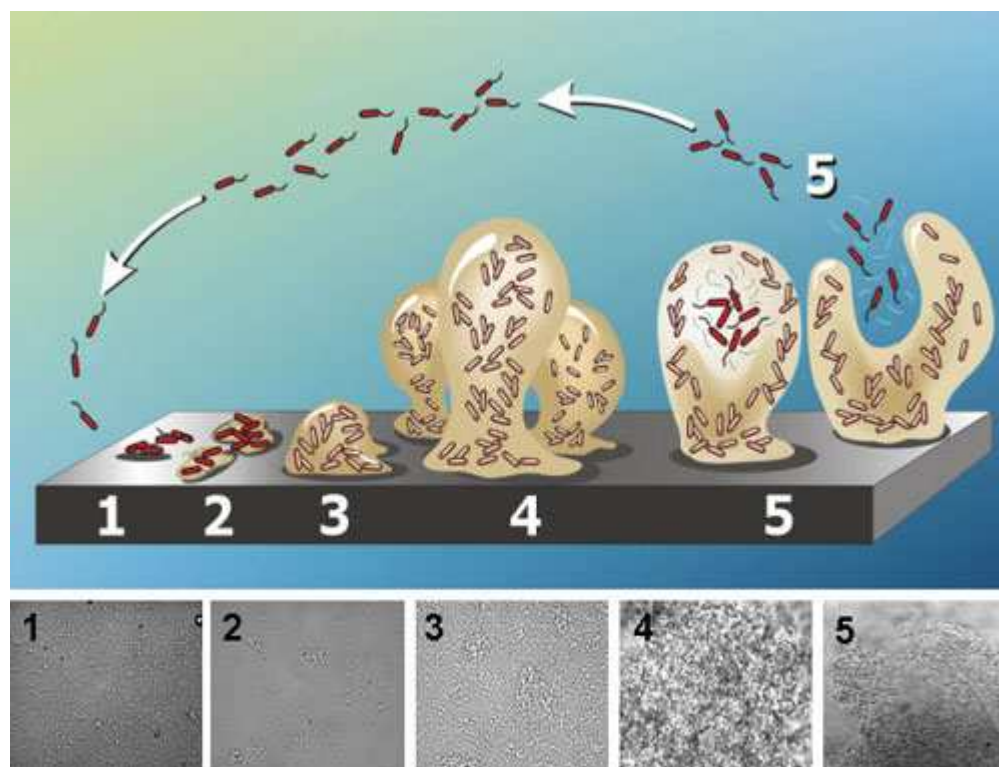
Mikrokolonie vytvářející biofilm, mohou být složeny z populace jednoho nebo více bakteriálních druhů v závislosti na vlastnostech okolního prostředí. Různé podmínky jako povrch, fázové rozhraní, dostupnost živin, složení mikrobiální komunity a hydrodynamika, ovlivňují strukturu biofilmu.

Vývoj biofilmu probíhá v několika krocích (přichycení k povrchu, tvorba mikrokolonií, zrání mikrokolonií v biofilm), které jsou částečně odlišné pro různé mikroorganismy. Většina výzkumů ukazuje, že přichycení mikroorganismů probíhá ve dvou fázích. Počáteční reverzibilní fyzikálně chemická adsorpce buněk je následována vytvářením exopolymerních látek (především polysacharidy), které slouží jako přemostující a lepící materiál pro rostoucí buněčnou populaci. Ačkoliv není stále ještě kompletně znám mechanismus spontánní mikrobiální fyzikálně chemické adsorpce, mohla by být výsledkem několika odlišných mechanismů nebo jejich komplexním působením.

Při iniciaci procesu přichycení na povrch se většinou uplatňují bičičky a také slabé vazebné interakce. Volně plovoucí planktonické buňky se adsorbují na živý nebo neživý povrch zpočátku reversibilně, poté už ireversibilně. To, zda mikroorganismus daný povrch osídí, závisí také na vlastnostech povrchu, složení a vlastnostech substrátu, iontové síle, pH a typu mikroorganismu ([www.americanscientist.org](http://www.americanscientist.org)). Bakterie rostou, dělí se a produkují molekuly pro chemickou signalizaci. Když lokální extracelulární koncentrace chemických signálů dosáhne prahové hodnoty, tak populace dosáhla minimální hustoty potřebné ke změně fenotypu. Tento jev se nazývá quorum sensing. V dozrávající kolonii při dostatku živin mikroorganismy vydávají více energie na tvorbu extracelulárních polymerních látek raději, než na růst a dělení ([www.microbialcellfactories.com](http://www.microbialcellfactories.com)).



Obr. 15: Vývoj biofilmu (www.osel.cz.)



### 2.7.9. Anaerobní čistírenské procesy

Mikrobiální rozklad organických látek za anaerobních podmínek, tj., v nepřítomnosti molekulárního kyslíku a dusičnanů, probíhá v přírodě všude tam, kde byl  $O_2$  z prostředí vyčerpán. Takové podmínky nastanou zejména v místech, kde spotřeba kyslíku aerobními mikrobiálními procesy nestačí být kompenzována jeho přívodem ze vzduchu. Anaerobní podmínky se vytvářejí zpravidla na dně vodních nádrží, ale i ve vodních recipientech přetěžovaných přívodem odpadní vody s vysokým organickým znečištěním.

Je-li substrátem anaerobního procesu bezdusíkatá látka (sacharid), nazývá se proces **kvašení**, je-li součástí substrátu látka dusíkatá (bílkovina), nazývá se proces **hnitím**. Konečným produktem anaerobních rozkladných procesů, probíhajících přes řadu mezistupňů, je  $CH_4$ ,  $CO_2$ ,  $NH_3$  a  $H_2S$ . Řízený anaerobní proces, při kterém je produkován methan se nazývá metanizací (Malá, 2005).

## Porovnání aerobních a anaerobních procesů

Hlavní předností anaerobní technologie před aerobní je transformace a zušlechťování odpadních organických látek na energeticky bohatý bioplyn. Tento poznatek jednoznačně vyplývá z porovnání bilance energie a uhlíku při aerobních a anaerobních procesech.

Při aerobních procesech je přibližně 60% energie spotřebováno na syntézu nové biomasy a 40% se ztrácí ve formě reakčního tepla. Při anaerobních procesech je téměř 90% energie původně obsažené v substrátu zachováno ve vzniklém bioplynu, 5 až 7% je spotřebováno na růst nové biomasy a 3 až 5% se ztrácí ve formě reakčního tepla.

Při aerobních procesech je asi 50% uhlíku ze substrátu přeměněno na biomasu a 50% na oxid uhličitý. Oproti tomu při anaerobních procesech přechází 95% uhlíku do bioplynu (methan, oxid uhličitý) a 5% do biomasy.

To je příčinou významně nižší produkce biomasy při zpracování určitého množství substrátu anaerobní technologií ve srovnání s aerobními procesy. Tento fakt je velice významný z hlediska minimalizace vzniku přebytečné (odpadní) biomasy během čistírenských procesů (Švehla a kol., 2004).

Tabulka 9: Bilance energie v aerobních a anaerobních procesech (Malá, 2005)

	spotřeba na syntézu biomasy	ztráta ve formě tepla	energie v bioplynu
aerobní proces	60%	40 %	-
anaerobní proces	5 - 7 %	3 - 5 %	90 %

Tabulka 10: Bilance uhlíku ze substrátu při jeho úplném rozkladu (Malá, 2005)

	přeměněno na biomasu	přeměněno jiným způsobem
aerobní proces	50 %	50 % na CO <sub>2</sub>
anaerobní proces	5 %	95 % na CH <sub>4</sub> + CO <sub>2</sub>

## Možnosti použití anaerobních technologií

Anaerobní stabilizace je nejrozšířenějším způsobem stabilizace čistírenských kalů. Stále více je využívána pro zpracování různých zemědělských „odpadů“ (jako např. exkrementy hospodářských zvířat, různé organické zbytky rostlinného i živočišného původu apod.). V poslední době se vyvíjejí metody pro anaerobní stabilizaci tuhých městských odpadů. Anaerobní procesy rozkladu organických látek probíhají v širokém rozsahu také ve skládkách.

Pro čištění odpadních vod je vhodné použít anaerobní technologie v následujících případech:

- Vysoká koncentrace organického znečištění odpadních vod
- Vysoký obsah suspendovaných látek v odpadních vodách
- Přítomnost faktorů, které ztěžují nebo znemožňují použití aerobní technologie
- Převážně sacharidické znečištění působící bytlnění aktivovaného kalu
- Nízký obsah dusíku a fosforu v odpadních vodách
- Přítomnost těkavých látek, sice rozložitelných aerobně, ale vystripovaných vzduchem dříve než se stačí rozložit
- Vyšší teplota odpadních vod zhoršující přístup kyslíku při aerobním čištění
- Přítomnost látek z důvodů chemické struktury obtížně a pomalu rozložitelných za aerobních podmínek
- Kampaňové provozy (Švehla a kol., 2004).

### 2.7.9.1. Mechanismus a mikrobiologie anaerobních procesů

Rozklad organických látek za anaerobních podmínek je výslednicí součinnosti několika mikrobiálních skupin, jejichž metabolické procesy na sebe navazují. Produkty metabolismu jedné skupiny jsou substrátem pro skupinu další.

Ačkoliv jsou v anaerobním procesu převažujícími organismy bakterie, mohou hrát i některé jiné mikroorganismy důležitou roli, hlavně v počátečním stadiu fermentace. Příkladem jsou někteří bičíkovci, houby a kvasinky, produkující enzymy, schopné rozkládat například pro bakteriální rozklad rezistentní ligninocelulosoový materiál (Malá, 2005).

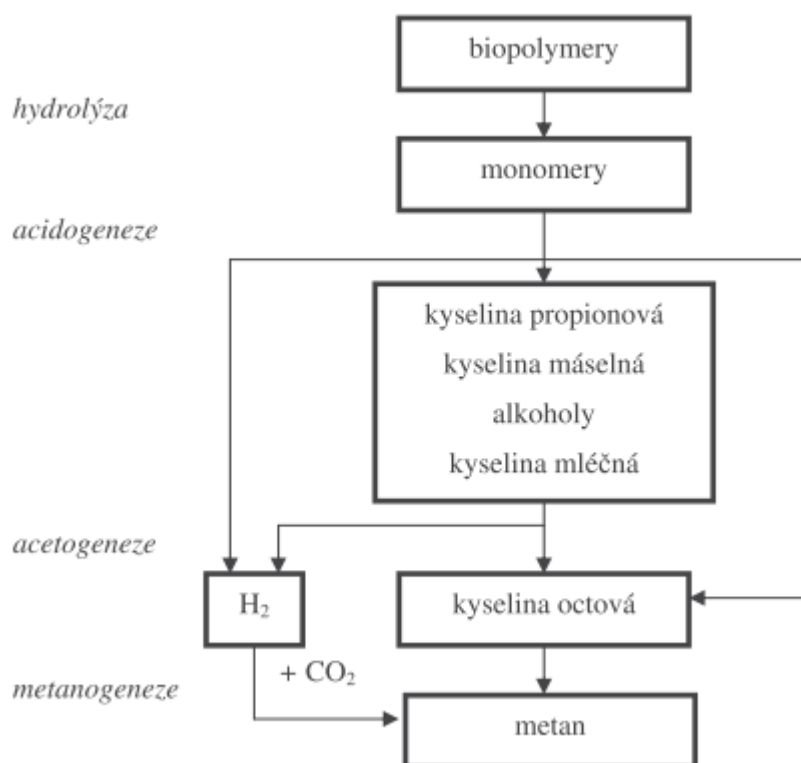
V prvním stadiu rozkladu -**hydrolýze**- jsou rozkládány makromolekulární rozpuštěné i nerozpuštěné organické látky (polysacharidy, lipidy, proteiny) na nízkomolekulární látky rozpustné ve vodě pomocí extracelulárních hydrolytických enzymů, produkovaných hlavně fermentačními bakteriemi. Vznikající nízkomolekulární látky jsou na rozdíl od vysokomolekulárních schopny transportu dovnitř do buňky.

Produkty hydrolýzy, nízkomolekulární látky, jsou uvnitř buňky během druhé fáze – **acidogenese** – rozkládány dále na jednodušší organické látky (kyseliny, alkoholy, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>). V dalším stadiu rozkladu – **acetogenesi** – probíhá oxidace vyšších produktů acidogenese na H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> a kyselinu octovou.

V posledním stadiu – **methanogenesi** – methanogenní mikroorganismy rozkládají své specifické substráty, což jsou některé jednoduhlíkaté látky (methanol, kyselina mravenčí,

methylaminy,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}$ ) a  $\text{H}_2$ , z víceuhlíkatých pouze kyselina octová. Produkty rozkladu jsou methan a oxid uhličitý. Substráty vhodné pro methanogenní mikroorganismy mohou v tomto stadiu konkurenčně zpracovávat také denitrifikační a sulfátredukující bakterie, pokud jsou přítomny jejich konečné elektronové akceptory (Švehla a kol., 2004).

Obr. 16: Schéma anaerobního rozkladu organických látek (Malá, 2005)



### Kultivace anaerobní zóny

Řízené anaerobní procesy lze s výhodou využít pro čištění odpadních vod a pro stabilizaci kalů. Sem řadíme zejména zpracování substrátu s vysokou koncentrací organických látek. Proces je organizován v anaerobním reaktoru.

Anaerobní mikroorganismy, podílející se na rozkladném procesu mohou být v reaktoru přítomny jednak jako volní jedinci, kteří však nemají pro kultivaci biomasy podstatný význam, neboť jsou ze systému vyplavovány, jednak přisedlé jako biofilm na pevném podkladu nebo v suspenzi (Hlavínek a kol., 2006).

## Přehled reaktorů pro anaerobní čištění odpadních vod

Souběžně s rozvojem výzkumu anaerobního čištění odpadních vod dochází i ke konstrukci nových druhů reaktorů využívajících nových poznatků výzkumu. Některé typy se často liší pouze určitými detaily v konstrukci.

Velké množství druhů a názvů anaerobních reaktorů je dáno především obchodními zájmy autorů nebo konstrukčních firem.

Výkonnost reaktorů závisí především na:

- Množství aktivní biomasy, která zůstává v reaktoru i při vysokých zátěžích,
- Kontaktu biomasy s přiváděným substrátem (odpadní vodou),
- Rychlosti biologické konverze.

První dvě kritéria jsou přímo závislá na konstrukci reaktoru. Rychlost biologické konverze závisí na koncentraci biomasy a na dalších reakčních podmínkách (teplotě, koncentraci substrátu, inhibici, atd.). Množství biomasy v reaktoru závisí na způsobu kultivace. Z hlediska způsobu kultivace lze anaerobní reaktory pro čištění odpadních vod rozdělit do dvou hlavních skupin:

- S kultivací biomasy v suspenzi,
- S kultivací imobilizované biomasy.

Pro současné vysokozatěžované způsoby anaerobního čištění odpadních vod má hlavní význam kultivace imobilizované biomasy, která umožňuje udržení vysoké koncentrace biomasy v reaktoru (Dohányos a kol., 1998).

### 2.7.10. Přírozené způsoby biologického čištění

Přírozené způsoby čištění odpadních vod využívají přírodních, především mikrobiologických samočisticích procesů. Ty se oproti umělým způsobům čištění výrazně neintenzifikují, pouze jsou vymezeny prostorově. Jejich uspořádání minimalizuje negativní vliv na okolní životní prostředí. K přírodním způsobům čištění patří stabilizační nádrže a kořenové čistírny. V obou případech se požaduje předchozí hrubé předčištění a dokonalé mechanické čištění, pro které lze s výhodou použít šterbinové nádrže.

Výhodou stabilizačních nádrží a kořenových čistíren je jednoduchý provoz, nízké provozní náklady a možnost čištění i velice naředěných odpadních vod. Nevýhodou jsou velké nároky na plochu, což prakticky vylučuje jejich použití tam, kde jejich výstavba vyžaduje

zábor zemědělské půdy. Používají se hlavně pro čištění odpadních vod z malých zdrojů. Stabilizační nádrže se mohou uplatnit pro dočišťování biologicky čištěné odpadní vody podle místních podmínek i u větších zdrojů (Malá, 2005).

### **Stabilizační nádrže**

Stabilizační nádrže patří k nejstarším zařízením pro čištění odpadních vod. Jejich používání pro biologické čištění a zejména pro pokročilý stupeň dočišťování odpadních vod se v poslední době v celém světě výrazně rozšířilo. Důvodem je skutečnost, že stabilizační nádrže jsou materiálově, provozně a energeticky náročné. Přitom pro jejich budování lze výhodně využít stávajících i bývalých rybníků nebo přirozených terénních prohlubní v oblastech s méně kvalitními půdami. Odstraňování organických látek z vody zabezpečují bakterie, které je oxidují na vodu a oxid uhličitý. Kyslík potřebný k oxidaci je dodáván jednak řasami, jednak jeho přirozeným přestupem přes hladinu.

Kromě materiálové, energetické a provozní nenáročnosti je předností stabilizačních nádrží relativně vysoká účinnost čištění, včetně mimořádného omezení choroboplodných zárodků.

V menších obcích se uplatní stabilizační nádrže, chráněné hrubým předčištěním a často též šterbinovou nádrží, jako hlavní čistící zařízení.

Další použití stabilizačních nádrží je jako dočištění, například za vysokozatíženým biologickým filtrem. V malé obci s jednotnou kanalizací může stabilizační nádrž současně plnit i funkci dešťové nádrže pro odpadní vody odlehčované ze stokové sítě před čistírnou.

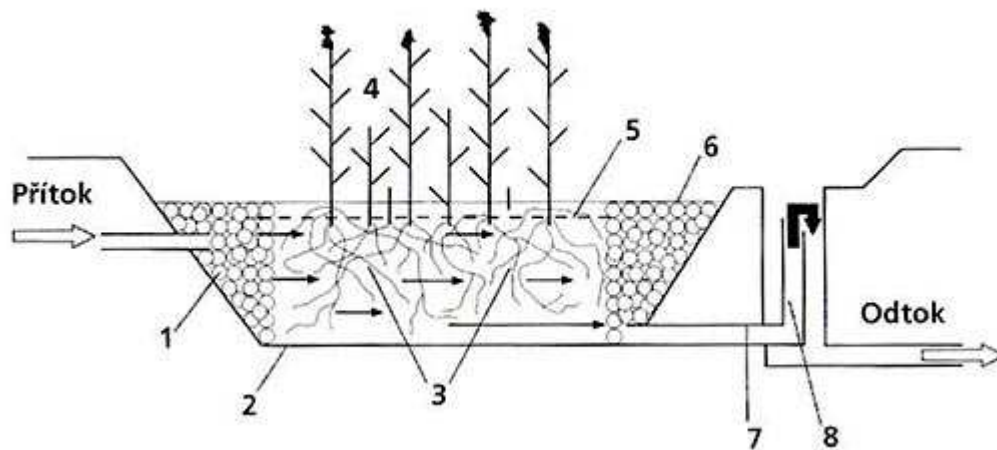
Všechny typy stabilizačních nádrží je nutné chránit před rychlým zanášením usaditelnými částicemi. V případě splaškové kanalizace postačuje předčištění v jednotlivých domovních septicích. Pokud se jedná o kanalizaci jednotnou, je nutné před stabilizační nádrží zařadit sedimentační stupeň v podobě šterbinové nádrže nebo alespoň prosté otevřené, snadno odkalovatelné usazovací nádrže. Četné stabilizační nádrže, které tuto ochranu postrádají, jsou silně zabahněné a jejich vliv na kvalitu vody je slabý, ne-li přímo negativní (Švehla a kol., 2004).

### **Vegetační (kořenová) čistírna**

Kořenové čistírny jsou jednou z možností čištění odpadních vod malých obcí. Představují zčásti přírodní způsob čištění, založený na mechanických, fyzikálně chemických a biologických pochodech, probíhajících v porézním půdním prostředí, ve vodě a za spolupůsobení mokřadních rostlin. Nadzemní část rostliny dopravuje vzdušný kyslík do části

kořenové, kde jej uvolňuje. Této vlastnosti se využívalo k čištění odpadních vod v našem podnebí obvykle pomocí rákosu a orobince. Kořenovou čistírnu tvoří zemní jímka obdélníkového tvaru těsněná jílovým těsněním, těsnícími foliemi z plastů apod. Jímka je vyplněna vhodnou štěrkopískovou náplní, osázenou vhodnými rostlinami, jejichž výběr závisí na klimatických podmínkách, hloubce filtračního lože, druhu a znečištění odpadní vody apod. (Švehla a kol., 2004).

Vrstvou písku proudí mechanicky předčištěná odpadní voda horizontálním směrem a v úseku několika desítek metrů za dobu několika dnů je vyčištěna na zbytkové koncentrace organického znečištění ( $BSK_5$ ) srovnatelné s odtoky aerobních biologických ČOV, přestože poměry v loži jsou anaerobní. Na odstranění organického znečištění se zřejmě projevuje i vliv adsorpce v náplni. Eliminování amoniaku je však neúplné, neboť nitrifikační procesy v podzemním prostředí neprobíhají. Výška hladiny vody v pískovém loži je regulovatelná stavidlovým odtokovým objektem a v zimním období musí být nastavena do nezamrzající hloubky. Pro zvýšené odstranění živin se povrch lože osazuje rostlinami, které je odebírají z vodného prostředí kořenovým systémem, ovšem jen ve vegetačním období. Kořenové ČOV jsou vhodné jen pro malé zdroje znečištění (Malá, 2005).

Obr. 17: Schéma kořenové čistírny odpadních vod ([www.ceskaenergetika.cz](http://www.ceskaenergetika.cz))

Popis k obrázku č.17:

1. distribuční zóna (kamenivo, 50-200 mm)
2. nepropustná bariéra (PE/PVC)
3. filtrační lože (např. písek nebo štěrk)
4. mokřadní vegetace
5. výška vodní hladiny v kořenovém loži nastavitelná v odtokové šachtě
6. odtoková zóna (shodná s distribuční zónou)
7. sběrná drenáž
8. regulace výšky vodní hladiny



## 3. Metodická část

### 3.1. Cíle práce

Cílem této diplomové práce bylo **posoudit odbouratelnost diphenylguanidinu (DPG) a anilinu** obsaženého v odpadních vodách z procesu výroby DPG. Aby bylo možné posoudit účinnost biodegradace, byl sledován úbytek koncentrace DPG a anilinu ve vodách vstupujících a vystupujících z bioreaktoru chemicko-biologické čistírny odpadních vod (CHBČOV) v Lučebních závodech Draslovka a.s. Kolín odebíraných v intervalu tří dní, což respektuje dobu zdržení nutnou k optimálnímu průběhu čistícího procesu. Jako analytická metoda vhodná k posouzení účinnosti čistícího procesu při odbourávání DPG byla zvolena metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC).

Součástí diplomové práce je i **stanovení vedlejších produktů z výroby DPG**, které mohou mít vliv na průběh samotného čistícího procesu. Mezi tyto látky patří zejména deriváty fenylmočoviny. Ke stanovení vedlejších produktů byla také využita vysokoúčinná kapalinová chromatografie, která patří mezi nejlepší separační analytické metody používané v průmyslu, zdravotnictví, farmacii a mnoha dalších oborech.

Další část diplomové práce je zaměřena na **sledování charakteru biofilmu a aktivity bakteriální kultury**. Mikrokolonie, vytvářející biofilm, jsou složeny z populace bakteriálního rodu *Rhodococcus erythropolis*. Bakterie získávají živiny z organických složek OV (anilin, DPG) a zbytkových kyanidů za současné dotace fosforu jako nutrientu. Životnost bakterií rodu *Rhodococcus erythropolis* je výrazně ovlivněna hodnotou pH, teplotou, obsahem kyslíku a koncentrací znečištění. Vedlejším produktem čistícího procesu je vznik amoniakálního dusíku, jako produktu rozpadu organické hmoty.

## 3.2. Lučební závody Draslovka, a.s.

Provádět výzkum, který je součástí této magisterské diplomové práce bylo umožněno v laboratořích výzkumu Lučebních závodů Draslovka a.s. Kolín.

Obr. 18: Lučební závody Draslovka a.s. Kolín ([www.draslovka.cz](http://www.draslovka.cz))



### Důležité mezníky v životě společnosti

#### 1906

- Založena z podnětu frankfurtské „Deutsche Gold und Sieberscheidenanstalt“ (nynější „Degussa“) společnost pod obchodním jménem „Akciová společnost pro zpracování draselných louhů v Kolíně“

#### 1958

- Začlenění do chemických závodů „Synthesia Pardubice“

#### 1984

- Začlenění společnosti v rámci „Lučebních závodů Kolín“ do oborového podniku „Lachema Brno“

#### 1990

- Vznik státního podniku „Lučební závody Kolín s.p.“

#### 1992

- Vznik akciové společnosti „Lučební závody Kolín a.s.“

#### 1994

- Delimitace společnosti „Lučební závody Kolín a.s.“ a vznik společnosti „Lučební závody Draslovka a.s. Kolín“

**1996**

- Vstup ITCE, spol., s.r.o. jako majoritního akcionáře do společnosti „Lučební závody Draslovka a.s. Kolín“

**Historie**

Desítky let byla hlavním podnikáním závodu výroba kyanidu sodného a draselného, kapalného kyanovodíku, sazí, síranu amonného a kyanovodíku z tzv. melasových výpalků dodávaných lihovary. Téměř všechny kyanid sodný se exportoval do jižní Afriky, kde se používal k těžbě zlata, kde se vzniklé kyanidové komplexy stabilizují vápenným mlékem (omezení úniku volného kyanovodíku) s následným srážením např. pomocí zinkového prachu nebo jinou vhodnou metodu a ke galvanickému pokovování. Zhruba od 50. let minulého století je provozována výroba diphenylguanidinu.

**Současnost**

V současnosti tvoří hlavní výrobní program firmy výroba syntetického kyanovodíku (HCN) a jeho zpracování do dvou nosných produktů: kyanid sodný (NaCN) – pro těžbu zlata a galvanotechniku a diphenylguanidin (DPG) – jako urychlovač vulkanizace v gumárenském průmyslu. Třetím nosným produktem Draslovky je výrobek nekyanidové chemie chlorcholinchlorid (RTC), který se vyrábí sezónně a používá se jako morforegulátor růstu v zemědělství. Tyto tři výrobky tvoří téměř 95% celkové výroby firmy. Zbývající produkci tvoří výrobky pro maskování kovů, úpravu vody, pro výrobu nátěrových hmot, plastických omítkovin atd. Kolem 90% produkce Draslovky míří na světové trhy, a to hlavně v položce kyanidu sodného. Ostatní produkty směřují převážně na evropský trh. V produkci DPG Draslovka uspokojuje cca 15 – 17% světové spotřeby.

**Budoucnost**

Podnikatelský záměr Draslovky na další období je zaměřen na vývoj nových výrobků: jednak na výrobky využívající typické reakce HCN, dále na modifikaci stávajících produktů (hydrolýzu, amidy, esterifikaci, adici na dvojnou vazbu) a také na látky, které nejsou odvozeny od HCN (hnojiva, polymery atd).

Systém managementu jakosti zahrnuje vývoj a výrobu HCN, diphenylguanidinu (obchodní název: DENAX), chlorcholinchloridu (obchodní název: RETACEL) a nově od prosince 2005 také výrobu kyanidů. První certifikát byl vystaven v prosinci 1999. Draslovka

opakovaně uspěla při kontrolních auditech prováděných společnostmi „Lloyd’s Register Quality Assurance“.

### 3.3. Difenylguanidin

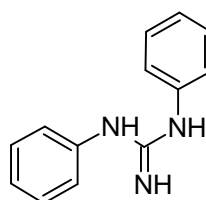
Difenylguanidin je znám pod zkratkou DPG, nebo také Denax.

#### Složení výrobku

Základní složku všech denaxů tvoří technický *N,N'*-difenylguanidin. Denax oil a Denax granule navíc obsahují přísávek 1-2 % hydraulického oleje.

---

Strukturní vzorec:



Sumární vzorec:



Surovinami pro výrobu DPG jsou kapalný kyanovodík (HCN), kapalný chlor ( $\text{Cl}_2$ ), anilin, vápenec ( $\text{CaCO}_3$ ), aktivní uhlí, hydroxid sodný (NaOH), solvatační přísada a hydraulický olej, případně i kyselina chlorovodíková (HCl). Při výrobě vzniká jako meziprodukt chlorkyan (ClCN).

Výstupním produktem je Denax technicky čistý nebo olejovaný, ve formě usušeného prášku či suchých granulí, balený do pytlů nebo vaků.

#### Popis technologie výroby

Reakcí plynného chlorkyanu s anilinem se vyrobí difenylguanidin hydrochlorid (dále též DPG-HCl), který se po rozpuštění ve vodě přečistí filtrací.

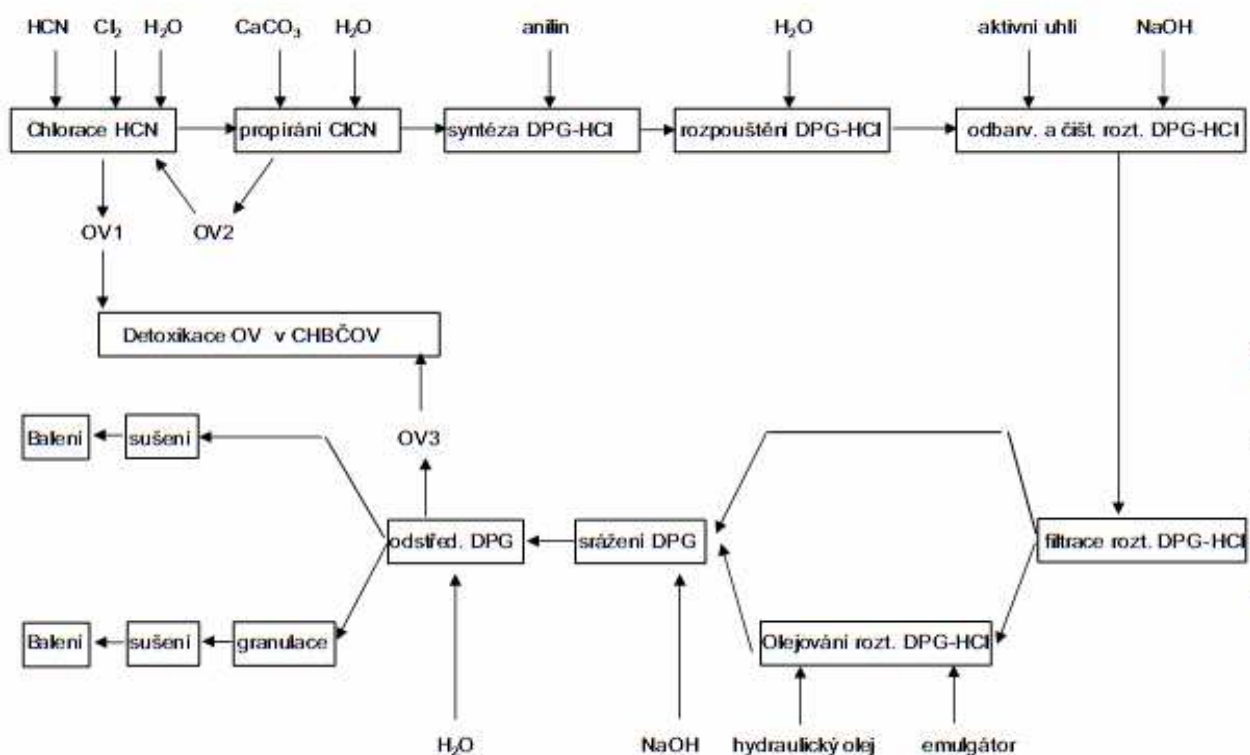
Z filtrátu roztoku DPG-HCl se působením roztoku hydroxidu sodného vyloučí difenylguanidin.

Vyloučený DPG se oddělí od matečného roztoku a suší v prachové formě nebo ve formě granulí.

Výroba se skládá z těchto stupňů:

- Výroba chlorkyanu
- Výroba DPG – HCl
- Rozpuštění DPG – HCl a jeho čištění
- Srážení DPG z roztoku DPG – HCl
- Odstředování suspenze DPG
- Sušení a balení DPG

Obr. 19: Látkové schéma technologického postupu výroby (Materiály Draslovky)



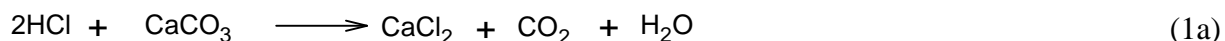
### Reakční schéma výrobního stupně

Chlorkyan se vyrábí v chlorační nádobě kontinuální chlorací cca 2% vodného roztoku kyanovodíku plynným chlórem:



Malá množství ClCN vznikají i v propíracích kolonách dodatečnou chlorací strženého HCN.

Vznikající plynný ClCN se propíráním vodou ve skleněných věžích s náplní čistí od strhávaného chlorovodíku, který se neutralizuje na náplni kusového vápence:



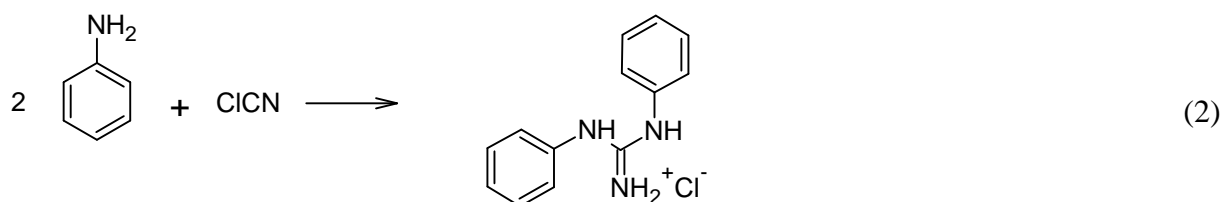
Ve vodném roztoku může probíhat hydrolyza chlorkyanu podle rovnice:



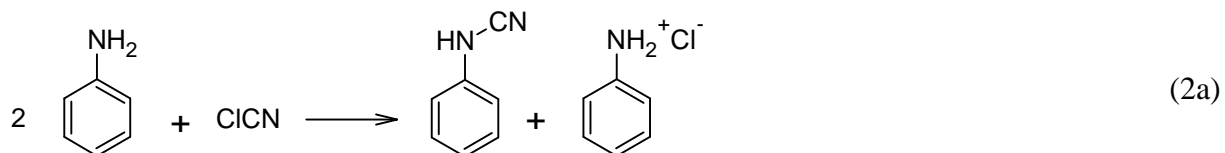
Reakci katalyzuje HCl a CO<sub>2</sub>, s rostoucí koncentrací a teplotou rychlost reakce stoupá.

### Výroba DPG-HCl

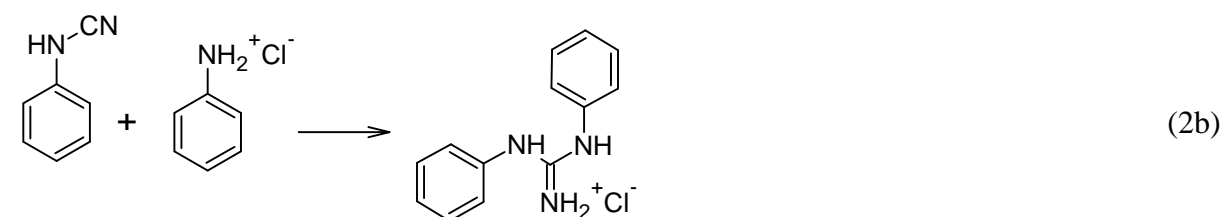
Vyrobený plynný chlorkyan se uvádí do reaktoru s anilinem, kde za teploty cca 100 – 140 °C reaguje s anilinem za vzniku DPG-HCl dle schematu (2)



Reakce anilinu s chlorkyanem (2) probíhá ve dvou stupních:



Reakce (2a) probíhá za studena velmi rychle.



Reakce (2b) probíhá za studena zvolna, dostatečnou rychlost má až za vyšších teplot (nad 90°C).

Reakční meziproduct fenylncyanamid (FKA) snadno hydrolyzuje na fenylnmočovinu působením vody nebo zředěných kyselin.

**Fenylmočovina** může vznikat při syntéze DPG-HCl v reakční směsi, pokud je v ní přítomna voda, nebo v roztoku, pokud byl v rozpouštěné reakční směsi přítomen FKA.

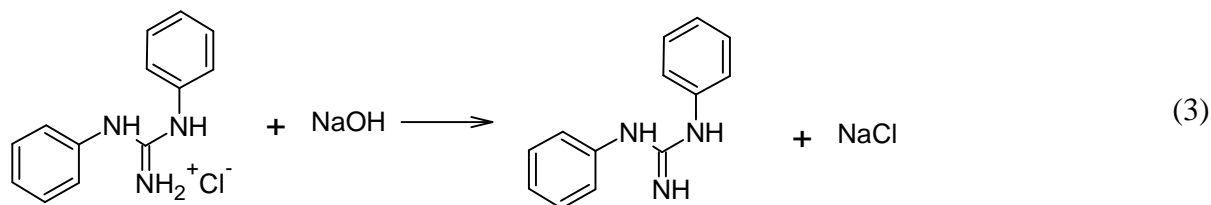
Fenylmočovina se varem ve vodě rozkládá na *N,N'*-difenylmočovinu, anilin, CO<sub>2</sub> a NH<sub>3</sub>.

### Rozpouštění DPG-HCl, jeho čištění a odbarvování, filtrace

Reakční směs (DPG-HCl) se vypustí z reaktoru, rozpustí se ve vodě, přidá aktivní uhlí, pH se upraví na hodnotu 7 a přefiltruje se.

### Srážení DPG z roztoku DPG-HCl

Zfiltrovaný roztok DPG-HCl se vysráží za stálého míchání cca 10% hydroxidem sodným z roztoku asi 20 – 40 °C teplého (do výsledné hodnoty pH 10-11). Přitom se z roztoku vyloučí bílá suspenze volné báze DPG:



### Odstředování suspenze DPG

Odstředěním a promytím vodou na odstředivce se DPG zbaví obsahu NaCl a ostatních ve vodě rozpustných příměsí.

### Sušení a balení DPG

Odstředěný DPG se v prachové formě suší ve vírové sušárně nebo se lisuje a vzniklé granule se suší v pásové sušárně. Usušený DPG se plní do obalů.

Tabulka 11: Informace o DPG (Materiály Draslovky)

<b>Fyzikální a chemické vlastnosti</b>			
Vzhled (forma/barva):	bílý až slabě naředlý prášek		
Zápach/vůně:	bez zápachu		
Molekulová hmotnost:	211,267		
Bod tání:	min. 146 °C		
Bod vzplanutí:	270°C		
Doba vzplanutí:	240 s		
Hořlavost:	hořlavá látka		
Hustota	1,19 g.cm <sup>-3</sup>		
Sypná hmotnost:	0,3 g.cm <sup>-3</sup>		
Rozpustnost:	voda	20°C	0,56 g.l <sup>-1</sup>
		60°C	1,27 g.l <sup>-1</sup>
	methylalkohol	20°C	91 g.l <sup>-1</sup>
<b>Toxikologické informace</b>			
Akutní toxicita:	LD <sub>50</sub> (orálně, potkan)	375 mg.kg <sup>-1</sup>	
	LD <sub>50</sub> (orálně, myš)	290 mg.kg <sup>-1</sup>	
	LD <sub>50</sub> (orálně, krysa)	520 mg.kg <sup>-1</sup>	
Dráždivý účinek na pokožku:	při delším kontaktu s kůží vyvolává ekzém		
Dráždivý účinek při požití:	způsobuje bolesti břicha, snižuje kyselost žaludku		
Dráždivý účinek na oči:	dráždí oči, způsobuje zarudnutí očních víček		
Jiné údaje:	dráždí centrální nervstvo		
<b>Ekologické informace</b>			
Zbytky látky a prázdné obaly se likvidují spálením. Protože je diphenylguanidin (DENAX) ve vodě nerozpustný, je třeba jej z vody odstranit filtrací s následným spálením filtračního koláče.			



### 3.4. Chemicko biologická čistírna odpadních vod (CHBČOV) v Lučebních závodech Draslovka a.s., Kolín

Chemicko-biologická čistírna odpadních vod je kombinovaná čistírna projektovaná na likvidaci technologických odpadních vod, především z procesů výroby DPG.

Biologickému stupni - biologické detoxikaci, je předřazeno fyzikálně chemické předčištění extrémně znečištěného proudu odpadní vody (OV) z výroby chlorkyanu a egalizační neutralizační stanice. Z technologického hlediska je stupeň předčištění OV z výroby chlorkyanu zajištěn stripováním parou na náplňové koloně, neutralizace dvoustupňovou neutralizací směsi jednotlivých proudů OV a biologický stupeň je tvořen dvěma bioreaktory a dosazovací nádrží.

#### Provozní soubory (PS):

**PS 01** – zařízení pro předčištění odpadních vod z výroby chlorkyanu (stripovací kolony s výměníky tepla a čerpací technikou),

**PS 02** - neutralizační jednotka, obsahující egalizační objemy, neutralizační reaktory, zásobníky chemikálií, dávkovadla chemikálií a čerpací techniku. V jednotce je situován i filtr pro odvodnění kalů. Provozní soubor 02 je určen pro úpravu odpadních vod ze syntézy chlorkyanu, výroby DPG a ostatních vod s obsahem kyanidů, produkovaných a.s. Draslovka. Technologicky přímo navazuje na PS 01-předúprava odpadních vod z výroby chlorkyanu a zařízení pro výrobu DPG. Účelem PS 02 je zajistit optimální podmínky pro provoz PS 03-biologickou detoxikaci, optimalizaci hodnoty pH a stabilizaci průtoku odpadních vod.

**PS 03** – biologické reaktory potřebného objemu včetně náplně (nosiče biomasy ve fluidním loži), aeračního systému a dosazovací nádrže pro separaci disperzní a přebytečné biomasy. Součástí je zdroj tlakového vzduchu a hospodářství pomocných chemikálií pro gravitační separaci kalů.

Provozní soubor 03 je určen pro finální čištění OV ze syntézy chlorkyanu, výroby DPG a podzemních vod z hydraulické ochrany, s obsahem kyanidů a organotoxikantů, produkovaných LZ Draslovka a.s.

Čištění těchto odpadních vod je prováděno **biodegradací biofilmovou kulturou v bioreaktorech** s pevným nosičem biomasy ve fluidním loži. Pro inokulaci bioreaktorů je použita cíleně selektovaná kultura mikroorganismů rodu *Rhodococcus erythropolis* s ověřeným biodegradacním potenciálem vzhledem ke kyanidům, organickým nitrilům, anilinu a acetonu, které jsou obsaženy ve výše uvedených odpadních vodách. Použitá kultura

má po adaptaci rovněž zvýšenou rezistenci vzhledem k vysoké salinitě OV, způsobené obsahem chloridů max. do 30 g.l<sup>-1</sup>.

PS 03 technologicky přímo navazuje a je vázán na PS 02–neutralizaci OV a filtraci kalů. Účelem PS 03 je odstranění výše uvedených znečišťujících složek OV a redukcí celkového organického znečištění.

Z technologického hlediska se jedná o biologickou ČOV se středněbublinnou aeraací s biomasou fixovanou na pevný nosič ve fluidním loži. Biologický stupeň tvoří dva bioreaktory s jednou dosazovací nádrží, které je možno variabilně provozovat paralelně či sériově v závislosti na vývoji technologického procesu.

**PS 04** – detoxikační nádrže, využívané pro případ eventuálních havarijních stavů jako záchytné akumulární nádrže, z kterých je možno extrémně kontaminované OV řízeně vypouštět na novou chemicko-biologickou čistírnu odpadních vod nebo tyto vody předčistit původní srážecí technologií a následně vypouštět na novou CHBČOV.

Provozní soubor 04 slouží k obojsměrnému propojování materiálových proudů mezi provozními soubory CHBČOV a detoxikačními jámami, kde se provádějí dekontaminace OV s obsahem kyanidů srážením železnato-železitou solí.

### Charakteristika výstupu z CHBČOV

Z chemicko-biologické čistírny odpadních vod se produkují vody čiré případně pouze mírně zakalené, splňující předepsané limity pro LZ Draslovka a.s., Kolín.

V zásadě se jedná o vody s různým stupněm zbarvení jako důsledek aplikace anilinu v procesech výroby difenylguanidinu.

Tabulka 12: Emisní limity pro výrobu DPG dané platným IP (Materiály Draslovky)

ukazatel	jednotka	CN <sub>celk</sub>	CHSK <sub>Cr</sub>	NL	Anilin	RAS	pH
Limit „p“	mg.l <sup>-1</sup>	10	800	30	50	30 000	6-8,5
Limit „m“	mg.l <sup>-1</sup>	15	1000	50	60	35 000	6-8,5

Vysvětlivky:

CN<sub>celk</sub>.....kyanidy (celkem)

CHSK<sub>Cr</sub>.....chemická spotřeba kyslíku

NL.....nerozpuštěné látky

RAS.....rozpuštěné látky

### Podstata postupu výroby

Na CHBČOV jsou zpracovány odpadní vody produkované z jednotlivých výrobních uzlů výroby DPG. Jedná se o následující proudy odpadních vod kyanidů a organických látek:

1. OV z odstředování suspenze DPG
2. OV z vodokružných vývěv ze syntézy DPG
3. OV ze syntézy chlorkyanu
4. Oplachové OV

Kromě OV z výroby mohou být na společné čištění vedeny OV z provozované hydraulické kolony v množství cca 9 m<sup>3</sup>/den.

Dlouhodobě v LZD používaný způsob chemické detoxikace OV (srážením kyanidů na nerozpustné komplexní sraženiny, separací sraženin a jejich deponováním) je nahrazen komplexním řešením založeným na předčištění extrémně kontaminovaných odpadních vod se zpětným využitím surovin a meziproduktů s následným chemicko-biologickým stupněm čištění odstraňujícím jak kyanidy, tak přítomné rozložitelné organické látky.

### Biodegradace DPG a anilinu

K biodegradaci DPG a anilinu jsou vhodné bakterie rodu *Rhodococcus erythropolis*. Rod *Rhodococcus erythropolis* je řazen do kmene *Actinobacteria*, čeledi *Nocardiaceae*. Tyto bakterie patří mezi grampozitivní, aerobní, chromoorganotrofní bakterie.

*Rhodococcus erythropolis*, (kultura mořské bakterie) produkuje velké množství exopolysacharidů, mezi nimiž najdeme exopolysacharid mucoidan. Jedná se o kyselý polysacharid slizovitého charakteru. Exopolysacharidy tvořené těmito bakteriemi jsou důležité při bakteriální degradaci nepolárních aromatických a alifatických složek. Jako nosič biomasy slouží polyethylenová kolečka, s vysokou hustotou matrice se zvětšeným vnitřním účinným povrchem, na kterých je umožněn nárůst biomasy.

Obr. 20: Nosič biomasy (Materiály Draslovky)



Průměr:	<b>25 mm</b>
Výška:	<b>10 mm</b>
Vnitřní účinný povrch:	<b>500 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup></b>

### 3.5. Odběr vzorků

Pro analýzu stanovení množství DPG a vedlejších produktů z výroby DPG byly vzorky vod odebírány v třídním intervalu, od března roku 2009 do července roku 2009, z reaktoru chemicko-biologické čistírny odpadních vod a to na vstupu (nátoku) a výstupu (odtoku) OV z výroby DPG, za pomoci vyškolených pracovníků z Lučebních závodů Draslovka a.s., Kolín. Během tohoto období bylo odebráno 41 vzorků OV na vstupu a 41 vzorků na výstupu. Vzorky byly odebírány 1x za den. Každý jednotlivý vzorek představuje směsný vzorek získaný sléváním objemově stejných dílčích vzorků v intervalu 24 hodin. Vzorky byly uskladněny v polyethylenových nádobách, o objemu 50 ml. Pro možnost provádět analýzu za delší časový interval byly vzorky uloženy v mrazáku při teplotě -18°C.

Pro úkol stanovení aktivity bakteriální kultury rodu *Rhodococcus* bylo odebráno 44 vzorků na vstupu OV.

### 3.6. Analytické pracovní postupy

Ke stanovení odbouratelnosti DPG a stanovení vedlejších látek, byla za vhodnou metodu, zvolena metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) na reverzní fázi. Kapalinová chromatografie je jednou z nepoužívanějších separačních metod. Tato metoda je založena na rozdílné distribuci dělených látek mezi dvě různé nemísitelné fáze.

### 3.6.1. HPLC stanovení anilinu, DPG a fenylmočoviny

#### Princip

Difenyguanidin (DPG) a další doprovodné látky (fenylmočovina a anilin) syntézy lze na základě polaritě snadno oddělit na HPLC koloně (C<sub>18</sub>). Přítomné benzenové jádro je u všech uvedených látek v daném prostředí detekovatelné při vlnové délce 230 nm.

#### Přístrojové vybavení

Při HPLC metodě byly používány tyto přístroje:

- a) **HPLC Chromatograf Knauer** – HPLC čerpadlo Smartline 1000, manažer Smartline 5000, včetně degasseru a LPG a UV detektor Smartline 2500 (Knauer, Německo)
- b) **Kolona** - Gemini C<sub>18</sub>, 150 mm x 4,6 mm, 3 μ, 110 Å (Phenomenex, USA)
- c) **Software** – Clarity DataApex v. 2.6.6. (DataApex, s.r.o, ČR)
- d) **Mrazák Zanussi** (Zanussi-Elektrolux, ČR)

#### Chemikálie

Při HPLC metodě stanovení DPG byly používány tyto chemikálie:

- Acetonitril (Lach Ner, ČR)
- H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> – pro úpravu pH mobilní fáze na pH 2,0 až 2,1 (Penta, ČR)
- Demineralizovaná voda (LZD a.s., ČR)

#### Parametry metody

Bylo dávkováno 20 μl filtrovaného vzorku odpadní vody z procesu výroby DPG. Mobilní fáze byla složena z acetonitrilu (20%) a vody (80%), dle hodnoty pH pak upravována přidáním kyseliny trihydrogenfosforečné.

Při kapalinové chromatografii byl použit isokratický mód, tedy isokratická eluce, kdy je mobilní fáze vedena ze zásobníku přes odplyňovač do vysokotlakého čerpadla. Odtud je mobilní fáze vedena přes tlumič pulzů čerpadla do kolony Gemini C<sub>18</sub>, 3 μm, 110 Å.

Rychlost průtoku mobilní fáze dosahuje hodnot 1 ml.min<sup>-1</sup> (tlak cca 3000 ψ = 206,90 bar).

### Příprava vzorku a měření

Vzorek OV z výroby DPG byl ředěn tak, aby obsahoval cca 5-300 ppm stanovované látky. Vzorky byly nastříkány za použití tzv. šesticestného kohoutu s dávkovací smyčkou. Smyčka se nejprve naplní vzorkem, poté se kohout přepne do druhé polohy, kdy eluent protéká smyčkou a vnese vzorek do kolony.

Vzorek se rozpouští v mobilní fázi. Měření je založeno na metodě DPG-X.met.

### Typické retenční časy

Základní způsob kvalitativního vyhodnocování chromatogramů je založen na znalosti retenčních dat chromatografovaných látek. Identifikace spočívá v porovnání retenčního času neznámé látky a standardu separovaného za stejných podmínek.

Tabulka 13: Retenční časy

anilin	1,5 min
DPG	3,5 min
fenylmočovina	5 min

### Kalibrace

Pro kalibraci se připraví standardy DPG, anilinu případně dalších látek v intervalu koncentrací 1-300 ppm. Jako kalibrační standard se použije definovaný vzorek s obsahem >99%. Standardy se ředí v kyselé mobilní fázi. Na základě kalibrace se přiřadí stanovovaným látkám retenční čas a odezvový faktor.

Nová kalibrace se provádí vždy při změně chemikálií, výměně mobilní fáze apod., ale vždy nejméně 1x za měsíc, po který se měření provádí. Ověření správnosti odezvy a retenčních časů se provádí minimálně 1x za 3 dny, v průběhu dlouhodobějšího měření, na základě dříve připraveného roztoku standardu. Kalibrace se v Clarity softwaru vloží do metody programu DPG-X.met.

### Vyhodnocení výsledků

Vyhodnocení obsahu se provádí na základě uložené kalibrační křivky v metodě DPG-X. met pomocí softwaru Clarity DataApex.

U látek absorbujících při vlnových délkách 230 nm je detekčním limitem množství cca 0,1 ppm. Látky v množství 100-1000 ppm lze stanovovat s přesností měření +/- 5%.

### 3.6.2. Sledování charakteru biofilmu

Do odměrného válce o objemu 500 ml byly vloženy polymerní nosiče biomasy o průměru 25 mm a výšce 10 mm. Válec byl naplněn 250 ml odpadní vody z výroby DPG, kde jako zdroj uhlíku slouží zejména anilin a DPG. Odměrný válec byl napojen na vývěvu, která má funkci zdroje aerobního prostředí, nutného pro kultivaci bakterií rodu *Rhodococcus erythropolis* a také k udržení bionosičů ve vznosu.

Takto připravený odměrný válec byl umístěn v laboratoři při laboratorní teplotě 22°C a pH 7,5. Nosiče biomasy byli každé tři dni vyndány a přemístěny do odměrného válce s novým vzorkem odpadní vody.

Během následujících pěti týdnů byl pozorován nárůst biomasy na nosičích a každý týden pořízen fotografický záznam změn, které probíhaly.

#### Pomůcky

- Odměrný válec, 500 ml
- Vývěva
- Polymerní bionosiče (AnoxKaldnes, Švédsko)

#### Přístroje

- Fotoaparát Canon PowerShot SX1 IS

### 3.6.3. Sledování aktivity bakteriální kultury

Aktivita bakterií rodu *Rhodococcus* byla sledována na základě kvantitativní metody, zjištění nárůstu počtu buněk *Rhodococcus erythropolis* a porovnáním s hodnotou  $CHSK_{Cr}$ . Na růst bakterií mají vliv faktory přírodní (teplota, pH, množství kyslíku) a faktory nutriční.

## Pomůcky

- Bürkerova počítací komůrka (Opting servis, ČR)
- Pipeta dělená, 10 ml
- Kádinka
- Míchací tyčinka
- Odměrná baňka, 100 ml
- Vzorek OV s bakteriální kulturou *Rhodococcus erythropolis*
- Roztok methylenové modři
- Krycí sklíčko
- Světelný mikroskop Nikon Eclipse E200 (Nikon, ČR )

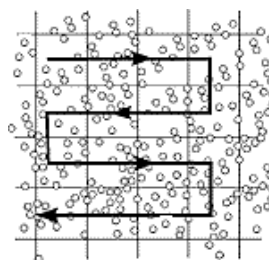
K určení počtu bakterií se využívá tzv. **počítací komůrka** a **mikroskop**.

## Postup

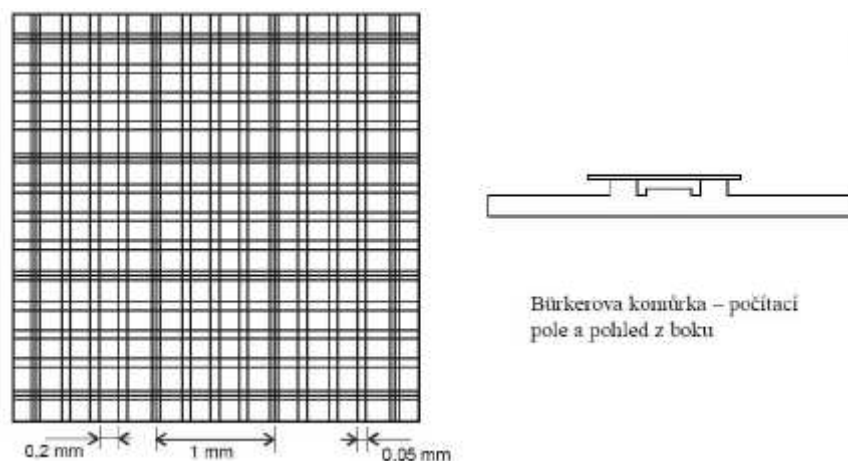
### Příprava barvené bakteriální suspenze

Polyethylenová vzorkovací láhev se vzorkem odpadní vody se důkladně promíchá. Do odměrné baňky o objemu 100 ml byla pipetou odměřena suspenze OV (obvykle 1-10 ml, v závislosti na koncentraci bakterií). Následně byla odměrná baňka doplněna po rysku pitnou vodou (ne destilovanou!). Roztok se řádně promíchá. Část naředěného vzorku (cca 50 ml) byla nalita do kádinky, a k tomuto objemu byla přidána 1 kapka indikátoru methylenové modři. Tento indikátor slouží pro zvýraznění bakterií a tedy pro jejich lepší počítání. Vzorek byl promíchán míchací tyčinkou. Na podložní sklo počítací komůrky bylo nanášeno několik kapek naředěné obarvené suspenze. Podložní sklo bylo překryto krycím sklem opatrně, aby nevznikly vzduchové bubliny, a upevněno do úchytů mikroskopu.

Obr. 21: Postup vybírání čtverců ([www.imunologie.lf2.cuni.cz](http://www.imunologie.lf2.cuni.cz))





Obr. 22: Bürkerova počítací komůrka ([www.imunologie.lf2.cuni.cz](http://www.imunologie.lf2.cuni.cz))

Bürkerova počítací komůrka připomíná podložní sklíčko, které má uprostřed nižší, vybroušené pole. Po překrytí tvoří pole komůrku o známé hloubce. Na dně komůrky je čtvercová síť, která ho rozděluje na malé čtverce a obdélníky o známých stranách. Po stranách pole jsou kanálky, kam odtéká přebytečné množství suspenze. Počítací prostor Bürkerovy komůrky je rozdělen trojitými vrypky na devět velkých čtvercových polí, každé z těchto polí je dále členěno dvojitými vrypky na šestnáct menších čtverců. Nejmenší čtverce (v každém z 9 velkých polí 9) jsou tvořeny průsečíky dvojitých vrypů.

Komůrka má plošky o obsahu  $1/64 \text{ mm}^2$  (velký čtvereček) a  $1/400 \text{ mm}^2$  (malý čtvereček) a hloubku prostoru mezi sklíčky  $0,1 \text{ mm}^2$  (objemy  $1/640 \text{ mm}^3$  nebo  $1/4000 \text{ mm}^3$ ).

Suspenze OV byla vždy vhodně zředěna destilovanou vodou. Komůrka naplněná suspenzí byla ponechána ve vodorovně poloze cca 5 minut, aby se buňky usadily na dně.

Do mikroskopu s upevněnou počítací komůrkou se vzorkem. Objektiv mikroskopu zvětšující v poměru 40:1 nebo 45:1 byl zaostřen a v zorném poli se počítají buňky bakterií pouze ve větších čtvercích. Posunem podložního skla komůrky na manipulačním podstavci mikroskopu se posouvá zorné pole mezi jednotlivými čtverci. Spočítá se počet bakterií v 5-ti čtvercích, shluky bakterií se nepočítají.

**Vyhodnocení**

Bylo vypočítáno průměrné množství buněk v pěti čtvercích. Počet buněk se dělí objemem kapaliny nad jedním čtvercem. Objem kapaliny nad jedním čtvercem vypočítáme z plochy čtverce a distancí mezi podložním a krycím sklem. Vždy je třeba se řídit rozměry čtverců uvedených pro danou počítací komůrku. Výsledek počtu buněk byl násoben příslušným provedeným zředěním. Výsledná suma vyjadřuje počet buněk v 1 ml suspense.

**Zjednodušeně**

Vypočítá se průměrné množství buněk v pěti čtvercích, ten je násoben provedeným ředěním a konstantou charakteristickou pro dané sklíčko.

**Průměrné množství buněk v pěti čtvercích x ředění 640 000 = počet bakterií v 1 ml**

**Výpočet konstanty**

Použitá počítací komůrka: hloubka = 0,1 mm;

$$\text{plocha počítaného čtverce} = 1/64 \text{ mm}^2$$

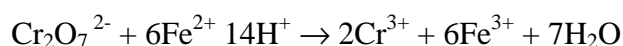
Objem jednoho čtverce:  $0,1 \times 1/64 = 0,0015625 \text{ mm}^3$

$$1/0,0015625 = 640 \text{ mm}^{-3} = 640 \text{ 000 cm}^{-3}$$

Metoda je použitelná při teplotách 18 až 30°C.

**3.6.3.1. Stanovení CHSK<sub>Cr</sub>****Princip**

Principem této metody je stanovní množství kyslíku v mg.l<sup>-1</sup>, které bylo spotřebováno na oxidaci látek ve vodě silným oxidačním činidlem. Dichroman draselný oxiduje za varu v prostředí kyseliny sírové většinu organických látek přítomných ve vodě. Nespotebovaný dichroman se stanoví zpětnou titrací odměrným roztokem síranu amonno-železnatého na indikátor ferroin.

**Přístrojové vybavení**

- Elektrické topné hnízdo LTHS (Brněnská Drutěva, ČR)

### Chemikálie

- Dichroman draselný ( $K_2Cr_2O_7$ ,  $c=0,04 \text{ mol.l}^{-1}$ ) (Penta, ČR)
- Roztok kyseliny sírové a síranu stříbrného ( $H_2SO_4+Ag_2SO_4$ ) (Lachema, ČR)
- Síran amonno-železnatý ( $[Fe(NH_4)_2]_2SO_4$ ,  $c=0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ ) (Lachema, ČR)
- Destilovaná voda (LZD a.s., ČR)
- Ferroin (indikátor) (Penta, ČR)

### Postup

Do destilační baňky bylo odpipetováno vždy 10 ml přefiltrovaného vzorku odpadní vody, přidáno 5 ml dichromanu draselného a 15 ml roztoku stříbrných iontů v kyselině sírové. Do každé baňky byla přidána varná kulička. Baňka byla vsazena do topného hnízda a na ní nasazen zpětný chladič. Směs se vařila 2 hodiny. Poté byl chladič propláchnut destilovanou vodou. Po vychladnutí směsi bylo přidáno 30 ml destilované vody. Roztok byl chlazen cca na  $20^\circ\text{C}$ .

Poté byly přidány 2 kapky indikátoru ferroin a titrováno roztokem síranu amonno-železnatého. Došlo k viditelnému přechodu z barvy zelené do hnědé.

## 3.7. Metody analýzy a zpracování dat

Při zpracování a vyhodnocení dat této diplomové práce byly použity programy:

- Microsoft Office Word 2003
- Microsoft Office Excel 2003
- Clarity DataApex v.2.6.6.
- Grafický editor GIMP

## 4. Výsledky a diskuse

Zjištěné koncentrace jednotlivých známých a neznámých látek za sledované období, včetně jejich průměrů a základních statistických parametrů jsou uvedeny v následujících tabulkách č.15 až 18. Dále jsou znázorněny graficky, grafy č. 1 až 4. Výsledné hodnoty zaznamenané v tabulkách č. 15 až 18 jsou zaokrouhleny na dvě desetinná místa z důvodu, že se jedná o přesnou analytickou metodu a tímto způsobem jsou výsledky vedeny i v záznamech LZD a.s., Kolín. Pouze procentuální výsledky v tabulce č. 18, odpovídající hodnotě 100 byly zaokrouhleny na celá čísla.

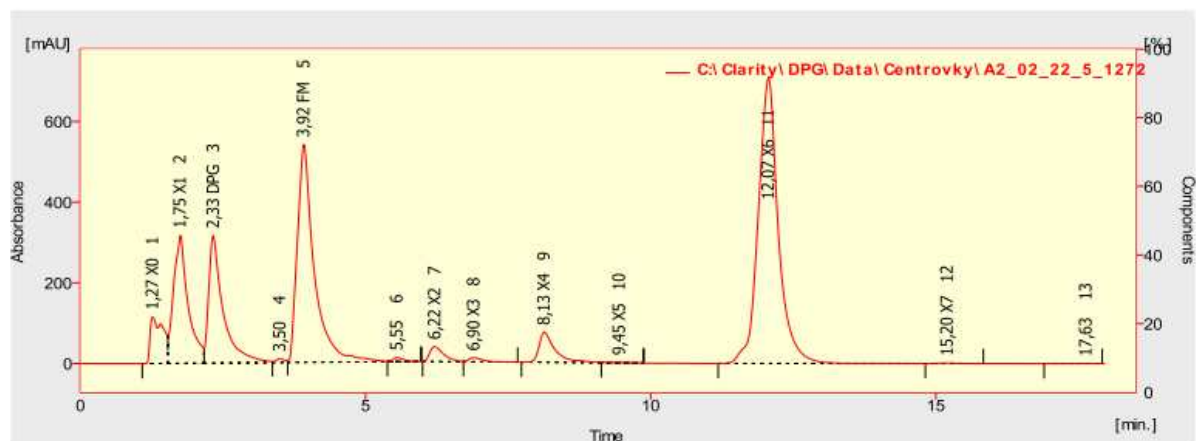
### 4.1. Odbouratelnost DPG a anilinu

Pro posouzení odbouratelnosti DPG a anilinu byla zvolena metoda HPLC. V následujících tabulkách č. 15 až 18 jsou zaznamenána jednotlivá množství anilinu, DPG, fenylmočoviny a neznámých látek pojmenovaných pracovními zkratkami X1, X2, X3 a X4. Množství těchto látek jsou uváděna v jednotkách ppm. V tabulkách jsou dále uváděny základní statistické parametry- aritmetický průměr (průměr), maximální a minimální hodnota (max, min) a směrodatná odchylka (sm. odchylka).

Grafickým záznamem jednotlivých hodnot, které byly na HPLC detekovány je chromatogram. Chromatogram je tvořen soustavou píků, které mají různou výšku, šířku a mají od sebe různou vzdálenost. Každý pík odpovídá jedné složce analyzované směsi. Vodorovná osa znázorňuje čas. Čas, který odpovídá vrcholu píku je tzv. retenční čas, který je na dané koloně a za daných experimentálních podmínek pro každou látku charakteristický.

**Poloha píku** na ose X uváděná pomocí retenčního času určuje o jakou látku se jedná, **plocha píku** určuje koncentraci látky ve směsi.

Obr. 23: Vzorový chromatogram



Tabulka 14: Výsledky k vzorovému chromatogramu

Result Table (ESTD - C:\Clarity\DPG\Data\Centrovky\A2\_02\_22\_5\_1272)

	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Amount [mg]	Compound Name
1	1,267	1785,844	115,171	4,08	35,502	X0
2	1,750	5648,595	317,122	12,91	113,058	X1
3	2,333	5555,068	315,881	12,70	166,368	DPG
5	3,917	11124,222	540,324	25,43	459,256	FM
7	6,217	626,912	37,006	1,43	12,658	X2
8	6,900	165,679	9,862	0,38	3,317	X3
9	8,133	1465,870	74,560	3,35	29,811	X4
10	9,450	23,181	1,089	0,05	0,465	X5
11	12,067	17323,209	708,464	39,60	346,448	X6
12	15,200	27,157	1,148	0,06	0,546	X7
	Total	43745,738	2120,627	100,00	1,000	

**Pík č.1** patří látce X0. Touto látkou je anilin v podobě soli a směs dalších neidentifikovaných polárních látek, které mají na koloně velmi malou odezvu.

**Pík č.2** byl označen jako neznámá polární látka X1.

**Pík č.3** odpovídá DPG.

**Pík č.5** je fenylmočovina, chemická látka, která je známým vedlejším produktem odbourávání DPG.

**Píky č.7 až 12** jsou přiřazeny neznámým, více či méně, polárním látkám X2 až X7.

Z **tabulky č.15** je patrné, že množství anilinu v odpadních vodách, které vstupují do bioreaktoru z výroby DPG, dosahovalo v měřeném období od 1.3.2009 do 30.6.2009 průměrných hodnot 131,31 ppm. Maximální zjištěné množství anilinu (199,92 ppm) odpovídá dni 1.3.2009. Minimální hodnota (85,03 ppm) pak dni 13.3.2009.

Průměrné množství látky DPG odpovídá hodnotě 48,38 ppm, s maximem (74,10 ppm) naměřeném dne 1.3.2009 a minimem (23,70 ppm) naměřeném dne 13.3.2009.

V tabulce jsou dále uvedeny hodnoty množství fenylmočoviny, jejíž průměrná hodnota zjištěná během testovací doby odpovídá 221,58 ppm, s maximem (360,44 ppm) naměřeným dne 1.3.2009 a minimem (130,84 ppm), ze dne 1.5.2009.

Dalším údajem v tabulce, jsou v současné době neznámé látky X1-X4.

Neznámá látka X1 byla v období od 1.3.2009 do 30.6.2009 zastoupená v OV z výroby DPG v průměrném množství 39,86 ppm. Maximum (58,11 ppm) bylo naměřeno dne 22.3.2009 a minimum (12,06 ppm) dne 1.3.2009.

V současné době neznámá látka X2 se v OV vyskytovala v průměrném množství 15,03 ppm, s maximální hodnotou (35,70 ppm) zjištěnou dne 7.3.2009 a minimální hodnotou (6,49 ppm) naměřenou 9.6.2009.

Průměrné množství látky X3, které bylo zjištěno v OV, odpovídá hodnotě 42,49 ppm. Maximální množství (67,33 ppm) bylo zjištěno dne 15.4.2009 a minimální množství této látky (21,03 ppm) bylo změřeno 28.3.2009.

Posledním údajem v tabulce je neznámá látka X4, jejíž průměrné množství dosahuje hodnoty 4,26 ppm, maximum (6,80 ppm) dosažené dne 12.6.2009 a minimum (2,12 ppm), jehož hodnota se vztahuje ke dni 25.5.2009.

Tabulka 15: Hodnoty naměřené na vstupu do bioreaktoru

vstup	anilín [ppm]	DPG [ppm]	fenylmočovina [ppm]	X1 [ppm]	X2 [ppm]	X3 [ppm]	X4 [ppm]
1.3.2009	199,92	74,10	360,44	12,06	12,84	24,66	6,47
4.3.2009	155,08	41,59	296,04	46,22	24,47	37,88	4,12
7.3.2009	116,22	43,53	188,09	52,82	35,70	64,75	5,27
10.3.2009	111,59	53,14	172,86	53,55	11,83	25,53	4,05
13.3.2009	85,03	23,70	175,35	45,79	12,62	40,22	2,44
16.3.2009	120,57	34,20	176,87	51,64	12,67	43,02	4,45
19.3.2009	113,08	37,80	152,78	56,37	7,81	44,68	3,42
22.3.2009	122,76	24,88	234,95	58,11	7,52	50,84	2,34
25.3.2009	98,11	73,12	189,05	34,78	12,16	33,06	4,86
28.3.2009	100,56	32,90	301,33	45,56	10,78	21,03	4,12
31.3.2009	154,76	44,87	167,04	44,09	8,56	51,21	6,16
3.4.2009	111,05	64,47	177,84	23,71	12,08	53,67	4,22
6.4.2009	89,13	55,07	249,17	43,07	24,92	29,00	3,90
9.4.2009	129,03	52,86	213,66	53,82	13,45	45,34	5,05
12.4.2009	164,21	69,06	191,83	42,17	11,84	48,05	6,72
15.4.2009	96,94	41,85	305,12	55,06	7,06	67,33	4,67
18.4.2009	134,90	57,73	340,56	34,23	7,84	34,91	4,04
21.4.2009	169,55	48,71	274,06	52,40	11,07	65,22	3,21
24.4.2009	91,19	71,22	242,15	15,44	23,18	45,56	3,94
27.4.2009	148,52	60,07	187,88	23,05	31,33	44,05	2,88
1.5.2009	184,75	59,66	130,84	55,89	6,55	32,18	5,56
4.5.2009	102,39	28,60	156,90	27,16	7,89	42,78	5,06
7.5.2009	156,88	43,73	311,77	41,50	15,62	45,65	3,56
10.5.2009	189,07	31,18	290,45	50,62	11,03	27,50	4,67
13.5.2009	111,65	53,06	181,45	26,12	7,93	30,77	2,91
16.5.2009	99,42	42,62	256,23	38,44	12,51	42,81	3,45
19.5.2009	122,83	73,12	188,34	46,63	32,00	57,92	6,60
22.5.2009	180,45	68,54	312,79	20,56	15,72	45,88	5,77
25.5.2009	157,03	39,15	202,81	20,31	15,08	29,67	2,12
28.5.2009	178,92	39,22	160,50	48,32	13,40	31,21	2,95
31.5.2009	89,58	25,58	145,78	17,04	7,93	43,97	5,49
3.6.2009	97,40	60,85	227,29	51,56	20,67	55,07	3,34
6.6.2009	123,92	33,19	345,69	55,05	18,66	26,76	3,61
9.6.2009	103,22	71,05	283,49	43,12	6,49	66,05	4,12
12.6.2009	184,13	67,52	153,06	30,74	16,89	50,70	6,80
15.6.2009	190,58	44,93	155,78	35,66	12,79	53,95	5,14
18.6.2009	100,17	52,79	201,34	28,30	19,45	47,81	5,76
21.6.2009	149,56	27,33	228,18	45,47	12,45	36,14	3,18
24.6.2009	91,66	30,17	190,05	34,11	31,02	46,05	2,77
27.6.2009	120,82	51,42	151,08	29,05	22,06	25,12	2,50
30.6.2009	137,06	34,87	213,87	44,72	10,55	34,22	3,05
průměr	131,31	48,38	221,58	39,86	15,03	42,49	4,26
min	85,03	23,70	130,84	12,06	6,49	21,03	2,12
max	199,92	74,10	360,44	58,11	35,70	67,33	6,80
sm.odchylka	35,23	15,82	65,84	13,50	8,09	12,84	1,35

**Tabulka č.16** zahrnuje hodnoty naměřené v odpadních vodách vystupujících z bioreaktoru, tedy po biologickém přečištění a degradaci bakteriemi rodu *Rhodococcus erythropolis*.

Průměrné množství anilinu, který je v těchto OV obsažen odpovídá hodnotě 3,62 ppm, s maximem (24,50 ppm) vztahujícím se ke dni 4.3.2009 a minimem (0,76 ppm) naměřeným dne 18.4.2009.

Průměrná hodnota množství DPG dosahuje 0,64 ppm, s maximem (4,98 ppm) naměřeným ke dni 4.3.2009 a minimem (0,10 ppm) naměřeným dne 27.6.2009.

Fenylmočovina se ve vodách vystupujících z reaktoru vyskytovala v průměrném naměřeném množství 0,38 ppm, maximem (1,69 ppm) změřeným dne 19.5.2009 a minimem (0 ppm), které bylo stanoveno v průběhu více dní.

Neznámá látka X1 byla v těchto OV obsažena v průměrném množství 18,35 ppm. Jejího maxima (28,27 ppm) bylo dosaženo dne 27.6.2009 a minima (7,04 ppm) dne 1.3.2009.

Látka X2 byla stanovena v OV v průměrném množství 8,04 ppm. Maximální hodnoty (12,86 ppm) dosáhla dne 18.6.2009 a minimum (4,18 ppm) bylo zjištěno dne 31.5.2009.

Průměrné množství neznámé látky X3 odpovídá hodnotě 8,94 ppm. Maximální množství (13,95 ppm) bylo naměřeno dne 10.3.2009, a minimum látky X3 (5,05 ppm) dne 22.5.2009.

Neznámá látka X4 byla stanovena v OV v průměrném množství 0,03 ppm. Maximum látky X4 (0,09 ppm) bylo naměřeno dne 31.3.2009 a minimum (0 ppm) opětovně ve dnech 4.3., 19.3., 22.3., 28.3., 12.4., 15.4., 18.4., 27.4., 10.5., 13.5., 22.5., 9.6., 12.6. a 30.6.2009.



Tabulka 16: Hodnoty naměřené na výstupu z bioreaktoru

výstup	anilín [ppm]	DPG [ppm]	fenyločovina [ppm]	X1 [ppm]	X2 [ppm]	X3 [ppm]	X4 [ppm]
1.3.2009	1,03	0,24	0,20	7,04	10,56	12,11	0,02
4.3.2009	24,50	4,98	0	23,71	6,64	6,2	0
7.3.2009	1,28	0,31	0,66	19,56	8,92	11,66	0,04
10.3.2009	2,62	0,13	0	22,85	9,17	13,95	0,06
13.3.2009	2,18	0,14	0	27,05	12,22	9,82	0,05
16.3.2009	0,84	0,11	0,68	22,41	10,28	8,63	0,04
19.3.2009	2,47	0,20	1,28	20,16	6,17	11,66	0
22.3.2009	2,78	2,04	0,55	24,24	7,24	5,87	0
25.3.2009	0,83	0,17	0,45	12,07	7,19	7,55	0,05
28.3.2009	12,42	0,52	0,05	21,06	8,04	9,14	0
31.3.2009	7,06	0,17	0,34	18,56	8,12	6,45	0,09
3.4.2009	0,95	0,87	0	10,45	6,90	12,89	0,05
6.4.2009	1,49	0,45	0	22,07	7,12	13,44	0,04
9.4.2009	1,09	0,65	0,67	20,56	8,84	7,51	0,02
12.4.2009	5,12	0,32	0,82	23,06	5,04	6,93	0
15.4.2009	4,78	0,24	0,24	12,45	6,35	12,04	0
18.4.2009	0,76	0,56	0,35	20,43	7,16	11,67	0
21.4.2009	14,05	0,31	0,74	19,05	6,51	5,80	0,06
24.4.2009	2,28	0,89	0	13,56	7,83	5,67	0,01
27.4.2009	4,19	0,55	1,06	21,66	5,14	7,21	0
1.5.2009	0,94	0,83	0,55	18,01	6,21	5,45	0,04
4.5.2009	0,99	1,09	0,12	15,53	7,75	13,67	0,04
7.5.2009	1,16	1,12	0	20,65	6,58	11,06	0,02
10.5.2009	2,67	0,94	0,43	12,49	9,01	6,48	0
13.5.2009	6,05	0,16	0,23	22,64	5,05	5,44	0
16.5.2009	0,85	0,11	0,95	23,06	7,76	10,57	0,07
19.5.2009	1,23	0,39	1,69	10,05	12,49	11,70	0,03
22.5.2009	1,48	0,54	0,34	12,43	10,67	5,05	0
25.5.2009	1,62	0,72	0,32	18,90	11,45	7,49	0,04
28.5.2009	2,13	0,13	0	23,13	8,22	8,17	0,05
31.5.2009	0,97	0,13	0,15	12,54	4,18	5,70	0,01
3.6.2009	0,99	0,46	0,52	13,04	6,18	12,06	0,06
6.6.2009	8,32	0,99	0,65	19,67	9,21	13,66	0,06
9.6.2009	2,07	0,74	0,44	22,00	6,39	9,34	0
12.6.2009	3,01	0,30	0,23	16,54	7,80	5,71	0
15.6.2009	0,88	0,34	0	17,78	7,56	7,19	0,05
18.6.2009	1,84	0,61	0	24,13	12,86	6,34	0,07
21.6.2009	12,70	1,61	0,48	12,02	10,33	8,12	0,04
24.6.2009	2,91	0,77	0,04	12,65	7,16	10,44	0,05
27.6.2009	0,95	0,10	0,07	28,27	8,21	9,54	0,02
30.6.2009	1,83	0,22	0,17	14,97	9,02	7,33	0
průměr	3,62	0,64	0,38	18,35	8,04	8,94	0,03
min	0,76	0,10	0	7,04	4,18	5,05	0
max	24,50	4,98	1,69	28,27	12,86	13,95	0,09
sm.odchylka	5,56	1,03	0,43	5,44	2,20	2,86	0,03

**Tabulka č.17** obsahuje hodnoty odpovídající rozdílům, tedy úbytku jednotlivých zkoumaných látek mezi vstupem OV do bioreaktoru a přečištěnou vodou, tedy OV z bioreaktoru vytékající. Rozdíl v množství těchto látek je opět uveden v jednotkách ppm.

Průměrná hodnota úbytku anilinu odpovídá hodnotě 127,69 ppm s maximálním úbytkem (198,89 ppm) naměřenému dne 1.3.2009 a minimálním úbytkem (82,85 ppm) změřeném dne 13.3..2009.

DPG se podařilo odbourat v průměru o 47,74 ppm, maximální hodnotou (73,76 ppm) naměřenou dne 1.3.2009 a minimální hodnotou (22,84 ppm) zjištěnou dne 22.3.2009.

Průměrná hodnota úbytku fenylnmočoviny odpovídá hodnotě 221,20 ppm, maximum (360,23 ppm) naměřené dne 1.3.2009 a minimum (130,29 ppm), které bylo změřeno dne 1.5.2009.

V současné době neznámá látka X1 se v OV vyskytovala v průměrném množství 21,51 ppm. Maximální odbourané množství (42,61 ppm) odpovídá dni 15.4.2009 a minimální množství (0,78 ppm) bylo stanoveno dne 27.6.2009.

Průměrné množství látky X2 odpovídá hodnotě 7,00 ppm, maximum (26,78 ppm) bylo naměřeno dne 7.3.2009 a minimální hodnota úbytku (0,10 ppm) byla změřena dne 9.6.2009.

Neznámá látka X3 byla v průměru v OV obsažena v množství 33,55 ppm. Maximální množství (59,42 ppm), které bylo v průběhu biologického čištění odbouráno, odpovídá dni 21.4.2009 a minimální odbourané množství (11,58 ppm) bylo zjištěno dne 10.3.2009.

Neznámá látka X4 dosahovala průměrného množství 4,23 ppm. Maximální hodnota úbytku (6,80 ppm) této látky byla zjištěna dne 12.6.2009, naopak minimální hodnota úbytku (2,08 ppm) dne 25.5.2009.

Tabulka 17: Hodnoty odpovídající rozdílu hodnot v tabulce č. 15 a tabulce č. 16

úbytek	anilín [ppm]	DPG [ppm]	fenylmočovina [ppm]	X1 [ppm]	X2 [ppm]	X3 [ppm]	X4 [ppm]
1.3.2009	198,89	73,86	360,23	5,02	2,28	12,55	6,45
4.3.2009	130,59	36,61	296,04	22,51	17,83	31,68	4,12
7.3.2009	114,94	43,22	187,43	33,26	26,78	53,09	5,23
10.3.2009	108,97	53,01	172,86	30,70	2,66	11,58	3,99
13.3.2009	82,85	23,56	175,35	18,74	0,40	30,40	2,39
16.3.2009	119,73	34,08	176,20	29,23	2,39	34,39	4,42
19.3.2009	110,61	37,60	151,51	36,21	1,64	33,02	3,42
22.3.2009	119,98	22,84	234,40	33,87	0,28	44,97	2,34
25.3.2009	97,28	72,95	188,60	22,71	4,97	25,51	4,81
28.3.2009	88,14	32,38	301,28	24,50	2,74	11,89	4,12
31.3.2009	147,70	44,70	166,70	25,53	0,44	44,76	6,07
3.4.2009	110,10	63,60	177,84	13,26	5,18	40,78	4,17
6.4.2009	87,64	54,62	249,17	21,00	17,80	15,56	3,86
9.4.2009	127,94	52,21	212,99	33,26	4,61	37,83	5,03
12.4.2009	159,09	68,74	191,01	19,11	6,80	41,12	6,72
15.4.2009	92,16	41,61	304,88	42,61	0,71	55,29	4,67
18.4.2009	134,14	57,17	340,21	13,80	0,68	23,24	4,04
21.4.2009	155,50	48,40	273,32	33,35	4,56	59,42	3,15
24.4.2009	88,91	70,33	242,15	1,88	15,35	39,89	3,93
27.4.2009	144,33	59,52	186,82	1,39	26,19	36,84	2,88
1.5.2009	183,81	58,83	130,29	37,88	0,34	26,73	5,52
4.5.2009	101,40	27,51	156,78	11,63	0,14	29,11	5,02
7.5.2009	155,72	42,61	311,77	20,85	9,04	34,59	3,54
10.5.2009	186,40	30,24	290,02	38,13	2,02	21,02	4,67
13.5.2009	105,60	52,90	181,22	3,48	2,88	25,33	2,91
16.5.2009	98,57	42,51	255,28	15,38	4,75	32,24	3,38
19.5.2009	121,60	72,73	186,65	36,58	19,51	46,22	6,57
22.5.2009	178,97	68,00	312,45	8,13	5,05	40,83	5,77
25.5.2009	155,41	38,43	202,49	1,41	3,63	22,18	2,08
28.5.2009	176,79	39,09	160,50	25,19	5,18	23,04	2,90
31.5.2009	88,61	25,45	145,63	4,50	3,75	38,27	5,48
3.6.2009	96,41	60,39	226,77	38,52	14,49	43,01	3,28
6.6.2009	115,60	32,20	345,04	35,38	9,45	13,10	3,55
9.6.2009	101,15	70,31	283,05	21,12	0,10	56,71	4,12
12.6.2009	181,12	67,22	152,83	14,20	9,09	44,99	6,80
15.6.2009	189,70	44,59	155,78	17,88	5,23	46,76	5,09
18.6.2009	98,33	52,18	201,34	4,17	6,59	41,47	5,69
21.6.2009	136,86	25,72	227,70	33,45	2,12	28,02	3,14
24.6.2009	88,75	29,40	190,01	21,46	23,86	35,61	2,72
27.6.2009	119,87	51,32	151,01	0,78	13,85	15,58	2,48
30.6.2009	135,23	34,65	213,70	29,75	1,53	26,89	3,05
průměr	127,69	47,74	221,20	21,51	7,00	33,55	4,23
min	82,85	22,84	130,29	0,78	0,10	11,58	2,08
max	198,89	73,86	360,23	42,61	26,78	59,42	6,80
sm.odchylka	34,98	16,00	65,88	12,84	7,88	13,29	1,35

**Tabulka č.18** zahrnuje procentuální účinnost biodegradace jednotlivých látek obsažených v odpadních vodách z výroby DPG, naměřenou v období od 1.3.2009 do 30.6.2009.

Průměrná účinnost odbourávání anilinu odpovídá 97,2%, minimální biodegradace (84,2%) bylo dosaženo dne 4.3.2009 a naopak maximální biodegradace (99,5%) odpovídá dni 15.6.2009.

DPG bylo odbouráno v průměru s účinností 98,0%. Maximální degradace (99,8 %) bylo dosaženo ve dnech 25.3. a 27.6.2009. Minimálního procentuálního úbytku (85,5%) bylo dosaženo dne 10.3.2009.

Průměrná účinnost odbourávání fenylnmočoviny v testovaném období dosahovala hodnoty 99,8%. Maximum účinnosti (100%) bylo dosaženo ve dnech 4.3., 10.3., 13.3., 28.3., 3.4., 6.4., 24.4., 7.5., 28.5., 15.6., 18.6., 24.6. a 27.6.2009. Naopak minimální účinnosti (99,1%) bylo změřeno dne 19.5.2009.

Neznámá látka X1 byla odbourávána s průměrnou účinností 47,8%. Maximální biodegradace (78,4%) bylo dosaženo dne 19.5.2009 a minimální úbytek (2,7%) byl naměřen dne 27.6.2009.

Průměrná procentuální účinnost degradace látky X2 byla odpovídá hodnotě 37,2%, maxima (84,4%) bylo dosaženo dne 7.5.2009 a minima (1,5%) dne 9.6.2009.

Látka X3 dosáhla průměrné účinnosti odbourávání 76,7%. Maximální hodnota biodegradace (91,1%) byla zaznamenána ke dni 21.4.2009, naopak minimální hodnota (45,4%) účinnosti biodegradace látky X3 odpovídá dni 10.3.2009.

Poslední stanovovanou látkou byla neznámá látka X4, jejíž průměrná účinnost biodegradace v OV dosáhla hodnoty 99,3%. Maxima (100%) bylo dosaženo ve dnech 4.3., 19.3., 22.3., 28.3., 12.4., 15.4., 18.4., 27.4., 10.5., 13.5., 22.5., 9.6., 12.6. a 30.6.2009. Minimální účinnost (98%) odbourávání látky X4 byla pak stanovena ve dnech 13.3.2009 a 16.5.2009.

Tabulka 18: Účinnost biologického čištění OV z výroby DPG přepočítaná na procenta

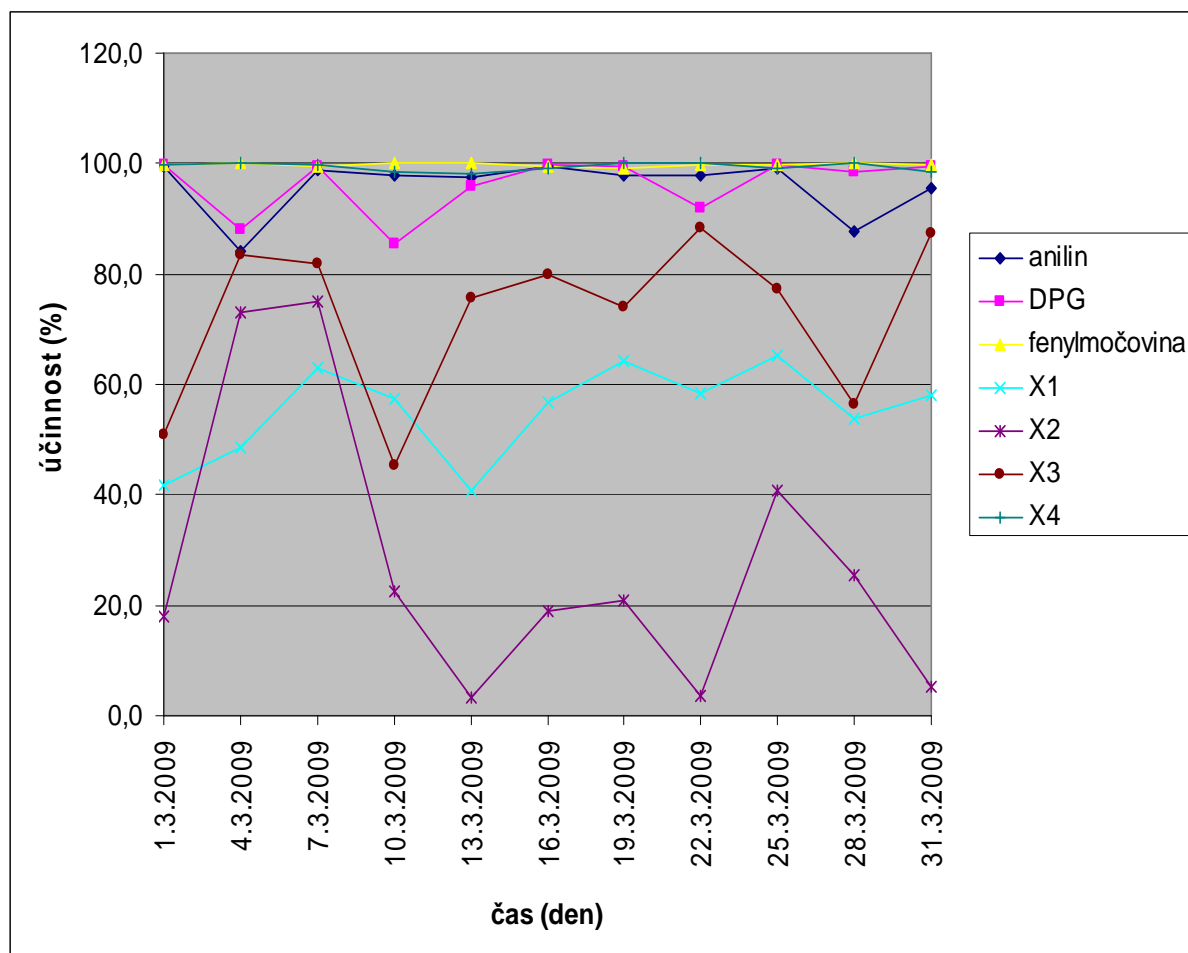
datum	anilín %	DPG %	fenylmočovina %	X1 %	X2 %	X3 %	X4 %
1.3.2009	99,5	99,7	99,9	41,6	17,8	50,9	99,7
4.3.2009	84,2	88,0	100	48,7	72,9	83,6	100
7.3.2009	98,9	99,3	99,6	63,0	75,0	82,0	99,8
10.3.2009	97,7	85,5	100	57,3	22,5	45,4	98,5
13.3.2009	97,4	95,8	100	40,9	3,4	75,6	98,0
16.3.2009	99,3	99,7	99,6	56,6	18,9	79,9	99,1
19.3.2009	97,8	99,5	99,2	64,2	21,0	73,9	100
22.3.2009	97,7	91,8	99,8	58,3	3,7	88,5	100
25.3.2009	99,2	99,8	99,8	65,3	40,9	77,2	99,0
28.3.2009	87,6	98,4	100	53,8	25,4	56,5	100
31.3.2009	95,4	99,6	99,8	57,9	5,1	87,4	98,5
3.4.2009	99,1	98,7	100	55,9	42,9	76,0	98,9
6.4.2009	98,3	99,2	100	48,8	71,4	53,7	99,0
9.4.2009	99,2	98,8	99,7	61,8	34,3	83,4	99,6
12.4.2009	96,9	99,5	99,6	45,3	57,4	85,6	100
15.4.2009	95,1	99,4	99,9	77,4	10,1	82,1	100
18.4.2009	99,4	99,0	99,9	40,3	8,7	66,6	100
21.4.2009	91,7	99,4	99,7	63,6	41,2	91,1	98,1
24.4.2009	97,5	98,8	100	12,2	66,2	87,6	99,7
27.4.2009	97,2	99,1	99,4	6,0	83,6	83,6	100
1.5.2009	99,5	98,6	99,6	67,8	5,2	83,1	99,3
4.5.2009	99,0	96,2	99,9	42,8	1,8	68,0	99,2
7.5.2009	99,3	97,4	100	50,2	84,4	75,8	99
10.5.2009	98,6	97,0	99,9	75,3	18,3	76,4	100
13.5.2009	94,6	99,7	99,9	13,3	36,3	82,3	100
16.5.2009	99,1	99,7	99,6	40,0	38,0	75,3	98,0
19.5.2009	99,0	99,5	99,1	78,4	61,0	79,8	99,5
22.5.2009	99,2	99,2	99,9	39,5	32,1	89,0	100
25.5.2009	99,0	98,2	99,8	6,9	24,1	74,7	98,1
28.5.2009	98,8	99,7	100	52,1	38,7	73,8	98,3
31.5.2009	98,9	99,5	99,9	26,4	42,3	87,0	99,8
3.6.2009	99,0	99,2	99,8	16,5	70,1	78,1	98,2
6.6.2009	93,3	97,0	99,8	64,3	50,6	49,0	98,3
9.6.2009	98,0	99,0	99,8	49,0	1,5	85,9	100
12.6.2009	98,4	99,6	99,8	46,2	53,8	88,7	100
15.6.2009	99,5	99,2	100	50,1	40,9	86,7	99,0
18.6.2009	98,2	98,8	100	14,7	33,9	86,7	98,9
21.6.2009	91,5	94,1	99,8	73,6	17,0	77,5	98,7
24.6.2009	96,8	97,5	100	62,9	76,9	77,3	98,2
27.6.2009	99,2	99,8	100	2,7	62,8	62,0	99,2
30.6.2009	98,7	99,4	99,9	66,5	14,5	78,6	100
průměr	97,2	98,0	99,8	47,8	37,2	76,7	99,3
min	84,2	85,5	99,1	2,7	1,5	45,4	98,0
max	99,5	99,8	100	78,4	84,4	91,1	100
sm.odchylka	3,8	3,5	0,2	21,5	25,8	12,4	0,7

Do **grafu č.1** byly zaneseny jednotlivé procentuální účinnosti odbourávání anilinu, DPG, fenylnmočoviny a látek X1 až X4, které jsou zaznamenány již v **tabulce č. 18**.

Z grafu je patrné, že v měsíci **březnu 2009** bylo dosahováno nejvyšší účinnosti v odbourávání látky X4 , dále anilinu, DPD a také fenylnmočoviny.

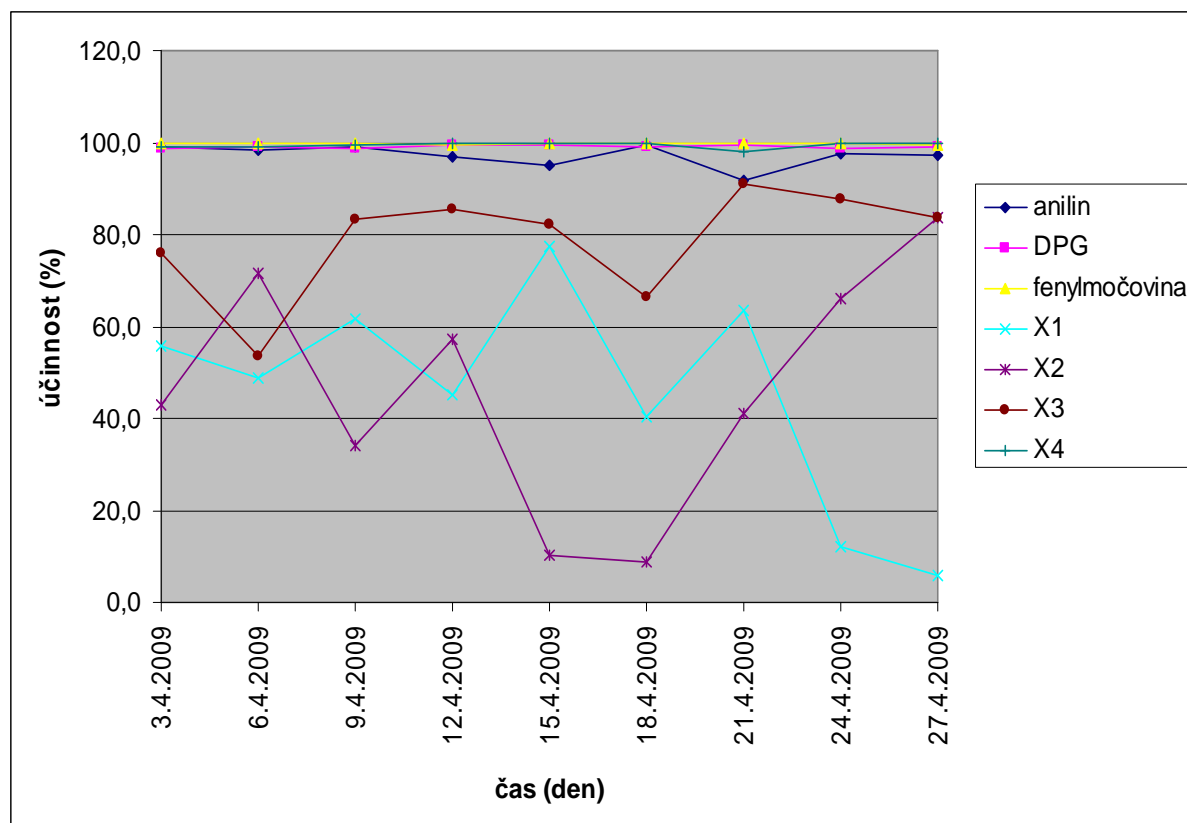
Účinnost biodegradace těchto látek mnohdy přímo dosahuje, nebo se blíží 100%.

*Graf č.1: Graf účinnosti odbourávání jednotlivých látek v procentech během měsíce března 2009*



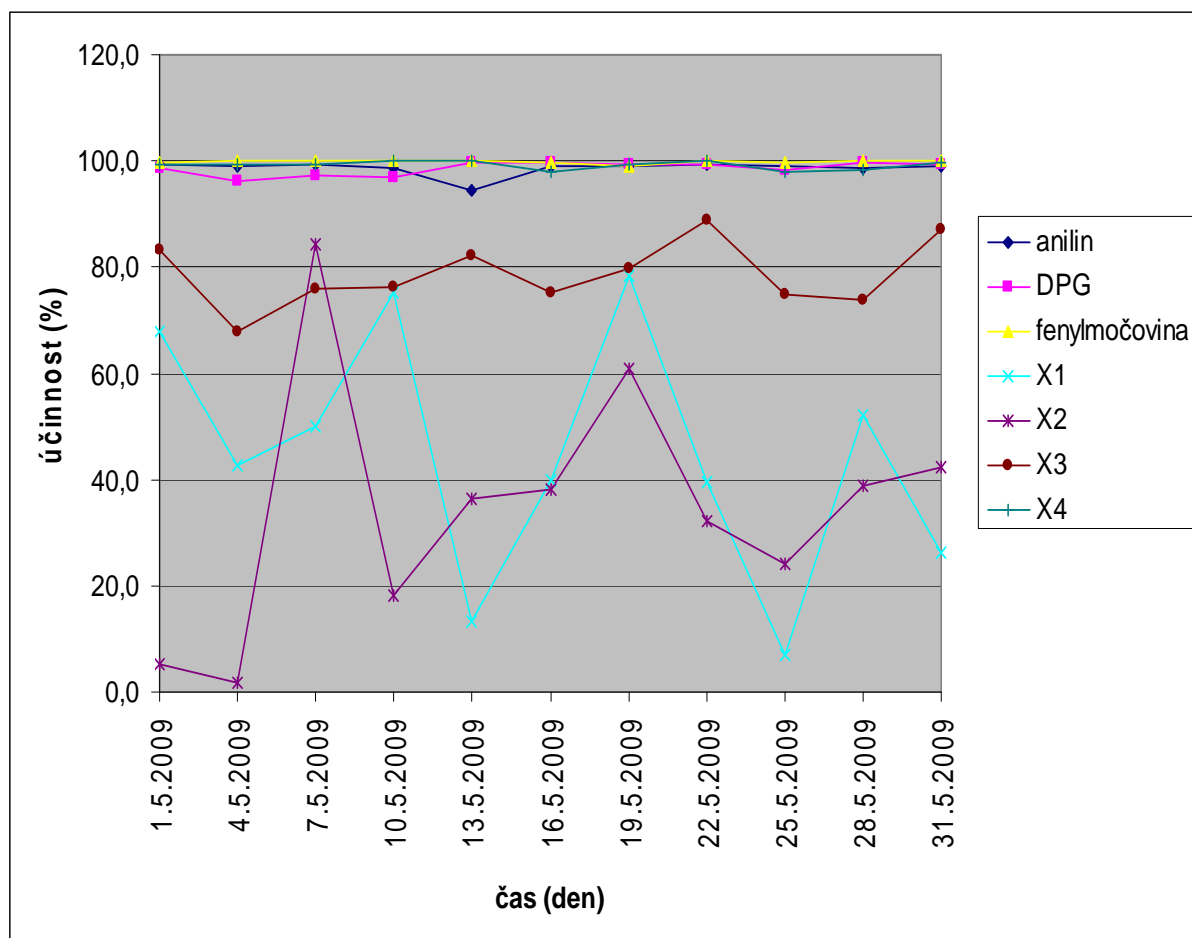
Do **grafu č.2** byly zaneseny procentuální účinnosti anilinu, DPG, fenylmočoviny a látek X1 až X4 vztahující se k měsíci **dubnu 2009**. Na grafu je viditelné, že maximální účinnosti v biodegradaci těchto látek bylo dosaženo zejména u látek- X4, anilin, DPG a fenylmočoviny, jejichž hodnoty se pohybují až kolem 100%.

*Graf č.2: Graf účinnosti odbourávání jednotlivých látek v procentech během měsíce dubna 2009*



V **grafu č.3** jsou graficky zpracovány hodnoty jednotlivých účinností odbourávání anilinu, DPG, fenylmočoviny a v současné době neznámých látek X1 až X4, které byly naměřeny v průběhu měsíce **května 2009**. Maximálních hodnot účinnosti bylo dosaženo u látek X4, fenylmočoviny, DPG a anilinu. Nejvyšších odchylek bylo dosahováno u látky X2 a X1.

*Graf č.3: Graf účinnosti odbourávání jednotlivých látek v procentech během měsíce května 2009*

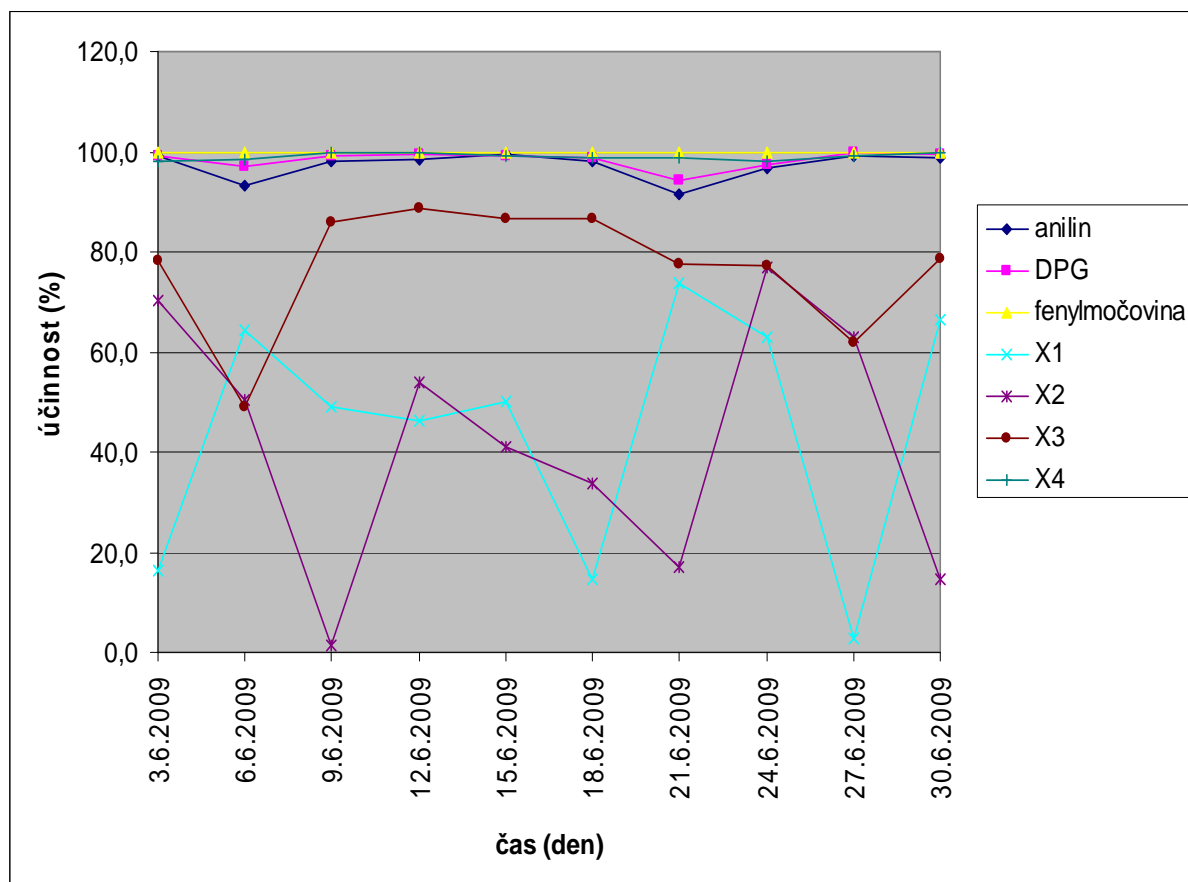




Do **grafu č.4** byly zaneseny procentuální hodnoty účinnosti biodegradace anilinu, DPG, fenylnmočoviny a látek X1 až X4, které byly naměřeny v průběhu měsíce **června 2009**.

Z grafu je patrné, že maximálních účinností a nejmenších výkyvů bylo dosahováno u látky X4, fenylnmočoviny, DPG a také anilinu. Naopak k největším odchylkám v zjištěné účinnosti biodegradace bylo dosaženo u látek X3, X1 a neznámé látky X2.

Graf č. 4: Graf účinnosti odbourávání jednotlivých látek v procentech během měsíce června 2009



**HPLC stanovení anilinu** není dostatečně spolehlivé, protože při nižším pH, při kterém se analýza provádí, se anilin vyskytuje ve formě příslušného fosforečnanu. Odezva anilinu je tedy na detektoru nízká a stejný retenční čas mohou mít i další soli a jiné polární látky. Anilin je proto současně stanovován fotometricky a také titračně. Obvyklý obsah anilinu v odpadních vodách je 100 až 300 ppm. Při HPLC stanovení je v místě píku patřícímu anilinu identifikováno dalších 100-300 ppm polárních látek absorbujících při 230 nm.

**Stanovení DPG** je dostatečně přesné. Obsah v OV je 110 až 160 ppm (malý rozptyl). Po biologickém odbourání klesne cca na 10% původní hodnoty.

**HPLC metoda stanovení DPG je unikátní pro LZD a.s., z tohoto důvodu není možné výsledky porovnat s jinými.**

## 4.2. Stanovení vedlejších produktů z výroby DPG

Výsledky stanovení vedlejších produktů jsou taktéž uvedeny v tabulkách č. 15 až 18 a graficky znázorněny v odpovídajících grafech č. 1 až 4. Mezi nejdůležitější produkty z výroby DPG patří fenylmočovina.

**Fenylmočovina** - obsah v OV je dost variabilní 300 až 800 ppm. Obsah bude pravděpodobně závislý na přítomnosti vody při syntéze DPG. Látka se jeví jako dobře odbouratelná, ale to nevylučuje toxicitu pro mikroorganismy.

Další významnou málo polární nečistotou je neznámá látka **X4** - obsah 400-500 ppm (poměrně malý rozptyl), stanovení je dostatečně správné, ale bez známého faktoru.

Neznámé látky **X1**, **X2** a **X3** jsou pravděpodobně obsaženy v nevýznamných množstvích, ale pokud nebudou látky identifikovány nelze jejich obsah správně odhadnout. Jedná se o látky více či méně polárního charakteru, která ve své struktuře obsahují benzenové jádro absorbující při vlnové délce 230 nm. Jednou z neznámých látek by pravděpodobně mohla být diphenylmočovina, látka která vzniká jako vedlejší produkt z fenylmočoviny. Obsah těchto neznámých látek je prozatím odhadován na základě průměrného faktoru, protože dosavad nejsou příslušné standardy k dispozici.

Identifikace na hmotnostním spektrometru (LC-MS) zatím nebyla provedena, neboť jím LZD a.s. nedisponuje.

### 4.3. Tvorba biofilmu na bionosičích

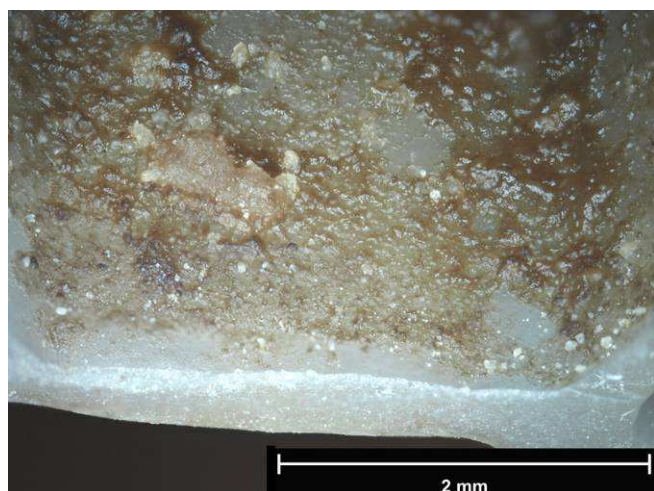
Systém složený z odměrného válce naplněného nosiči biomasy a odpadní vodou z výroby DPG byl za laboratorních podmínek provozován po dobu pěti týdnů. Postupná tvorba biofilmu je zaznamenána na následujících fotografiích pořízených firmou Aquatest a.s. v dubnu 2009.

Obr. 23: 2.týden tvorby biofilmu (autor firma Aquatest, a.s.)



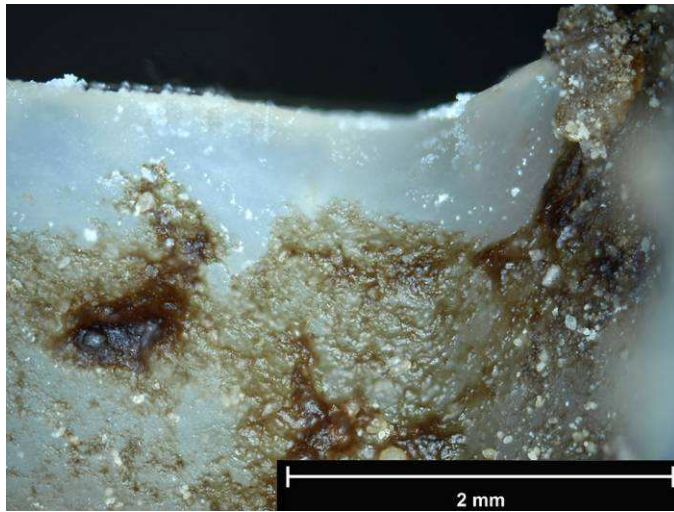
Na **obr.23** je patrná počáteční kolonizace a vznik mikrokolonií bakterií *Rhodococcus erythropolis*.

Obr. 24: 3. týden tvorby biofilmu (autor firma Aquatest, a.s.)



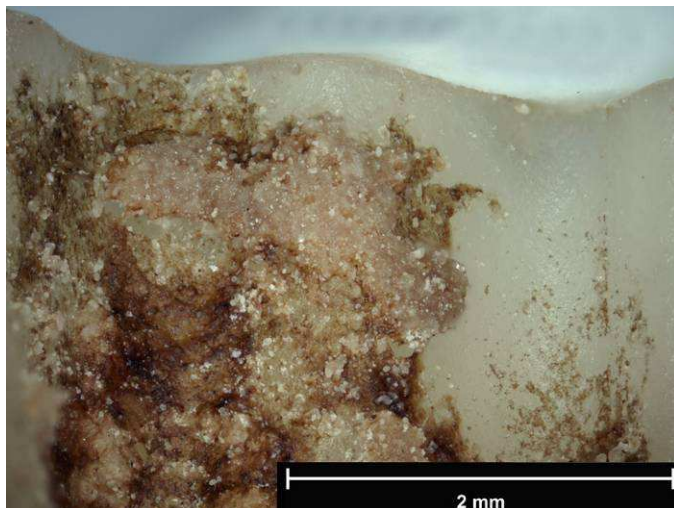
Během dalšího týdne se tyto mikrokolonie dále rozšiřovaly a zvětšovaly.

Obr. 25: 4. týden tvorby biofilmu (autor firma Aquatest, a.s.)



Během čtvrtého týdne kolonizace se utvářel patrný reliéf.

Obr. 26: 5. týden tvorby biofilmu (autor firma Aquatest, a.s.)



V pátém týdnu kolonizace bakteriemi rodu *Rhodococcus* byl polymerní bionosič téměř zcela pokryt kontinuální vrstvou biofilmu.

Porovnání čistých bionosičů a bionosičů, které byly použity pro kultivaci bakteriemi v odpadních vodách je zachyceno na **obr. 27**.

Obr. 27: Bionosiče (autor firma Aquatest a.s.)



Prvotní výzkum využití bakterií rodu *Rhodococcus erythropolis* pro odbourávání průmyslového znečištění OV typu kyanidů, anilinu, DPG a ostatních doprovodných látek byl prováděn firmou Aquatest a.s., ve spolupráci s expertním pracovištěm Ústavu kvasné chemie a bioinženýrství VŠCHT Praha v roce 2003. Dle výzkumu (Hrdinová, 2006), zaměřeného na tvorbu biofilmu a mikrokultury bakterií odbourávající anilin, byl rod *Rhodococcus* zvolen za nejúčinnější. Keprdová (2009) uvádí, že bakterie *Rhodococcus* mají rozsáhlé schopnosti katabolizovat širokou škálu organických látek, včetně polychlorovaných bifenyly (PCB) a surové nafty. Bílkovinný flokulant NOC1, který vytváří *Rhodococcus erythropolis*, má silné flokulační schopnosti pro anorganické i organické suspendované látky.

Zpočátku výzkum probíhal v laboratorních podmínkách Ústavu kvasné chemie, později, po dobu devíti měsíců, v poloprovozu LZD.

## 4.4. Sledování aktivity bakteriální kultury

Tabulka 19: Hodnoty CHSK a počtu bakterií v měsíci dubnu 2009

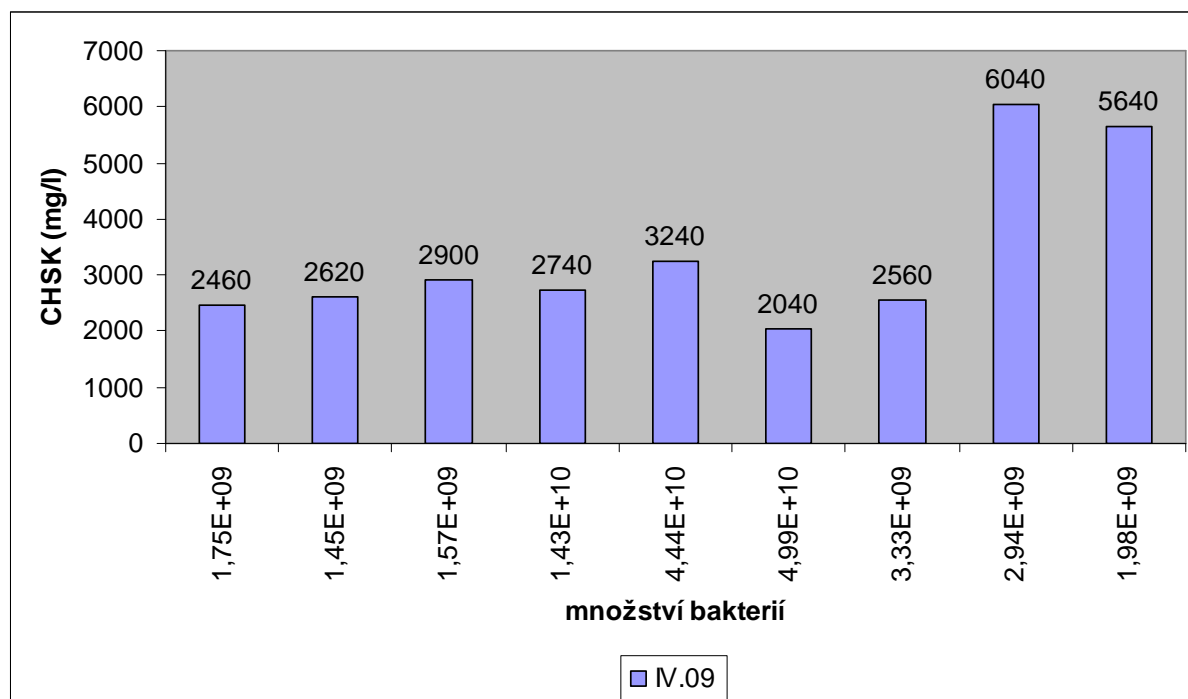
datum	počet bakterií	CHSK (mg.l <sup>-1</sup> )
3.4.2009	1,75.10 <sup>9</sup>	2460
5.4.2009	1,45.10 <sup>9</sup>	2620
7.4.2009	1,57.10 <sup>9</sup>	2900
11.4.2009	1,43.10 <sup>10</sup>	2740
14.4.2009	4,44.10 <sup>10</sup>	3240
18.4.2009	4,99.10 <sup>10</sup>	2040
21.4.2009	3,33.10 <sup>9</sup>	2560
24.4.2009	2,94.10 <sup>9</sup>	6040
28.4.2009	1,98.10 <sup>9</sup>	5640
průměr	1,35.10 <sup>10</sup>	3360
max	4,99.10 <sup>10</sup>	6040
min	1,45.10 <sup>9</sup>	2040

Do tabulky č. 19 jsou zaneseny hodnoty CHSK a počty bakterií rodu *Rhodococcus*, které se vztahují k jednotlivým dnům. Hodnoty odpovídají měření v měsíci dubnu 2009. V tabulce jsou též uvedeny základní statistické parametry. Průměrný počet bakterií v dubnu 2009 dosahoval hodnoty 1,35.10<sup>10</sup>. Nejvyšší maximální počet bakterií odpovídá hodnotě 4,99.10<sup>10</sup>. Minimum naopak hodnotě 1,45.10<sup>9</sup>.

Průměrná hodnota CHSK dosáhla 3360 mg.l<sup>-1</sup>. S maximem (6040 mg.l<sup>-1</sup>) změřeným dne 24.4.2009 a minimální hodnotou (2040 mg.l<sup>-1</sup>) zjištěnou 18.4.2009.

Tabulce č. 19 odpovídá graf č.5.

Graf č.5: Graf závislosti výše CHSK na množství bakterií v OV, měsíc duben 2009



Tabulka 20: Hodnoty CHSK a počtu bakterií v měsíci květnu 2009

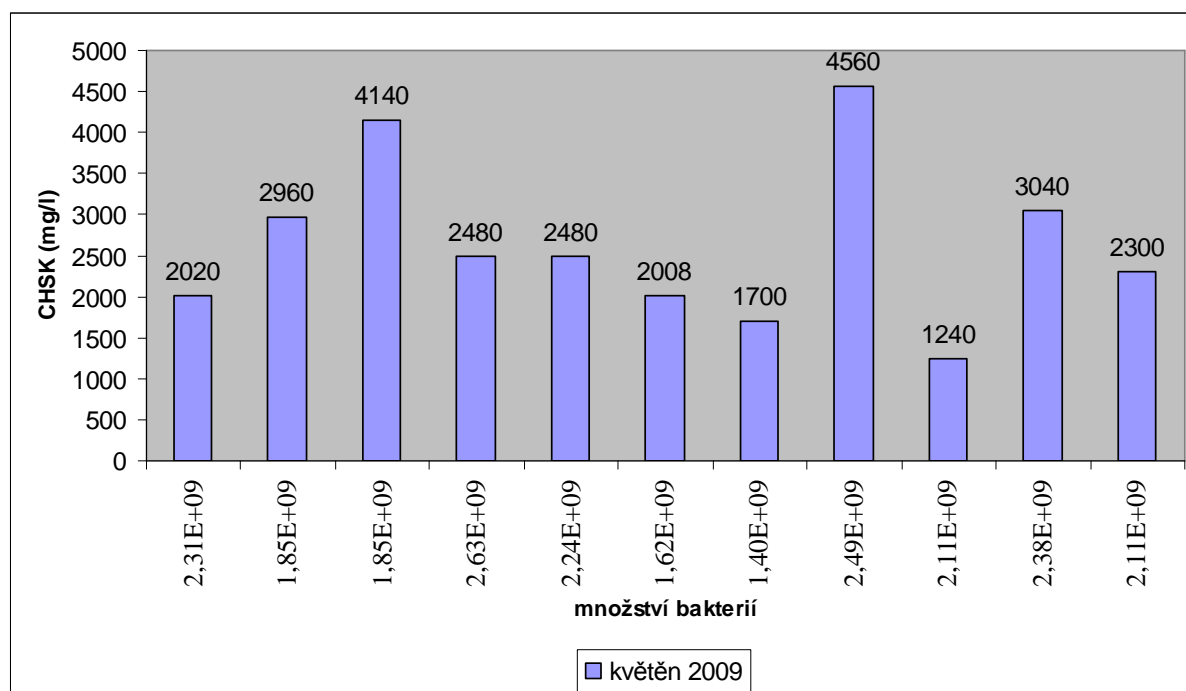
datum	počet bakterií	CHSK (mg.l <sup>-1</sup> )
4.5.2009	2,31.10 <sup>9</sup>	2020
6.5.2009	1,85.10 <sup>9</sup>	2960
11.5.2009	1,85.10 <sup>9</sup>	4140
13.5.2009	2,63.10 <sup>9</sup>	2480
15.5.2009	2,24.10 <sup>9</sup>	2480
18.5.2009	1,62.10 <sup>9</sup>	2008
20.5.2009	1,40.10 <sup>9</sup>	1700
22.5.2009	2,49.10 <sup>9</sup>	4560
25.5.2009	2,11.10 <sup>9</sup>	1240
27.5.2009	2,38.10 <sup>9</sup>	3040
29.5.2009	2,11.10 <sup>9</sup>	2300
průměr	2,09.10 <sup>9</sup>	2630
Max	2,63.10 <sup>9</sup>	4560
Min	1,40.10 <sup>9</sup>	1240

V tabulce č. 20 jsou uváděny počty bakterií a jim odpovídající hodnota CHSK. Průměrný počet bakterií v měsíci květnu 2009 dosáhl hodnoty 2,09.10<sup>9</sup>. Maxima (2,63.10<sup>9</sup>) bylo dosaženo 13.5.2009. Naopak minimální počet bakterií (1,40.10<sup>9</sup>) byl změřen 20.5.2009. Průměrná hodnota CHSK odpovídá 2630 mg.l<sup>-1</sup>.

Maximální hodnota (4560 mg.l<sup>-1</sup>) byla naměřena 22.5.2009 a minimum (1240 mg.l<sup>-1</sup>) bylo stanoveno 25.5.2009.

Grafickým zpracováním tabulky č.20 je graf č.6.

Graf č.6: Graf závislosti výše CHSK na množství bakterií v OV, měsíc květen 2009

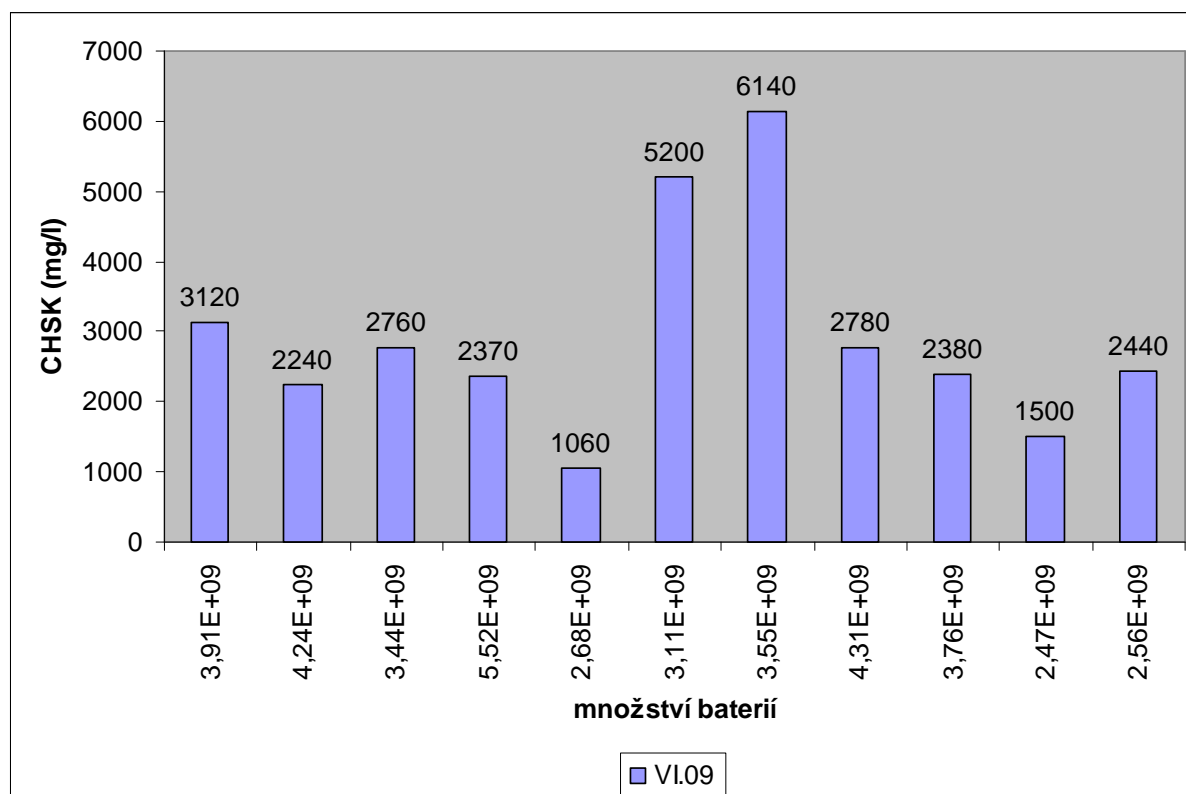


Tabulka 21: Hodnoty CHSK a počtu bakterií v měsíci červnu 2009

datum	počet bakterií	CHSK
1.6.2009	$3,91 \cdot 10^9$	3120
3.6.2009	$4,24 \cdot 10^9$	2240
5.6.2009	$3,44 \cdot 10^9$	2760
8.6.2009	$5,52 \cdot 10^9$	2370
15.6.2009	$2,68 \cdot 10^9$	1060
17.6.2009	$3,11 \cdot 10^9$	5200
19.6.2009	$3,55 \cdot 10^9$	6140
22.6.2009	$4,31 \cdot 10^9$	2780
24.6.2009	$3,76 \cdot 10^9$	2380
26.6.2009	$2,47 \cdot 10^9$	1500
29.6.2009	$2,56 \cdot 10^9$	2440
průměr	$3,60 \cdot 10^9$	2908
Max	$5,52 \cdot 10^9$	6140
Min	$2,47 \cdot 10^9$	1060

Do **tabulky č. 21** jsou zaneseny hodnoty CHSK a počty bakterií odpovídající jednotlivým dnům v měsíci červen 2009, stanovených v OV CHBČOV. Počet bakterií v červnu dosáhl průměrné hodnoty  $3,60 \cdot 10^9$  bakterií. Maximum ( $5,52 \cdot 10^9$ ) bylo naměřeno 8.6.2009 a minimum ( $2,47 \cdot 10^9$ ) 26.6.2009. Průměrná hodnota CHSK dosáhla  $2908 \text{ mg.l}^{-1}$ , přičemž maximální hodnota ( $6140 \text{ mg.l}^{-1}$ ) byla naměřena ke dni 19.6.2009 a minimální hodnota ( $1060 \text{ mg.l}^{-1}$ ) dne 15.6.2009. Graficky tabulce č. 21 odpovídá graf č.7.

Graf č. 7: Graf závislosti výše CHSK na množství bakterií v OV, měsíc červen 2009



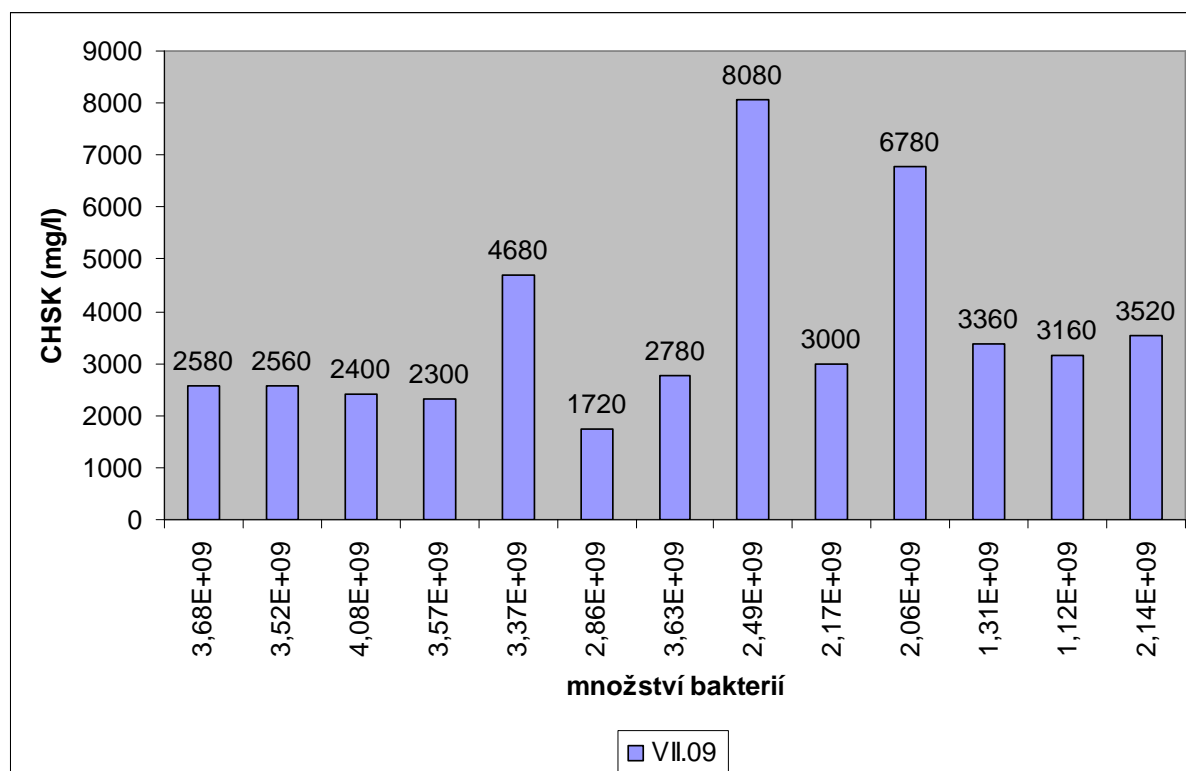


Tabulka 22: Hodnoty CHSK a počtu bakterií v měsíci červenci 2009

datum	počet bakterií	CHSK
1.7.2009	$3,68 \cdot 10^9$	2580
3.7.2009	$3,52 \cdot 10^9$	2560
6.7.2009	$4,08 \cdot 10^9$	2400
8.7.2009	$3,57 \cdot 10^9$	2300
10.7.2009	$3,37 \cdot 10^9$	4680
13.7.2009	$2,86 \cdot 10^9$	1720
15.7.2009	$3,63 \cdot 10^9$	2780
17.7.2009	$2,49 \cdot 10^9$	8080
20.7.2009	$2,17 \cdot 10^9$	3000
22.7.2009	$2,06 \cdot 10^9$	6780
24.7.2009	$1,31 \cdot 10^9$	3360
29.7.2009	$1,12 \cdot 10^9$	3160
31.7.2009	$2,14 \cdot 10^9$	3520
průměr	$2,77 \cdot 10^9$	3609
max	$4,08 \cdot 10^9$	8080
min	$1,12 \cdot 10^9$	1720

V tabulce č. 22 jsou zaznamenány hodnoty CHSK a počty bakterií vztahující se k měsíci červenci 2009. V tomto měsíci dosahoval průměrný počet bakterií hodnoty  $2,77 \cdot 10^9$ . Maximální počet bakterií ( $4,08 \cdot 10^9$ ) byl napočítán 6.7.2009 a minimální počet ( $1,12 \cdot 10^9$ ) pak 29.7.2009. Při měření CHSK byla zjištěna průměrná hodnota  $3609,23 \text{ mg.l}^{-1}$ , maxima ( $8080 \text{ mg.l}^{-1}$ ) bylo dosaženo 17.7.2009 a minimální hodnota ( $1720 \text{ mg.l}^{-1}$ ) byla zjištěna dne 13.7.2009. Hodnotám v tabulce č. 21 odpovídá graf č.8.

Graf č. 8: Graf závislosti výše CHSK na množství bakterií v OV, měsíc červenec 2009



Z tabulek č. 19 až 22 a grafů č. 5 až 8, příslušejících těmto tabulkám je patrné, že v provozním režimu není možné vypočítat prakticky žádnou závislost mezi počtem bakterií a hodnotou CHSK a to patrně z toho důvodu, že počet bakterií je ustálen. Pohybuje se řádově v hodnotách  $X.10^{10}$ . V průběhu sledovaného období nedošlo v provozu CHBČOV k takovému poklesu bakterií, aby bylo možné vyhodnotit vliv jejich množství na CHSK. Tuto závislost by bylo možno sledovat v laboratorním měřítku, což by vyžadovalo spolupráci s odborem výzkumu LZD, který byl v daném období vytížen jinými činnostmi.

Pokud by se množství bakterií dostalo (pokleslo) k hodnotám  $X.10^8$  znamenalo by to pravděpodobně potíže a s tím související nutnost informovat obsluhu bioreaktoru, že došlo ke změně životních podmínek. Počet  $X.10^7$  již indikuje vymírání bakterií. Pokles bakteriálního množství souvisí s hodnotou pH, salinitou a také s mikroorganismy, kteří se živí bakteriemi rodu *Rhodococcus erythropolis*. Přítomnost jiných mikroorganismů je vhodné sledovat při počítání bakterií pomocí počítačící komůrky.

Maximální a minimální hodnoty stanoveného počtu bakterií odpovídají nepřímo úměrně naměřenému pH odpadní vody. Maximální množství souvisí s poklesem pH (tedy kyselější reakce), naopak minimální počty bakterií byly zjištěny ve dnech, kdy pH dosahovalo hodnot vyšších (zásaditá reakce).

## 5. Závěr

Tato diplomová práce byla zaměřená zejména na posouzení odbouratelnosti diphenylguanidinu (DPG), anilinu a dalších vedlejších produktů v odpadních vodách z výroby DPG, dále na sledování charakteru biofilmu a aktivity bakteriální kultury *Rhodococcus erythropolis*. Uskutečnit tuto práci bylo možné díky Lučebním závodům Draslovka a.s. Kolín a Aquatest a.s. Praha. Výzkum použitý pro tuto práci probíhal právě v prostorách LZD.

Ze zjištěných dat byly získány tyto poznatky:

- 1) Byl sledován úbytek koncentrace DPG a anilinu ve vodách, které vstupují a vystupují z reaktoru chemicko-biologické čističky odpadních vod. Vzorke odpadních vod byly odebírány v intervalu tří dní. Stanovení koncentrace těchto látek bylo provedeno metodou vysokotlaké kapalinové chromatografie (HPLC). Ze získaných výsledků je patrná vysoká účinnost čištění těchto vod, která se u DPG pohybovala v průměru kolem 98% a u anilinu kolem 97,2%. Pro stanovení množství DPG se použitá metoda zdá vhodnou. Pro stanovení anilinu je vhodnější metoda titrační a spektrofotometrická.
- 2) Byly také sledovány úbytky koncentrací vedlejších produktů. Mezi identifikované patří fenylmočovina, která se jeví jako dobře odbouratelná. Účinnost dosahovala průměrné hodnoty 99,8%. Mezi, v současné době neznámé látky, patří vedlejší produkty X1, X2, X3 a X4, pro jejichž identifikaci by bylo potřeba hmotnostního spektrometru, který se však v LZD a.s. Kolín v současné době nenachází. Dokud nebudou látky identifikovány, není možné jejich obsah správně odhadnout.
- 3) Dále byla sledována aktivita bakteriální kultury *Rhodococcus erythropolis*, která je adaptována na odbourávání DPG a zejména anilinu. Na základě porovnávání počtu bakterií a hodnoty  $CHSK_{Cr}$ , bylo zjištěno že v podmínkách provozního režimu, kdy množství bakterií dosahuje řádově hodnoty  $X \cdot 10^{10}$ , není možné žádnou závislost vyzorovat.
- 4) Při sledování změn charakteru biofilmu bylo zjištěno, že schopnost bakterií kolonizovat polymerní bionosiče je vysoká a během pěti týdnů byl nosič souvisle pokryt vrstvou biofilmu.

Zajímavá by mohla být další identifikace neznámých vedlejších látek X1, X2, X3 a X4 z výroby DPG, na hmotnostním spektrometru. Dále by bylo třeba sledovat aktivitu bakteriální kultury *Rhodococcus erythropolis* v laboratorním měřítku.

## 6. Seznam použité literatury

Davey M.E., O'Toole G.A.; 2000: Microbiology and Molecular Biology Reviews, December 2000, Vol. 64, No. 4, p. 847-867.

Dohányos M., Koller J., Strnadová N.; 1998: Čištění odpadních vod. Vydavatelství chemie a technologie vody VŠCHT. 177s.

Hlavínek P., Malý J.; 1996: Čištění průmyslových odpadních vod. NOEL 2000 s.r.o. Brno. 255s.

Hlavínek P., Mičín J., Prax P., a kol.; 2006: Stokování a čištění odpadních vod. NOEL 2000 s.r.o., 142s.

Hlavínek P., Mičín J., Prax P.; 2003: Stokování a čištění odpadních vod. Akademické nakladatelství CERM, s.r.o Brno. 283s.

Hlavínek P., Říha J.; 2004: Jakost vody v povodí. Akademické nakladatelství CERM, s.r.o. Brno, 209s.

Hrdinová J.; 2006: Mikrobiální biofilm jako nástroj v bioremediačních technologiích, VŠCHT Praha, 89s.

Chudoba J., Dohányos M., Wanner J.; 1991: Biologické čištění odpadních vod. SNTL Praha. 465s.

Keprdová L.; 2009: Produkce exopolymeru bakteriální kulturou PR. Diplomová práce. UTB ve Zlíně, 2009, 98s.

Malá J.; 2005: Chemie a technologie vody. NOEL 2000 s.r.o. Brno. 108s.

Pitter P.; 1981: Hydrochemie. SNTL Praha. 373s.

Rešetka D.; 1983: Stokování a čištění odpadních vod. SNTL Praha. 160s.

Sákra T., Dirner V.; 2006: Ochrana vod. Technická univerzita Ostrava. 41s.

Štěrbá O., Rosol J.; 1989: Znečišťování a ochrana vod. Olomouc. 181s.

Švehla P., Tlustoš P., Balík J.; 2004: Odpadní vody. Česká zemědělská univerzita Praha. 107s.

Dokumenty patřící LZD, a.s.

**On-line zdroje:**

<http://www.americanscientist.org/issues/pub/biofilms/3> (26.11.2009)

<http://www.zemepis.com/zasoby.phpwww.tzb-info.cz> (11.11.2009)

<http://www.osel.cz/index.php?clanek=4395> (14.12.2009)

<http://www.ceskaenergetika.cz/image.php?idx=1027&mw=639> (18.3.2010)

<http://www.tzb-info.cz/t.py?t=2&i=2705> (14.12.2009)

<http://www.draslovka.cz/CMSPage.jsp?id=cf216e8a-db71-404d-bc9c-e5ae17e96442&context=79844cbe-01d9-49fd-9bb4-dc5ea0aa6453.9f97207a-ad8e-4c8e-b530-d9d775db2c2f.0925e7ad-2a6d-4ac9-97b5-bef6678b0d7b.cf216e8a-db71-404d-bc9c-e5ae17e96442> (26.11.2009)

[http://imunologie.lf2.cuni.cz/soubory\\_vyuka/Izolace%20bunek%20a%20funkcni%20testy%20lymfocytu.pdf](http://imunologie.lf2.cuni.cz/soubory_vyuka/Izolace%20bunek%20a%20funkcni%20testy%20lymfocytu.pdf) (23.3.2010)

<http://www.sci.ujep.cz/vyhledavani.html?hledej=titrace&OK.x=0&OK.y=0> (7.8.2009)

[http://www.microbialcellfactories.com/search/results.asp?terms=quorum++sensing&Submit.x=0&Submit.y=0&Submit=Submit&db=jou10001&searchoperator=and&usq\\_param1=all](http://www.microbialcellfactories.com/search/results.asp?terms=quorum++sensing&Submit.x=0&Submit.y=0&Submit=Submit&db=jou10001&searchoperator=and&usq_param1=all)  
(6.1.2010)

<http://www.etext.czu.cz/index.php> (7.8.2009)