

Stanovení biologické rozložitelnosti organických látek ve vodném prostředí dle ČSN ISO 10707

Eva Moudrá

Bakalářská práce
2019



Univerzita Tomáše Bati ve Zlín
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí
akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Eva Moudrá**
Osobní číslo: **T15238**
Studijní program: **B2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Inženýrství ochrany životního prostředí**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Stanovení biologické rozložitelnosti organických látek ve vodném prostředí dle ČSN ISO 10707**

Zásady pro vypracování:

1. Vypracujte literární studii na zadané téma.
2. Na základě získaných znalostí proveďte – volbu inokula pro zaočkování ředící vody a optimalizujte jeho dávkování. Zvolte vhodnou přípravu/úpravu a dávkování testované látky.
3. Realizujte testy biologického rozkladu s reálným vzorkem.
4. Naměřená a vypočtená data zpracujte a dosažené výsledky kriticky zhodnoťte.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

Při zpracování bakalářské práce využijte následujících literatury:

1. ČSN ISO 10707 (757773): Jakost vod – Hodnocení úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí – Metoda stanovení biochemické spotřeby kyslíku (v uzavřených lahvíčkách. Praha: Český normalizační institut, 1996.

2. PITTER, Pavel. Hydrochemie. 4., aktualiz. vyd. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2009, 579 s. ISBN 978-80-7080-701-9.

3. Chemické listy: Chemical Papers (Prague). Praha: Průmyslové vydavatelství, 1951-. ISSN 0009-2770. 1x měsíčně.

4. Vodní hospodářství: Water management : Voda – ovzduší – půda – odpady. Praha: Vodní hospodářství, 1951-. ISSN 1211-0760. 1x měsíčně.

Vedoucí bakalářské práce:

doc. Ing. Markéta Julinová, Ph.D.

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce:

1. února 2019

Termín odevzdání bakalářské práce:

17. května 2019

Ve Zlíně dne 1. února 2019

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

prof. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno:

Obor:

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně

.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlíádně k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zabývá stanovením biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí dle České státní normy ISO 10707. V teoretické části této práce je shrnuta problematika organických látek ve vodách, uvedena metoda stanovení biologické spotřeby kyslíku a zmíněny další existující metody tohoto stanovení. V experimentální části práce byla provedena volba vhodného inokula pro zaočkování tzv. ředící vody a optimalizace dávkování testované látky. Jako zdroj mikroorganismů byly dle normy navrženy inokula povrchové vody, odtokové a městské splaškové vody. Testovaná koncentrace studované látky byla v rozsahu od 2 mg/l do 10 mg/l. Zavedené testy s touto koncentrací látky se neosvědčily, protože byl zaznamenán nízký a proměnlivý biologický rozklad u reálného vzorku. Jako nejvhodnější inokulum se ukázalo inokulum odpadní vody s testovanou koncentrací 5 ml/l. Ze získaných výsledků vyplynulo, že normou doporučené dávkování testované látky je nevyhovující a je nutno přistoupit k dávkování testované látky dle její hodnoty chemické spotřeby kyslíku, které bylo zvoleno na 5 mg/l.

Klíčová slova: biodegradace, vodné aerobní prostředí, biologická spotřeba kyslíku, organické látky, ČSN ISO 10707, chemická spotřeba kyslíku

ABSTRACT

The bachelor thesis pursue with the determination of biodegradability of organic substance in water environment according to the Czech state standard ISO 10707. In the theoretical part of this thesis is summarized the issue of organic substances in water, mentioned method of determination of biological oxygen demand and mentioned other existing methods of this determination. In the experimental part of this thesis, a choice of suitable inoculum for so-called dilution water inoculation and optimization of the test substance dosing was performed. According to the standard, inoculum of outflow water, surface water and urban sewage water have been proposed as a source of microorganisms. Range of test substance concentrations was from 2 mg/l to 10 mg/l. Performed tests with this substance concentration didn't suit of this range because of the low and variable biodegradation of the real sample. As the most suitable inoculum has been proved waste water inoculum with the tested concentration of 5 ml/l. The obtained results showed that the recommended dosage of the tested substance according to the standard is inadequate and it is neces-

sary to proceed dosage this substance according to its value of chemical oxygen demand, which has been chosen to 5 mg/l.

Keywords: biodegradation, water aerobic environment, biological oxygen demand, organic substances, Czech state standard ISO 10707, chemical oxygen demand

PODĚKOVÁNÍ

Zde bych si dovolila poděkovat všem, díky kterým mohla vzniknout tato práce, kterou si právě čtete.

V prvé řadě chci poděkovat doc. Ing. Markétě Julinové, Ph.D. za vedení a odborný dohled u mé bakalářské práce, také za ochotu a užitečné rady při zpracování.

Děkuji doc. RNDr. Janovi Růžičkovi, Ph.D. za pomoc a vedení při realizaci mikrobiálních testů v laboratoři.

Dále chci poděkovat Ing. Ludmile Vaňharové za ochotnou pomoc při začátcích na mé experimentální práci v laboratoři a za užitečné rady.

Obrovské díky patří i mým rodičům a celé rodině za jejich podporu a pomoc během mého studia.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	12
I TEORETICKÁ ČÁST.....	13
1 BIOLOGICKÁ DEGRADACE	14
1.1 KLASIFIKACE LÁTEK PODLE BIOLOGICKÉ ROZLOŽITELNOSTI	15
2 POSOUZENÍ BIOLOGICKÉHO ROZKLADU DLE STANDARDIZOVANÝCH METOD	17
2.1 ZKOUŠKY BIOLOGICKÉ ROZLOŽITELNOSTI	17
2.2 ZKOUŠKY POTENCIÁLNÍ BIOLOGICKÉ ROZLOŽITELNOSTI	18
2.3 SIMULAČNÍ ZKOUŠKY	18
2.4 DALŠÍ ZKOUŠKY	19
3 ČESKÁ STÁTNÍ NORMA ISO 10707	21
3.1 BIOLOGICKÁ SPOTŘEBA KYSLÍKU	21
3.2 PODSTATA ZKOUŠKY	22
3.3 PŘÍPRAVA INOKULA.....	22
3.4 PLATNOST ZKOUŠKY.....	23
4 CÍLE PRÁCE	24
II PRAKTICKÁ ČÁST	25
5 STANOVENÍ BSK	26
5.1 CHEMIKÁLIE, ROZTOKY A JEJICH PŘÍPRAVA	26
5.2 BIOLOGICKÝ MATERIÁL	27
5.3 PŘÍSTROJE A POMŮCKY	29
5.4 POSTUP ZKOUŠKY	29
5.5 VÝPOČET BIOLOGICKÉHO ROZKLADU	31
6 MIKROBIÁLNÍ TESTY.....	34
6.1 POSTUP TESTU	34
6.1.1 Test č. 1	35
6.1.2 Test č. 2.....	36
6.1.3 Test č. 3.....	36
7 STANOVENÍ CHSK_{CR}	37
7.1 CHEMIKÁLIE, ROZTOKY A JEJICH PŘÍPRAVA	37
7.2 PŘÍSTROJE A POMŮCKY	38
7.3 POSTUP ZKOUŠKY	38
7.4 VÝPOČET CHSK _{CR}	39
8 VÝSLEDKOVÁ ČÁST	41
8.1 CHSK _{CR}	41
8.2 MIKROBIÁLNÍ TESTY.....	41
8.2.1 Test č. 1	41
8.2.2 Test č. 2.....	41
8.2.3 Test č. 3.....	42

8.3	BSK	43
8.3.1	Test č. 1 – povrchová voda.....	43
8.3.2	Test č. 2 – odtoková voda	45
8.3.3	Test č. 3 – městská splašková voda	46
8.3.4	Test č. 4 – odtoková voda	47
8.3.5	Test č. 5 – povrchová voda.....	48
8.3.6	Test č. 6 – odtoková voda	49
8.3.7	Test č. 7 – povrchová voda.....	50
9	DISKUZE VÝSLEDKŮ	52
	ZÁVĚR	58
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	59
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	61
	SEZNAM OBRÁZKŮ	62
	SEZNAM TABULEK.....	63

ÚVOD

V přírodě je nastavená určitá biologická rovnováha, která je udržována souborem rozkladných a syntetických pochodů, také pomocí koloběhu biogenních prvků mezi anorganickou přírodou, rostlinstvem a živočichy. Velká většina přirozených organických látek je biologicky neškodná a snadno rozložitelná, pomocí mikroorganismů, které se vyskytují ve vodě či půdě. Ale do přírody se dostávají v širokých koncentracích i nejrůznější syntetické organické látky z průmyslu, chemických výrob aj.¹

Obecně organické látky význačně ovlivňují biologické i chemické vlastnosti vod. Mohou mít vliv například na barvu, pach, chuť a pěnivost vody. Některé organické látky způsobují karcinogenní, mutagenní, teratogenní nebo alergenní účinky. Také mohou zhoršovat přestup kyslíku do vody tím, že tvoří povrchový film na hladině. Některé látky desorbují toxické kovy ze sedimentů a ovlivňují tak komplexační kapacitu vody.²

Rozlišujeme látky, které podléhají biologickému rozkladu ve vodách a při čištění odpadních vod a také látky, které jsou biologicky těžko rozložitelné, tzv. rezistentní látky. Mezi rezistentní látky řadíme například polyaromatické uhlovodíky, ligninsulfonany, komplexotvorné látky, některé pesticidy a tenzidy, polyhalogenované organické látky a další.²

K posouzení účinků syntetických organických látek na životní prostředí a k odhadu jejich doby setrvání v jednotlivých složkách ekosystémů, můžeme využít stanovení jejich biologické rozložitelnosti.¹

Nejběžněji používaný postup, který je v České republice normován pro stanovení biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí, je metoda stanovení biologické spotřeby kyslíku (BSK) v uzavřených lahvičkách - ČSN ISO 10707.¹

Cílem této bakalářské práce bylo optimalizovat tuto metodu pro stanovení biologické rozložitelnosti detergentů s nízkým obsahem organických dusíkatých povrchově aktivních látek polymerního charakteru.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 BIOLOGICKÁ DEGRADACE

Biologická degradace neboli biodegradace, charakterizuje biologické odbourávání organických látek pomocí mikroorganismů. Probíhá jak pro přírodní látky, tak i pro látky, které se do životního prostředí dostaly lidskou činností (antropogenní původ).³

Proces biodegradace využívá přírodní bakteriální kmeny, které umožňují přirozený rozklad organických látek. Bakterie jsou schopné zpracovat nežádoucí organické sloučeniny a využít je jako zdroj uhlíku a energie pro svůj růst.⁴

Činnost organismů je ovlivněna fyzikálně-chemickými a biologickými faktory. Mezi hlavní biologické faktory řadíme množství přítomných organismů, schopnost jejich adaptace a aklimatizace. Do fyzikálně-chemických faktorů patří parametry okolního prostředí jako je koncentrace kyslíku, koncentrace dusíku a fosforu, dostupnost živin, teplota, pH, vlhkost prostředí a salinita. Dále vlastnosti organické látky, jako je její struktura, toxicita, biodostupnost a biodegradabilita. Také pak přítomnost dalších chemických látek, které by v prostředí mohly potlačovat až zcela ovlivnit reprodukční a biodegradační aktivitu organismů.⁴

U konečného procesu biodegradace může nastat až úplný rozklad organické látky na oxid uhličitý, vodu a anorganické soli (tzv. mineralizace). Dalšími možnými výsledky biologických procesů je transformace látky na jinou látku, akumulace v degradujícím organismu, polymerace a nebo jiná vazba na přírodní materiál v půdě, vodě či sedimentech. Látky, které jsou obtížně rozložitelné, mohou být degradovány kometabolicky, kde dochází pouze k částečné oxidaci. Při tomto procesu se buňce nedostává žádná energie využitelná pro růst, a proto je zapotřebí přítomnost jiných organických sloučenin.⁵

Odstranění organických látek z vodního prostředí pomocí mikroorganismů je rozděleno do dvou následujících procesů. Katabolickými procesy je část organických sloučenin přeměňována oxidací na CO₂ a H₂O. Anabolickými procesy je část organických látek využívána pro syntézu rezervního materiálu a nových buněk. Nejčastějšími rezervními látkami jsou polysacharidy a lipidy. Pomocí nich dochází ke zvýšení hmotnosti biomasy a počtu mikroorganismů.⁶

Rozlišujeme pojmy růst mikroorganismů a násobení mikroorganismů. Růst je obecně definován jako nárůst koncentrace biomasy, která ale nemusí být spojena s možným množením buněk (dělením). Dochází k výraznému zvětšení velikosti mateřské buňky a zvýšení hmotnosti než k jejich dělení do dvou dceřiných buněk.⁶

1.1 Klasifikace látek podle biologické rozložitelnosti

V práci Hoffmana a kol.¹ jsou snadno biologicky rozložitelné látky definovány následovně: "Za biologicky snadno rozložitelné látky lze označit takové látky, které mohou být samostatným zdrojem organického uhlíku a energie pro mikroorganismy směsné kultury, nevyžadují kometabolismus a které mohou být zcela mineralizovány bez náročnější adaptace a selekce mikroorganismů v klasických biologických čistírnách odpadních vod s účinností a rychlostí jako většina organických látek obsažených ve splaškových vodách. Rozklad musí probíhat tak rychle a do takové míry, aby se v prostředí neprojevovaly nežádoucí ekologické vlivy. Opakem jsou látky biologicky těžko rozložitelné."¹

Pro klasifikaci organických látek dle biologické rozložitelnosti nám slouží metody, které nám umožňují stanovit celkovou koncentraci organických látek ve vodě.² Pro stanovení celkové organických látek ve vodách se používá stanovení biologické spotřeby kyslíku (BSK), stanovení chemické spotřeby kyslíku (CHSK) nebo stanovení celkového organicky vázaného uhlíku (TOC). Mezi další možnosti patří výpočet teoretické spotřeby kyslíku (TSK), nicméně pro tento výpočet je nutné znát přesné složení organických látek přítomných ve vodách.⁷

Biologicky snadno rozložitelné látky musí splňovat alespoň 90 % odstranění CHSK při rychlosti rozkladu vyšším jak 11 mg/(g.h), nebo když dochází k odstranění organického uhlíku v rozmezí 80 – 90 % původního znečištění. Jestliže dosáhneme méně než 50 % počáteční hodnoty CHSK, řadíme takové látky mezi biologicky těžko rozložitelné.¹

Pokud během testu nedojde ke snížení hodnoty CHSK, resp. koncentrace TOC, látky ještě nepovažujeme za biologicky nerozložitelné, protože biologické degradace, i když velice pomalé, můžeme dosáhnout při vhodné selekci mikroorganismů.¹

Do klasifikace látek podle biologické rozložitelnosti lze teoreticky zařadit ještě třetí skupinu tzv. látek biologicky středně rozložitelných. Jedná se o látky, které podléhají úplnému biologickému rozkladu, ale jen velmi pomalu probíhajícímu, nebo jsou to látky s odstranitelnou CHSK v rozmezí 50 – 80 % původní hodnoty.¹

Další možností pro hodnocení biologické rozložitelnosti organických látek je poměr biologické spotřeby kyslíku a chemické spotřeby kyslíku dichromanovou metodou ($BSK / CHSK_{Cr}$). Jestliže lze vypočítat u zkoušené organické látky hodnotu TSK, poté můžeme jednodušeji zvolit poměr BSK / TSK .¹

Hodnota pro poměr $BSK / CHSK_{Cr}$, resp. BSK / TSK větší nebo rovna 0,5 poukazuje na látku velmi dobře rozložitelnou, při $BSK / CHSK$ menší než 0,2 se jedná o látky biologicky těžko rozložitelné a mezi těmito krajními hodnotami, mluvíme o intervalu, do kterého můžeme zařadit látky biologicky středně rozložitelné.¹

2 POSOUZENÍ BIOLOGICKÉHO ROZKLADU DLE STANDARDIZOVANÝCH METOD

V následujících podkapitolách je uveden přehled norem, které jsou využívány pro testování biologické rozložitelnosti.

Jednotlivé normované metody jsou definované pro určité kmeny zavedených směsných kultur mikroorganismů a pro specificky navržené podmínky prostředí.⁷

2.1 Zkoušky biologické rozložitelnosti

Mimo metody stanovení biologické spotřeby kyslíku v uzavřených lahvičkách, která je normovaná českou státní normou ISO 10707, lze sledovat proces biologického rozkladu různými typy testovacích metod, které jsou níže zmíněny.

ČSN EN ISO 7827 - Jakost vod – Hodnocení úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí – Metoda stanovení rozpuštěného organického uhlíku (DOC).⁸

Metoda je použitelná pro rozpustné organické látky, které odpovídají koncentračním podmínkám zkoušky, kde DOC je stanoveno v rozmezí od 10 mg/l až do 40 mg/l. Organické látky nesmějí být těkavé, nebo mohou mít pouze zanedbatelnou tenzi par v souladu s podmínkami zkoušky. Jejich adsorpce na sklo nebo na aktivovaný kal musí být nevýznamná. Metoda je aplikovatelná, pokud organické látky nepůsobí inhibičně na mikroorganismy ve zvolených koncentracích pro zkoušku.⁸

Podmínky, které jsou popsány v normě, neodpovídají vždy optimálním podmínkám, aby bylo dosaženo maximálního stupně biologického rozkladu.⁸

ČSN EN ISO 9408 - Jakost vod – Hodnocení úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí stanovením spotřeby kyslíku v uzavřeném respirometru.⁹

Respirometrický test porovnává stanovení BSK s TSK nebo CHSK.⁷

Metodu lze využít pro organické látky, které jsou snadno i těžko rozpustné ve vodě. Zkouška je aplikovatelná na těkavé organické látky, za použití vhodného respirometru. Látky nesmí působit inhibičně na mikroorganismy, nesmějí kontaminovat absorbér a musí být nereagující s látkou obsahující oxid uhličitý.⁹

ČSN EN ISO 9439 - Jakost vod – Hodnocení úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí – Metoda stanovení uvolněného oxidu uhličitého.¹⁰

U této zkoušky dochází k měření biogenně vyvinutého oxidu uhličitého, který je porovnáván s teoretickou produkcí oxidu uhličitého.⁷

2.2 Zkoušky potenciální biologické rozložitelnosti

ČSN EN ISO 9887 - Jakost vod – Hodnocení aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí – Semikontinuální metoda s aktivovaným kalem (SCAS).¹¹

U zkoušky je sledován DOC za účelem stanovení konečné biologické degradace.⁷

Tato metoda je stanovena pro organické látky, které jsou rozpustné v koncentracích použitých dle určených podmínek zkoušky a neztrácejí se vypěněním. Je určena pro netěkavé látky nebo látky se zanedbatelnou tenzí par. Ve zvolených koncentracích pro zkoušku nesmí působit inhibičně na mikroorganismy a nemohou se významně sorbovat na skle a aktivovaném kalu.¹¹

Má-li zkoušená látka toxické vlastnosti, musí být její počáteční koncentrace v testu snížena nebo může být použito předem adaptované inokulum.¹¹

ČSN EN ISO 9888 - Jakost vod – Hodnocení aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí – Statická zkouška (Zahn-Wellensova metoda).¹²

Norma popisuje statický aerobní vodní test s použitím standardních podmínek (Zahn-Wellensova metoda). Specifikuje vyšší koncentrace zkoušené látky a aktivovaného kalu. U stanovení se porovnává hodnota DOC na začátku zkoušky a na jejím konci.⁷

Je použitelná pro organické látky, které jsou rozpustné ve vodě, dle zvolených koncentrací v souladu se zkouškou, neztrácejí se vypěněním a musí splnit podmínky netěkavosti nebo mít pouze zanedbatelnou tenzí par. Látky nesmí působit inhibičně na mikroorganismy ve stanovených koncentracích pro zkoušku.¹²

2.3 Simulační zkoušky

ČSN EN ISO 11733 - Jakost vod – Hodnocení odstranitelnosti a biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí – Simulační zkouška s aktivovaným kalem.¹³

Metoda závisí na měření DOC nebo CHSK.⁷

Zkušební podmínky, které jsou popsány v této normě, simulují podmínky při biologickém čištění odpadních vod. Pro stanovení lze použít dva systémy, a to model aktivace nebo model v porézní nádobě. Zkouška je volitelně proveditelná za podmínek nitrifikace i denitrifikace a jako spřažené zařízení.¹³

Metoda je za stanovených podmínek použitelná pro organické látky, které jsou rozpustné ve vodě v koncentracích v souladu s podmínkami zkoušky a dostatečně dispergovatelné, aby bylo umožněno stanovení DOC. Musí splňovat netěkavost nebo pouze zanedbatelnou tenzi par. Ve zvolených koncentracích nesmí působit inhibičně na mikroorganismy.¹³

2.4 Další zkoušky

ČSN EN ISO 10708 - Hodnocení úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí – Metoda dvoufázového stanovení biochemické spotřeby kyslíku (v uzavřených lahvičkách).¹⁴

Normovaná metoda je založena na dvoufázovém stanovení biochemické spotřeby kyslíku v uzavřených lahvičkách.¹⁴ Jedná se o uzavřený zkušební systém s dostatečným obsahem kyslíku v horním prostoru lahviček.⁷

Zkouška je založena na sledování BSK v porovnání s TSK nebo CHSK.⁷

Metodu lze zvolit pro organické látky, které jsou rozpustné ve vodě, neabsorbují se na kyslíkové elektrodě a pro látky nepůsobící inhibičně na mikroorganismy inokula ve stanovených koncentracích v souladu se zkouškou.¹⁴

ČSN EN ISO 11734 - Jakost vod – Hodnocení úplné anaerobní biologické rozložitelnosti organických látek kalem z anaerobní stabilizace – Metoda stanovení produkce bioplynu.¹⁵

Screeningová metoda je založena na stanovení produkce bioplynu (CH_4 a CO_2) a anorganického uhlíku, kde je měřen tlak nebo objem.⁷

Při metodě se pracuje s nízkou koncentrací kalu a poměrně vysokou koncentrací zkoušené látky, proto podmínky zkoušky, které jsou popsány v normě nemusí odpovídat optimálním podmínkám pro dosažení úplného biologického rozkladu.¹⁵

Stanovení je použitelné pro organické látky se známým obsahem uhlíku, které jsou rozpustné i málo rozpustné ve vodě. Látky nesmí působit inhibičně na mikroorganismy v koncentracích stanovené zkouškou.¹⁵

ČSN EN ISO 14593 - Jakost vod – Hodnocení úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí – Metoda stanovení anorganického uhlíku v těsně uzavřených lahvičkách.¹⁶

Zkouška je založena na měření biogenně vyvinutého oxidu uhličitého po okyselení v plynné fázi nebo alkalizaci ve formě rozpuštěného anorganického uhlíku (DIC) ve srovnání s hodnotou teoretického oxidu uhličitého.⁷

Metoda je použitelná pro organické látky, které jsou těkavé, rozpustné nebo málo rozpustné ve vodě dle podmínek zkoušky. Látky nesmí působit inhibičně na mikroorganismy v koncentracích stanovených zkouškou.¹⁶

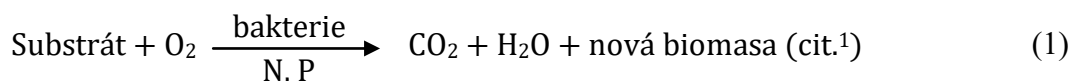
3 ČESKÁ STÁTNÍ NORMA ISO 10707

Česká státní norma ISO 10707 se zabývá hodnocením úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí. Metoda spočívá ve stanovení biochemické spotřeby kyslíku v uzavřených lahvičkách.¹⁷

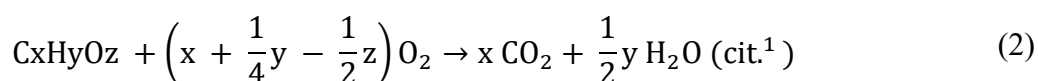
Metoda je využitelná pro všechny organické látky, které jsou ve vodě dostatečně rozpustné tak, aby se mohl připravit dokonale homogenní zásobní roztok. Lze ji využít i pro látky méně rozpustné, u kterých je nutné použít zvláštní způsob dávkování,¹⁷ který je popsán v ČSN EN ISO 10634 - Jakost vod – Pokyny pro přípravu a zpracování ve vodě těžko rozpustných organických látek pro následující hodnocení jejich biologické rozložitelnosti ve vodním prostředí. Norma stanovuje pokyny pro přípravu a zpracování těžko rozpustných organických látek ve vodním prostředí s následným hodnocením jejich biologické rozložitelnosti. Obsahuje čtyři podrobné postupy pro přípravu málo rozpustných organických látek a jejich zavedení do zkušební nádoby s vhodným médiem k následující zkoušce biologické rozložitelnosti ve vodním prostředí dle určitých metod.¹⁸

3.1 Biologická spotřeba kyslíku

Jak již bylo uvedeno v kap. 1 biologický rozklad lze definovat jako odstraňování organických látek biologickými pochody. "Aerobní mikroorganismy využívají organických látek jako zdroj energie (při tzv. disimilaci) a pro syntézu zásobních látek a nových buněk (asimilace). Substrát je tedy z části oxidován na oxid uhličitý a vodu a zbytek je převeden na zásobní látky a tvorbu nové biomasy"¹ Průběh biologického rozkladu za aerobních podmínek, lze vyjádřit následujícím zjednodušeným reakčním schématem.

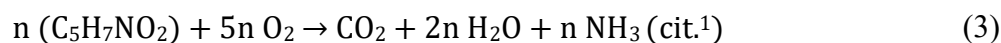


Biologickou spotřebu kyslíku, značíme zkratkou BSK a definujeme ji jako hmotnostní koncentraci rozpuštěného kyslíku, který je spotřebován za stanovených podmínek a v aerobním prostředí biologickou oxidací organických látek ve vodě.² V následující chemické rovnici je znázorněna oxidace organických látek (oxidace exogenního substrátu).



Po úplném biologickém rozkladu organických sloučenin, zbývá určité procento tzv. zbytkových látek. Tyto látky jsou za daných podmínek biochemicky rezistentní.¹ "Jsou produktem biologické

kého rozkladu a část těchto látek se uvolňuje z buněk inokula jejich autolýzou a autooxidací."¹ Autooxidace buněčného materiálu je znázorněna níže v chemické rovnici. Kde ($C_5H_7NO_2$) znázorňuje obecný vzorec biomasy, sestavený ve vzájemném poměru z nejdůležitějších prvků tvořících biomasu aktivního kalu.¹



3.2 Podstata zkoušky

"Roztok zkoušené organické látky jako jediný zdroj organického uhlíku a energie v minerálním médiu se očkuje relativně malým množstvím smíšené kultury mikroorganismů."¹⁷ Ty jsou nezbytné pro biochemickou oxidaci organických látek.²

Připraveným roztokem se plní skleněné lahvičky se zátkou s absolutní těsností tak, aby při jejich uzavření nevznikla uvnitř žádná vzduchová bublina. Bakterie mají k dispozici pouze zdroj kyslíku, který je obsažený v kyslíkem nasycené vodě.²

Pro zamezení nežádoucí fotosyntetické asimilace eventuálně přítomných řas, jejíž produkce kyslíku by mohla snížit hodnotu BSK, se vzorky vody inkubují ve tmě při konstantní teplotě 25 °C.² Biologický rozklad je sledován 28 dnů stanovením rozpuštěného kyslíku.¹⁷

3.3 Příprava inokula

U této normované zkoušky je používáno inokulum bez kalových vloček, které lze získat:

- z odtoků z čistíren městských nebo splaškových vod,
- z povrchových vod,
- z laboratorních modelů pracujících převážně se splaškovými odpadními vodami,
- použity mohou být i směsi různých zdrojů.¹⁷

Vzorek inokula je před zkouškou odebírán vždy čerstvý a během transportu do laboratoře se udržuje v aerobních podmínkách. Suspendované látky z odebraného vzorku se snadno odstraní jednodinovým usazováním nebo filtrací hrubým papírovým filtrem.¹⁷

Na zaočkování média je doporučován objem inokula, který se pohybuje od 1 kapky (přibližně 0,05 ml) až do 5 ml na jeden litr média.¹⁷ Volba vhodného objemu závisí na charakteru mikroorganismů, které musí vykazovat dostatečnou aktivitu k biologickému rozkladu; rozkládají tzv. srovnávací sloučeninu v dostatečné míře. Obsah aktivních buněk v 1 ml zvoleného inokula by měl být v rozsahu $10^3 - 10^6$.¹⁷

3.4 Platnost zkoušky

Rozdíl koncentrace kyslíku u slepého stanovení na začátku a po 28 dnech, nemůže přesáhnout hodnotu 1,5 mg/l. Vyšší hodnota výsledku vyžaduje kontrolu použitého inokula a celkového postupu. Inokulum se před metodou může upravit provzdušňováním po dobu 1 dne. Sníží se tak rozdíl hodnot slepého stanovení na začátku zkoušky a po 28 dnech. U platné zkoušky nemůže nikdy nastat, aby zbytková koncentrace rozpuštěného kyslíku v BSK lahvičkách byla nižší než 0,5 mg/l.¹⁷

Zkoušku považujeme za platnou, když jsou na jejím konci u dvou souběžných stanovení mezní rozdíly hodnot menší než 20 %. Jestliže u jednoho ze tří stanovení nastane mezní rozdíl více jak 20 %, je vyřazeno ze souboru. Po 14 dnech inkubace, musíme zaznamenat 60 % biologického rozkladu u srovnávací sloučeniny.¹⁷

Pokud po 14 dnech inkubace u zkoušky mezi zkoušenou a srovnávací sloučeninou zaznamenáme pouze 25 a méně % biologického rozkladu v TSK, resp. CHSK_{Cr}, znamená to, že sloučenina může působit inhibičně. Zkouška se opakuje s nižší volbou počáteční koncentrace těže látky.¹⁷

Výsledek nízkého procenta biologického rozkladu zkoušené látky ještě neznamená, že látka bude biologicky stabilní, a proto je nezbytné látku dále testovat.¹⁷

4 CÍLE PRÁCE

Cílem této bakalářské práce je optimalizovat metodu stanovení biologické rozložitelnosti organických látek ve vodném prostředí metodou popsanou v ČSN ISO 10707. Zvolený postup následně otestovat na reálném vzorku detergentu s nízkým obsahem organických dusíkatých povrchově aktivních látek polymerního charakteru.

Z údajů uvedených v normě vyplývá nutnost určit optimální koncentraci dávkování testovaného vzorku pro stanovení jeho biologického rozkladu a zvolit vhodný objem vybraného inokula pro zaočkování ředící vody.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 STANOVENÍ BSK

5.1 Chemikálie, roztoky a jejich příprava

Voda

Voda nesmí obsahovat inhibující koncentrace toxických látek a obsažený DOC může být detekován pouze pod 10 % počáteční koncentrace DOC zkoušené látky.¹⁷ Pro všechny zavedené testy byla použita destilovaná voda, která se vždy před použitím provzdušňovala přibližně 24 hodin, tak aby bylo dosaženo maximálního nasycení kyslíkem. Tato voda byla použita pro přípravu veškerých roztoků a ředění.

Minerální médium

K přípravě minerálního média, byly připraveny 4 roztoky o následujícím složení.

Roztok 1

První roztok (fosforečnanový tlumivý roztok s obsahem fosforu: 9,7 mg/ml) byl připraven rozpuštěním 8,5 g bezvodého dihydrogenfosforečnanu draselného (KH_2PO_4); 21,75 g bezvodého hydrogenfosforečnanu draselného (K_2HPO_4); 44,7 g dihydrátu dihydrogenfosforečnanu sodného ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) a 1,7 g chloridu amonného (NH_4Cl) v přibližně 200 ml destilované vody. Po rozpuštění všech přítomných látek, byl roztok doplněn destilovanou vodou do 1000 ml.¹⁷

Hodnota pH připraveného roztoku 1 byla 7,4.

Roztok 2

Roztok dva se připravil z 22,5 g heptahydrátu síranu hořečnatého ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), který byl rozpuštěn v přibližně 200 ml destilované vody, a poté destilovanou vodou doplněn do 1000 ml.¹⁷

Roztok 3

Při přípravě roztoku tři bylo naváženo 27,5 g bezvodého chloridu vápenatého (CaCl_2), který se rozpustil v přibližně 200 ml destilované vody. Roztok byl doplněn destilovanou vodou do 1000 ml.¹⁷

Roztok 4

Čtvrtý roztok byl připraven rozpuštěním 0,25 g hexahydrátu chloridu železitého ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) v přibližně 200 ml destilované vody. Po jeho rozpuštění, byl roztok doplněn destilovanou vodou do 1000 ml.¹⁷

K přípravě 1 litru minerálního média bylo použito po 1ml roztoků 1 až 4, které se přidaly do objemu destilované vody (přibližně 500 ml). Směs byla promíchána a doplněna destilovanou vodou do 1000 ml a znovu důkladně promíchána.¹⁷

N-allylthiomocovina (ATM)

ATM byla použita od výrobce Sigma-Aldrich. Zásobní roztok o objemu 50 ml se připravil rozpuštěním 0,05 g ATM v destilované vodě, jehož koncentrace činila 1 g/l.

Kontrolní sloučenina

Byla zvolena směs bezvodé D-glukózy ($C_6H_{12}O_6$) od dodavatele Ing. Petra Lukeše z Uherského Brodu a kyseliny glutamové ($C_5H_9NO_4$) od výrobce Spolchemie. Zásobní roztok kontrolní sloučeniny byl připraven o objemu 200 ml. V menším objemu destilované vody (přibližně 100 ml) se rozpustilo 30 mg D-glukózy a 30 mg kyseliny glutamové. Destilovanou vodou byl roztok doplněn do objemu 200 ml. Koncentrace zásobního roztoku pro kontrolní sloučeninu byla 0,3 g/l.

Zkoušená látka

Byl použit detergent obsahující jako tenzidovou složku nízkomolekulární polyamid dále barviva a parfém. Zkoušená látka o hmotnosti 0,4 g byla vpravena do odměrné baňky a doplněna destilovanou vodou do 200 ml. Míra ředění vzorku se zvolila podle popsaného postupu v České státní normě ISO 10707. Zásobní roztok zkoušené látky byl připraven o koncentraci 2 g/l.

5.2 Biologický materiál

Inokulum

Na zaočkování ředící vody u jednotlivých testů byla použita povrchová voda, odtoková voda a městská splašková voda v koncentraci 5 ml/l. Vzorky byly vždy čerstvě odebrané. Pro jejich úpravu se zvolila sedimentační metoda, kde došlo k usazení kalových vloček a nečistot na dně odběrových lahví.

Odběrová místa

Odběry inokul byly provedeny v Čistírně odpadních vod, Zlín – Malenovice a z řeky Dřevnice, Zlín. Vzorky se odebraly do sterilních skleněných lahví a během transportu do laboratoře se udržovaly v aerobních podmínkách.



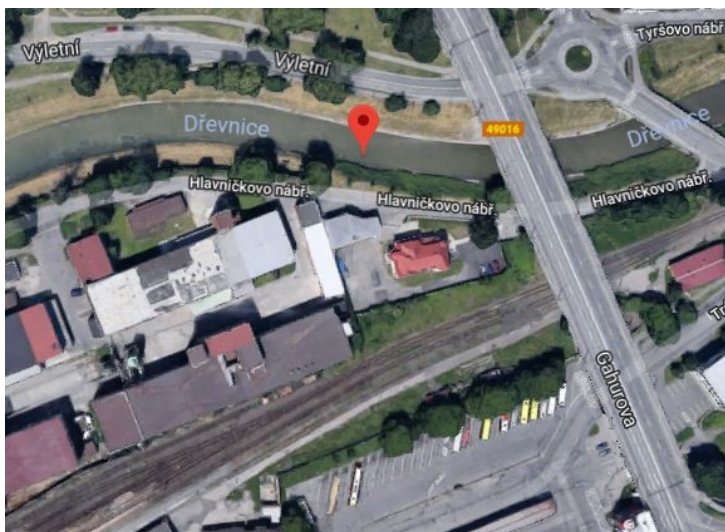
Obrázek 1: Mapa odběrového místa 1. Čistírna odpadních vod Zlín – Malenovice.¹⁹



Obrázek 2: Odběrové místo pro odtokovou vodu z Čistírny odpadních vod Zlín – Malenovice. (Šipka na obrázku 2 znázorňuje směr toku vody.)



Obrázek 3: Odběrové místo pro městskou splaškovou vodu z Čistírny odpadních vod Zlín – Malenovice. (Šipka na obrázku 3 znázorňuje směr toku vody.)



Obrázek 4: Mapa odběrového místa 2. Břeh řeky Dřevnice, Zlín.²⁰



Obrázek 5: Odběrové místo pro povrchovou vodu z řeky Dřevnice, Zlín. (Šipka na obrázku 5 znázorňuje směr toku vody.)

5.3 Přístroje a pomůcky

Přístroje:

Byl použit komorový termostat, pro udržení stálé teploty vzorků ve skleněných lahvičkách při inkubaci. Stanovení rozpuštěného kyslíku, se měřilo na zařízení oximetru OXI539 od firmy WTW.

Pomůcky:

Použily se kyslíkovky (dle Winklera) dále jen skleněné lahvičky se zátkou s absolutní těsností. U přípravy média se pracuje s velkými objemy kapalin, a tak byly zvoleny vhodné odměrné baňky o objemu 2 litry. Pro jednotlivé navážky chemikálií byly využívány analytické váhy značky Kern.

Dále se pak pracovalo s běžnými laboratorními pomůckami ve vybavené laboratoři.

5.4 Postup zkoušky

Příprava inokul

Inokula byla použita bez kalových vloček a nečistot. Bylo napipetováno 3x po 10 ml upraveného vzorku inokula do třech odměrných baněk o objemu 2 l s ředící očkovanou vodou, která byla

předem provzdušněna kyslíkem. Ředící očkovaná voda se připravila s výslednou koncentrací 5 ml/l.

Příprava roztoku zkoušené látky

Připravený zásobní roztok zkoušené látky o koncentraci 2 g/l se dávkoval po 2 ml do 2 l ředící očkované vody, tak aby jeho výsledná koncentrace činila 2 mg/l. Po průběžných testech byla tato koncentrace v posledním testování zvýšena dle hodnoty CHSK na 5 mg/l. Zde byl zásobní roztok zkoušené látky nadávkován po 12,6 ml do 2 l ředící očkované vody. Do takto připravených roztoků o objemech 2 l bylo nadávkováno po 4 ml ATM ze zásobního roztoku, pro zabránění nežádoucí nitrifikace. Výsledná nadávkovaná koncentrace ATM v roztoku činila 2 mg/l.

Příprava roztoku slepého stanovení

Roztok slepého stanovení byl připraven z ředící očkované vody o objemu 2 l, do kterého se přidaly 4 ml ATM ze zásobního roztoku. Výsledná nadávkovaná koncentrace ATM v roztoku byla 2 mg/l.

Příprava roztoku kontrolní sloučeniny

Připravil se zásobní roztok kontrolní sloučeniny, který obsahoval směs glukózy a kyseliny glutamové o koncentraci 0,3 g/l. Z tohoto zásobního roztoku bylo nadávkováno 40 ml do 2 l ředící očkované vody s výslednou koncentrací kontrolní sloučeniny 6 mg/l. Po průběžných testech se tato koncentrace v posledním testování snížila dle hodnoty CHSK na 5 mg/l. Zde byl zásobní roztok kontrolní sloučeniny nadávkován po 30,6 ml do 2 l ředící očkované vody. Do takto připravených roztoků o objemech 2 l bylo přidáno po 4 ml ATM ze zásobního roztoku, pro zabránění nežádoucí nitrifikace. Výsledná nadávkovaná koncentrace ATM v roztoku činila 2 mg/l.

Příprava BSK lahviček

Pro realizaci biodegradačního testu bylo připraveno celkem 24 skleněných lahviček se zátkou s absolutní těsností. Kde bylo rozděleno 8 lahviček pro zkoušenou látku, 8 lahviček pro kontrolní sloučeninu a 8 lahviček pro slepé stanovení. Připravené roztoky byly postupně nality do lahviček a uzavřeny tak, aby vevnitř neobsahovaly žádné vzduchové bubliny. Ještě před inkubací se lahvičky otočily dnem vzhůru a jejich uzávěry byly ponořeny pod vodu (Obrázek 6).



Obrázek 6: Naplněné skleněné lahvičky – kyslíkovky (dle Winklera), otočeny dnem vzhůru a připraveny k inkubaci.

Provedení zkoušky

Pomocí kyslíkové sondy se stanovila počáteční koncentrace rozpuštěného kyslíku pro zkoušenou látku, kontrolní sloučeninu a slepé stanovení v nultý den (tzn. v den zavedení zkoušky). Testy probíhaly ve zdvojeném měření spotřeby kyslíku po 7, 14, 21 a 28 dnech, kdy zkouška končí. Inkubovalo se ve tmě při teplotě 25 °C.

5.5 Výpočet biologického rozkladu

Biologická spotřeba kyslíku kontrolní sloučeniny (směsi) a reálného vzorku (dále jen zkoušeného vzorku) byla vyjádřena tak, že se vypočítala spotřeba kyslíku v každém časovém intervalu odečtením průměrné hodnoty koncentrace kyslíku slepého pokusu ze dvou stanovení od průměrné spotřeby kyslíku zkoušeného vzorku, a to pro každou lahvičku. Tato hodnota spotřeby byla vydělena koncentrací zkoušeného vzorku. Získaná hodnota specifické BSK je udávána v jednotkách mg spotřebovaného kyslíku na mg zkoušeného vzorku.¹⁷

Procento biologického rozkladu je vyjádřeno dělením hodnoty specifické BSK hodnotou specifické TSK. Hodnota TSK zkoušeného vzorku nemohla být vypočtena z důvodu neznámého složení zkoušeného vzorku, a tak byla nahrazena v laboratoři stanovenou hodnotou $CHSK_{Cr}$.¹⁷

Výpočet procentuální hodnoty biologického rozkladu je vyjádřen následující rovnicí.

$$D_t = \frac{(c_v - c_{v,t}) - (c_s - c_{s,t})}{TSK_{NH_3} \cdot c_{vz}} \quad (\text{cit.}^{17}) \quad (4)$$

Kde

- D_t je procento biologického rozkladu zkoušeného vzorku v čase t [%];
- c_v koncentrace rozpuštěného kyslíku ve skleněných lahvičkách zkoušeného vzorku v čase nula [mg/l];
- $c_{v,t}$ průměrná koncentrace rozpuštěného kyslíku ve skleněných lahvičkách zkoušeného vzorku v čase t [mg/l];
- c_s koncentrace rozpuštěného kyslíku ve skleněných lahvičkách slepého stanovení v čase nula [mg/l];
- $c_{s,t}$ průměrná koncentrace rozpuštěného kyslíku ve skleněných lahvičkách slepého stanovení v čase t [mg/l];
- TSK_{NH_3} teoretická spotřeba kyslíku bez nitrifikace [mg/mg], jestli-že hodnota nemůže být stanovena, nahradí se hodnotou $CHSK_{Cr}$ [mg/mg];
- c_{vz} koncentrace zkoušeného vzorku ve skleněných lahvičkách [mg/l].¹⁷

Současně byla vypočítaná i procentuální hodnota biologické rozložitelnosti kontrolní sloučeniny ze souběžné zkoušky. Zde se do vzorce dosadila vypočítaná hodnota TSK bez nitrifikace.

Výpočet TSK bez nitrifikace je dán rovnicí:

$$TSK_{NH_3} = \frac{16 \cdot [2C + \frac{1}{2}(H - Cl - 3N) + 3S + \frac{5}{2}P + \frac{1}{2}Na - O]}{Mr} \quad (\text{cit.}^{17}) \quad (5)$$

Kde

- TSK_{NH_3} je teoretická spotřeba kyslíku bez nitrifikace [mg/mg];
- Mr relativní molekulová hmotnost kontrolní sloučeniny;
- C, H, Cl, N, S, P, Na, O relativní molekulové hmotnosti prvků zastoupených v kontrolní sloučenině.

"Vzorec platí za následujících předpokladů: H se uvolňuje jako H_2O , C jako CO_2 , P jako P_2O_5 , Na jako Na_2O , Cl jako HCl a N jako NH_3 ."¹⁷

TSK se vyjadřuje v jednotkách mg kyslíku, který byl spotřebován na 1 mg zkoušené látky.¹⁷

Procenta biologických rozkladů se podle stanovení normy ČSN ISO 10707 zaokrouhlila na celá čísla.¹⁷

6 MIKROBIÁLNÍ TESTY

U odebraných inokul byly stanoveny počty psychrotrofních bakterií v jednotkách KTJ/ml (kolonii tvořící jednotka na mililitr vzorku). Kultivace proběhla na živném agaru R2A.

6.1 Postup testu

Příprava živného agaru (R2A)

Na přípravu R2A agaru se použila již hotová předpřipravená směs M962 – 500G od výrobce HiMedia o následujícím složení:

- Enzymatický hydrolyzát kaseinu	0,0625 g
- Masový pepton	0,0625 g
- Hydrolyzát kaseinové kyseliny	0,1250 g
- Kvasničný extrakt	0,1250 g
- Glukóza (C ₆ H ₁₂ O ₆)	0,1250 g
- Škrob (C ₆ H ₁₀ O ₅) _n	0,1250 g
- Hydrogenfosforečnan draselný (K ₂ HPO ₄)	0,0075 g
- Síran hořečnatý heptahydrát (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	0,1250 g
- Pyrohroznan sodný (C ₃ H ₃ NaO ₃)	0,0075 g
- Agar	3,7500 g

Navážka 4,5 g směsi M62 - 500 G byla rozpuštěna v 250 ml destilované vody. Směs se nechala sterilizovat v autoklávu při teplotě 120 °C po dobu 15 minut. Po zchladnutí na laboratorní teplotu, byl agar rozlit do Petriho misek a vysušen.

Příprava fyziologického roztoku

Navážka 0,86 g chloridu sodného (NaCl) byla rozpuštěna ve 100 ml destilované vody a sterilizována v autoklávu při teplotě 120 °C po dobu 15 minut.

Použité vzorky

Test č. 1 - odběr 19.3.2018

- Odtoková voda, Čistírna odpadních vod, Zlín – Malenovice.
- Městská splašková voda, Čistírna odpadních vod, Zlín – Malenovice.

Test č. 2 - odběr 3.7.2018

- Odtoková voda, Čistírna odpadních vod, Zlín – Malenovice.
- Povrchová voda, řeka Dřevnice, Zlín.

Test č. 3 - odběr 8.3.2019

- Odtoková voda, Čistírna odpadních vod, Zlín – Malenovice.
- Povrchová voda, řeka Dřevnice, Zlín.

Očkování vzorků

Vzorky inokul byly před očkováním zředěny fyziologickým roztokem a následně naočkovány na připravené Petriho misky s R2A agarem.

Inkubace

Petriho misky s naočkovánými vzorky byly vloženy dnem vzhůru do termostatu. Inkubace proběhla při teplotě 25 °C po dobu 7 dnů.

6.1.1 Test č. 1**Stanovení 1**

Inokulum: odtoková voda z Čistírny odpadních vod, Zlín – Malenovice.

Odběr: 19.3.2018

Vzorek byl naředěn a naočkován po 0,1 ml do Petriho misek na připravený R2A agar v ředění 10^{-3} , 10^{-4} a 10^{-5} ve zdvojeném stanovení. Vzorky zředěného inokula naočkovaných na živnou půdu se nechaly inkubovat. Průměrný počet narostlých kolonií psychrotrofních bakterií po inkubaci byl spočten na vhodném ředění vzorku 10^{-3} .

Stanovení 2

Inokulum: městská splašková voda z Čistírny odpadních vod, Zlín – Malenovice.

Odběr: 19.3.2018

Vzorek byl naředěn a naočkován po 0,1 ml do Petriho misek na připravený R2A agar v ředění 10^{-5} , 10^{-6} a 10^{-7} ve zdvojeném stanovení. Vzorky zředěného inokula naočkovaných na živnou půdu se nechaly inkubovat. Průměrný počet narostlých kolonií psychrotrofních bakterií po inkubaci byl spočten na vhodném ředění vzorku 10^{-5} .

6.1.2 Test č. 2

Stanovení 3

Inokulum: odtoková voda z Čistírny odpadních vod, Zlín – Malenovice.

Odběr: 3.7.2018

Vzorek byl naředěn a naočkován po 0,1 ml do Petriho misek na připravený R2A agar v ředění 10^{-3} , 10^{-4} a 10^{-5} ve zdvojeném stanovení. Vzorky zředěného inokula naočkovaných na živnou půdu se nechaly inkubovat. Průměrný počet narostlých kolonií psychrotrofních bakterií po inkubaci byl spočten na vhodném ředění vzorku 10^{-3} .

Stanovení 4

Inokulum: povrchová voda z řeky Dřevnice, Zlín.

Odběr: 3.7.2018

Vzorek byl naředěn a naočkován po 0,1 ml do Petriho misek na připravený R2A agar v ředění 10^{-3} , 10^{-4} a 10^{-5} ve zdvojeném stanovení. Vzorky zředěného inokula naočkovaných na živnou půdu se nechaly inkubovat. Průměrný počet narostlých kolonií psychrotrofních bakterií po inkubaci byl spočten na vhodném ředění vzorku 10^{-4} .

6.1.3 Test č. 3

Stanovení 5

Inokulum: odtoková voda z Čistírny odpadních vod, Zlín – Malenovice.

Odběr: 8.3.2019

Vzorek byl naředěn a naočkován po 0,1 ml do Petriho misek na připravený R2A agar v ředění 10^{-2} , 10^{-3} a 10^{-4} ve zdvojeném stanovení. Vzorky zředěného inokula naočkovaných na živnou půdu se nechaly inkubovat. Průměrný počet narostlých kolonií psychrotrofních bakterií po inkubaci byl spočten na vhodném ředění vzorku 10^{-2} .

Stanovení 6

Inokulum: povrchová voda z řeky Dřevnice, Zlín.

Odběr: 8.3.2019

Vzorek byl naředěn a naočkován po 0,1 ml do Petriho misek na připravený R2A agar v ředění 10^{-3} , 10^{-4} a 10^{-5} ve zdvojeném stanovení. Vzorky zředěného inokula naočkovaných na živnou půdu se nechaly inkubovat. Průměrný počet narostlých kolonií psychrotrofních bakterií po inkubaci byl spočten na vhodném ředění vzorku 10^{-3} .

7 STANOVENÍ $CHSK_{Cr}$

Při stanovení chemické spotřeby kyslíku je zkoušená látka oxidována za standardních podmínek mineralizací s kyselinou sírovou (H_2SO_4) a dichromanem draselným ($K_2Cr_2O_7$) za přítomnosti síranu stříbrného (Ag_2SO_4) a síranu rtuťnatého ($HgSO_4$). U oxidace odolnějších organických látek, působí stříbro jako katalyzátor. Pomocí rtuti, dochází ke snížení rušivých vlivů, způsobených přítomností chloridů. Změřená absorbance vzniklého trojmocného chromu při vlnové délce 600 nm je přepočítána na hodnotu $CHSK_{Cr}$, která udává množství dichromanu spotřebovaného pro oxidaci vzorku.²¹

7.1 Chemikálie, roztoky a jejich příprava

Ředící voda

U přípravy potřebných roztoků, slepého stanovení, kontrolního stanovení a k ředění zkoušené látky, byla použita destilovaná voda.

Oxidační roztok

Roztok byl připraven o objemu 500 ml. Do 350 ml ředící vody se vpravilo 5,1080 g dichromanu draselného ($K_2Cr_2O_7$), který byl předem 2 hodiny vysušen při teplotě 105 °C. Bylo přidáno 83,5 ml koncentrované kyseliny sírové (H_2SO_4) a 16,65 g síranu rtuťnatého ($HgSO_4$). Oxidační roztok byl dokonale promíchán do rozpuštění všech přítomných látek. Nechal se zchladnout na laboratorní teplotu a poté byl doplněn ředící vodou do objemu 500 ml.²²

Katalyzátorový roztok

Do koncentrované kyseliny sírové (H_2SO_4) o objemu 1 l se vpravil síran stříbrný (Ag_2SO_4) o hmotnosti 10 g. Nádoba s roztokem se pečlivě uzavřela a nechala stát dva dny.²² Následně byl katalyzátorový roztok připraven k použití.

Hydrogenftalan draselný (KHF)

KHF je standardní zásobní roztok o $CHSK_{Cr} = 1000$ mg/l. Hydrogenftalan draselný byl před přípravou roztoku vysušen při teplotě 120 °C do konstantní hmotnosti. Roztok byl připraven rozpuštěním 0,4255 g KHF v malém objemu ředící vody a poté doplněn do objemu 500 ml.²²

7.2 Pístroje a pomůcky

Pístroje

Byl použit mineralizační blok Lovibond RD 125 s kapacitou 24 zkumavek, který umožňuje udržet potřebnou konstantní teplotu na 150 °C.

Měření absorbance při 600 nm proběhlo na fotometru HACH DR/2010.

Pomůcky

Použily se zkumavky pro mineralizaci z kyselinovzdorného skla, které jsou odolné vůči tlaku 600 kPa při 150 °C.

Na dávkování chemikálií a činidel byly použity příslušné pipety k odpovídajícímu objemu dávkování.

Dále se pracovalo s běžným laboratorním vybavením.

7.3 Postup zkoušky

Příprava vzorků

Slepé stanovení

Do třech zkumavek se odpipetovalo po 3 ml katalyzátorového roztoku, 2 ml ředící vody a 1 ml oxidačního roztoku.

Kontrolní stanovení

Do dalších třech zkumavek bylo odpipetováno po 3 ml katalyzátorového roztoku, 1 ml ředící vody, 1 ml oxidačního roztoku a 1 ml hydrogenftalanu draselného.

Zkoušená látka

V odměrné baňce o objemu 200 ml byl připraven zásobní roztok zkoušené látky o koncentraci 2,526 g/l. Dávkování proběhlo v ředění 1:1, kde se do třech zkumavek odpipetovalo po 1 ml zásobního roztoku zkoušené látky a 1 ml ředící vody. Do každé zkumavky bylo přidáno 1 ml oxidačního roztoku a 3 ml katalyzátorového roztoku.

Příprava k mineralizaci

Příprava zkoušené látky, slepého stanovení a kontrolního stanovení proběhla ve třech souběžných testech. U zkumavek bylo dbáno na čistotu závitů, tak aby nebyly potřísněny chemikáliemi. Po nasazení a řádném utažení uzávěru, se zkumavky opláchly destilovanou vodou a byly utřeny

papírovou utěrkou do sucha. Před vložením zkumavek do přístroje pro mineralizaci, se naposledy promíchal jejich obsah.

Mineralizace

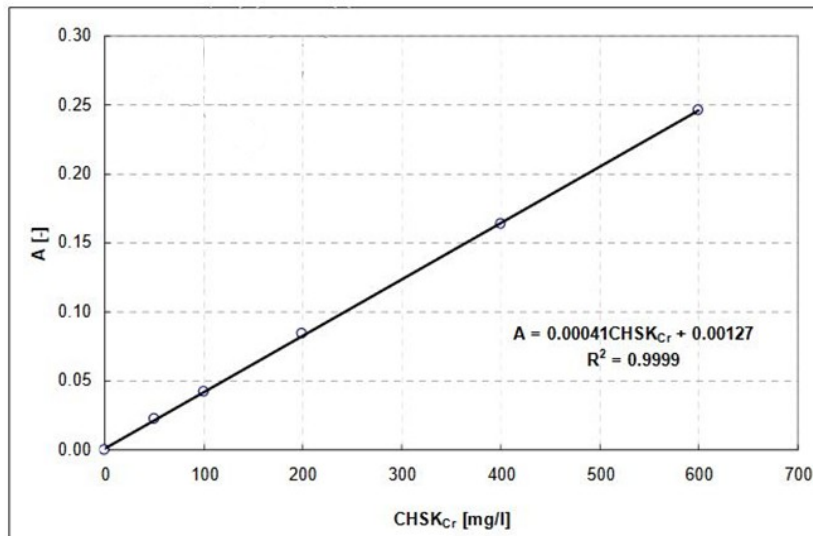
Zkumavky byly vloženy do mineralizačního bloku předehřátého na 150 °C, kde se mineralizovaly po dobu dvou hodin. Po uplynutí stanovené doby byly vytaženy z přístroje a stále uzavřené se ponechaly vychladnout na laboratorní teplotu. Během chladnutí byl jejich obsah několikrát promíchán. Poté proběhlo konečné fotometrické stanovení.

Fotometrické stanovení

Použitý fotometr je schopen měřit absorbanci vzorku přímo v uzavřené zkumavce, a zkumavky tak využít jako kyvety. Proto zde nebylo potřeba přelévat roztok do samostatné kyvety. Před vložením do přístroje se zkumavky očistily jemným hadříkem z vnějších stran tak, aby nedošlo k jejich poškrábání. S přístrojem se pracovalo podle přiloženého návodu od výrobce. U vzorků byla změřena jejich hodnota absorbance při 600 nm. Měření proběhlo proti čisté destilované vodě.

7.4 Výpočet $CHSK_{Cr}$

Hodnota $CHSK_{Cr}$ byla vypočítána jako hmotnostní koncentrace kyslíku pomocí rovnice regrese, znázorněné na obrázku 7. Hmotnostní koncentrace kyslíku udává ekvivalentní množství spotřebovaného dichromanu draselného při oxidaci organických látek ve vzorku.²² Hodnota $CHSK_{Cr}$ byla uvedena v jednotkách mg kyslíku na litr [mg/l] a přepočítána na jednotku miligram spotřebovaného kyslíku O_2 na 1 gram testované látky [mg/g].²¹



Obrázek 7: Kalibrační křivka pro stanovení CHSK_{Cr} v rozsahu 0–600 mg/l: 16mm zkumavky.²²

Výpočet CHSK_{Cr} z kalibrační křivky pro stanovení CHSK_{Cr} v rozsahu 0–600 mg/l (16mm zkumavky) je uveden níže.

$$\text{CHSK}_{Cr} = \frac{(A_{VZ} - A_{SL}) - 0,00127}{0,00041} \quad (6)$$

Kde

CHSK_{Cr} je chemická spotřeba kyslíku – oxidace dichromanem draselným [mg/l];

A_{VZ} průměrná hodnota absorpance zkoušené látky;

A_{SL} průměrná hodnota absorpance slepého stanovení.

8 VÝSLEDKOVÁ ČÁST

8.1 CHSK_{Cr}

Průměrná hodnota absorbance u zkoušené látky byla naměřena 0,207 a u slepého stanovení 0,018. Hodnota CHSK_{Cr} zkoušené látky – detergentu obsahujícího nízkomolekulární polyamid, barviva a parfém byla 362,3 mg/g.

8.2 Mikrobiální testy

8.2.1 Test č. 1

Stanovení 1 - pro odtokovou vodu z Čistírny odpadních vod, Zlín – Malenovice.

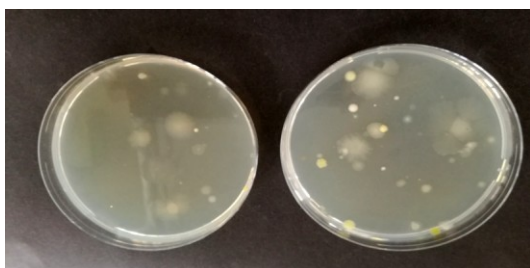
- odběr inokula: 19.3.2018

Průměrný počet narostlých kolonií psychrotrofních bakterií po inkubaci byl $5,1 \cdot 10^4$ KTJ/ml.

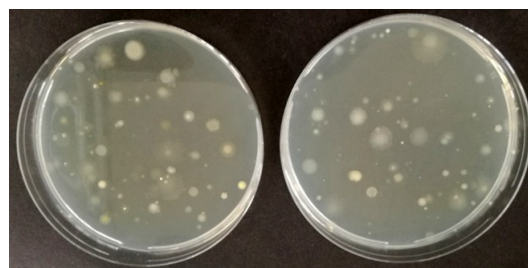
Stanovení 2 - pro městskou splaškovou vodu z Čistírny odpadních vod, Zlín – Malenovice.

- odběr inokula: 19.3.2018

Průměrný počet narostlých kolonií psychrotrofních bakterií po inkubaci byl $1,05 \cdot 10^7$ KTJ/ml.



Obrázek 8: Narostlé kolonie psychrotrofních bakterií po inkubaci v ředění 10^{-3} – odtoková voda z ČOV Zlín – Malenovice (19.3.2018).



Obrázek 9: Narostlé kolonie psychrotrofních bakterií po inkubaci v ředění 10^{-5} – městská splašková voda z ČOV Zlín – Malenovice (19.3.2018).

8.2.2 Test č. 2

Stanovení 3 - pro odtokovou vodu z Čistírny odpadních vod, Zlín – Malenovice.

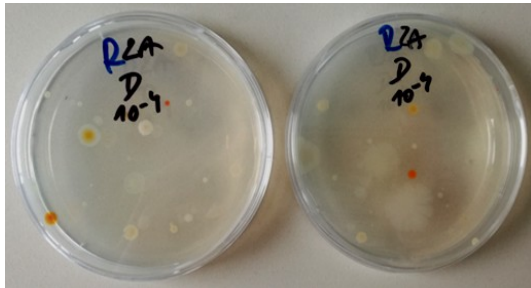
- odběr inokula: 3.7.2018

Průměrný počet narostlých kolonií psychrotrofních bakterií po inkubaci byl $4,1 \cdot 10^5$ KTJ/ml.

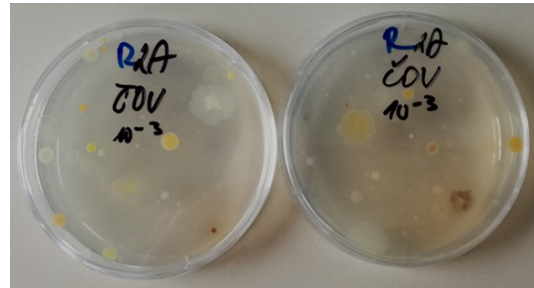
Stanovení 4 - pro povrchovou vodu z řeky Dřevnice, Zlín.

- odběr inokula: 3.7.2018

Průměrný počet narostlých kolonií psychrotrofních bakterií po inkubaci byl $6,2 \cdot 10^4$ KTJ/ml.



Obrázek 10: Narostlé kolonie psychrotrofních bakterií po inkubaci v ředění 10^{-4} – odtoková voda z ČOV Zlín – Malenovice (3.7.2018).



Obrázek 11: Narostlé kolonie psychrotrofních bakterií po inkubaci v ředění 10^{-3} – povrchová voda z řeky Dřevnice, Zlín (3.7.2018).

8.2.3 Test č. 3

Stanovení 5 - pro odtokovou vodu z Čistírny odpadních vod, Zlín – Malenovice.

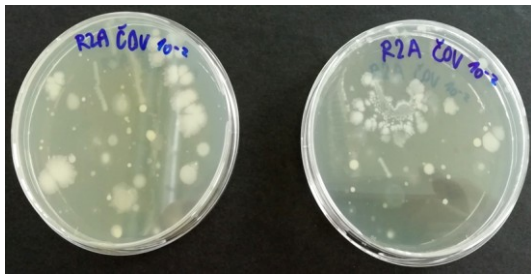
- odběr inokula: 8.3.2019

Průměrný počet narostlých kolonií psychrotrofních bakterií po inkubaci byl $1,07 \cdot 10^4$ KTJ/ml.

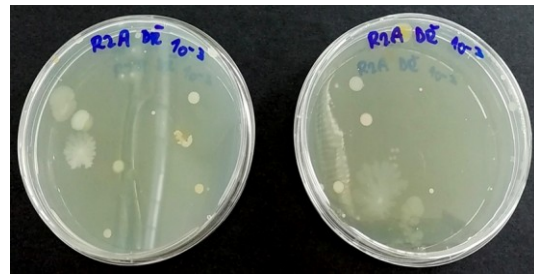
Stanovení 6 - pro povrchovou vodu z řeky Dřevnice, Zlín.

- odběr inokula: 8.3.2019

Průměrný počet narostlých kolonií psychrotrofních bakterií po inkubaci byl $4,1 \cdot 10^4$ KTJ/ml.



Obrázek 12: Narostlé kolonie psychrotrofních bakterií po inkubaci v ředění 10^{-2} – odtoková voda z ČOV Zlín – Malenovice (8.3.2019).



Obrázek 13: Narostlé kolonie psychrotrofních bakterií po inkubaci v ředění 10^{-3} – povrchová voda z řeky Dřevnice, Zlín (8.3.2019).

8.3 BSK

Legenda k tabulkám 1 – 14:

c koncentrace látky [mg/l];

c_{O_2} koncentrace rozpuštěného kyslíku [mg/l];

\bar{c}_{O_2} průměrná koncentrace rozpuštěného kyslíku [mg/l];

D_t procento biologického rozkladu pro kontrolní sloučeninu a zkoušenou látku v čase t [%].

8.3.1 Test č. 1 – povrchová voda

Použité inokulum: povrchová voda z řeky Dřevnice, Zlín.

Odběr inokula: 10.11.2017

Koncentrace kontrolní sloučeniny: 7,687 mg/l

Koncentrace zkoušené látky: 2,035 mg/l

Koncentrace ATM: 2,125 mg/l

Tabulka 1: Test č.1 – naměřené hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku v slepém stanovení, kontrolní sloučenině a zkoušené látce.

Den	Slepé stanovení			Kontrolní sloučenina			Zkoušená látka		
	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]
0	1	8,11	8,11	1	8,09	8,09	1	8,24	8,24
7	1	7,74	7,88	1	2,51	2,51	1	7,90	7,98
	2	8,01		2	2,50		2	8,05	
14	1	7,47	7,61	1	1,77	1,78	1	7,52	7,48
	2	7,75		2	1,79		2	7,43	
21	1	7,12	7,23	1	1,51	1,50	1	7,33	7,30
	2	7,34		2	1,49		2	7,26	
28	1	7,10	7,21	1	1,19	1,26	1	7,30	7,21
	2	7,32		2	1,32		2	7,12	

Tabulka 2: Test č.1 – procento biologického rozkladu kontrolní sloučeniny a zkoušené látky v jednotlivých dnech.
(průměr ± směrodatná odchylka)

Den	Kontrolní sloučenina*	Zkoušená látka
	D _t [%]	D _t [%]
0	0	0
7	68 ± 1,27	4 ± 0,08
14	74 ± 1,65	36 ± 0,13
21	73 ± 1,27	9 ± 0,10
28	75 ± 0,57	18 ± 0,03

*směs: D-glukóza (c = 3,890 mg/l) + kyselina glutamová (c = 3,797 mg/l)

8.3.2 Test č. 2 – odtoková voda

Použité inokulum: odtoková voda z Čistírny odpadních vod, Zlín – Malenovice.

Odběr inokula: 19.3.2018

Koncentrace kontrolní sloučeniny: 6,720 mg/l

Koncentrace zkoušené látky: 1,999 mg/l

Koncentrace ATM: 1,881 mg/l

Tabulka 3: Test č.2 – naměřené hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku v slepém stanovení, kontrolní sloučenině a zkoušené látce.

Den	Slepé stanovení			Kontrolní sloučenina			Zkoušená látka		
	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]
0	1	7,80	7,80	1	7,18	7,18	1	7,20	7,20
7	1	7,62	7,55	1	2,84	2,87	1	6,92	6,93
	2	7,48		2	2,89		2	6,94	
14	1	7,53	7,50	1	2,73	2,74	1	6,83	6,87
	2	7,46		2	2,74		2	6,90	
21	1	7,50	7,48	1	2,39	2,35	1	6,80	6,82
	2	7,45		2	2,30		2	6,84	
28	1	7,46	7,45	1	2,23	2,21	1	7,05	6,73
	2	7,44		2	2,19		2	6,40	

Tabulka 4: Test č.2 – procento biologického rozkladu kontrolní sloučeniny a zkoušené látky v jednotlivých dnech.

(průměr ± směrodatná odchylka)

Den	Kontrolní sloučenina*	Zkoušená látka
	D _t [%]	D _t [%]
0	0	0
7	59 ± 0,01	3 ± 0,80
14	60 ± 0,01	4 ± 0,01
21	65 ± 0,01	8 ± 0,01
28	67 ± 0,01	17 ± 0,44

*směs: D-glukóza (c = 3,790 mg/l) + kyselina

glutamová (c = 2,930 mg/l)

8.3.3 Test č. 3 – městská splašková voda

Použité inokulum: městská splašková voda z Čistírny odpadních vod, Zlín – Malenovice.

Odběr inokula: 19.3.2018

Koncentrace kontrolní sloučeniny: 6,720 mg/l

Koncentrace zkoušené látky: 1,999 mg/l

Koncentrace ATM: 1,881 mg/l

Tabulka 5: Test č.3 – naměřené hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku v slepém stanovení, kontrolní sloučenině a zkoušené látce.

Den	Slepé stanovení			Kontrolní sloučenina			Zkoušená látka		
	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]
0	1	8,02	8,02	1	8,12	8,12	1	8,17	8,17
7	1	6,84	6,89	1	2,53	2,53	1	6,80	6,85
	2	6,93		2	2,53		2	6,90	
14	1	6,77	6,79	1	2,24	2,26	1	6,62	6,69
	2	6,80		2	2,27		2	6,75	
21	1	6,96	6,91	1	1,98	2,10	1	6,67	6,66
	2	6,86		2	2,22		2	6,64	
28	1	7,00	6,97	1	1,95	1,96	1	6,65	6,64
	2	6,94		2	1,96		2	6,63	

Tabulka 6: Test č.3 – procento biologického rozkladu kontrolní sloučeniny a zkoušené látky v jednotlivých dnech.

(průměr ± směrodatná odchylka)

Den	Kontrolní sloučenina*	Zkoušená látka
	D _t [%]	D _t [%]
0	0	0
7	65 ± 0,01	26 ± 0,01
14	67 ± 0,01	35 ± 0,06
21	71 ± 0,01	56 ± 0,05
28	74 ± 0,01	66 ± 0,03

*směs: D-glukóza (c = 3,790 mg/l) + kyselina glutamová (c = 2,930 mg/l)

8.3.4 Test č. 4 – odtoková voda

Použité inokulum: Odtoková voda z Čistírny odpadních vod, Zlín – Malenovice.

Odběr inokula: 3.7.2018

Koncentrace kontrolní sloučeniny: 6,353 mg/l

Koncentrace zkoušené látky: 2,158 mg/l

Koncentrace ATM: 2,241 mg/l

Tabulka 7: Test č.4 – naměřené hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku v slepém stanovení, kontrolní sloučenině a zkoušené látce.

Den	Slepé stanovení			Kontrolní sloučenina			Zkoušená látka		
	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]
0	1	7,68	7,68	1	7,73	7,73	1	7,76	7,76
7	1	7,40	7,33	1	3,19	3,07	1	6,84	6,96
	2	7,26		2	2,95		2	7,08	
14	1	6,88	7,03	1	2,33	2,31	1	6,75	6,81
	2	7,18		2	2,28		2	6,86	
21	1	7,19	7,16	1	2,32	2,25	1	6,75	6,74
	2	7,13		2	2,18		2	6,72	
28	1	7,42	7,39	1	2,25	2,22	1	6,98	6,95
	2	7,36		2	2,19		2	6,91	

Tabulka 8: Test č.4 – procento biologického rozkladu kontrolní sloučeniny a zkoušené látky v jednotlivých dnech.

(průměr ± směrodatná odchylka)

Den	Kontrolní sloučenina*	Zkoušená látka
	D _t [%]	D _t [%]
0	0	0
7	67 ± 0,01	58 ± 0,06
14	74 ± 0,02	39 ± 0,12
21	77 ± 0,01	65 ± 0,02
28	81 ± 0,01	67 ± 0,01

*směs: D-glukóza (c = 3,083 mg/l) + kyselina

glutamová (c = 3,270 mg/l)

8.3.5 Test č. 5 – povrchová voda

Použité inokulum: povrchová voda z řeky Dřevnice, Zlín.

Odběr inokula: 3.7.2018

Koncentrace kontrolní sloučeniny: 6,353 mg/l

Koncentrace zkoušené látky: 2,158 mg/l

Koncentrace ATM: 2,241 mg/l

Tabulka 9: Test č.5 – naměřené hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku v slepém stanovení, kontrolní sloučenině a zkoušené látce.

Den	Slepé stanovení			Kontrolní sloučenina			Zkoušená látka		
	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]
0	1	7,53	7,53	1	7,67	7,67	1	7,53	7,53
7	1	7,53	7,08	1	2,91	2,89	1	7,01	6,98
	2	7,18		2	2,87		2	6,95	
14	1	6,98	6,88	1	2,68	2,45	1	6,73	6,69
	2	6,80		2	2,22		2	6,64	
21	1	6,95	7,02	1	2,03	2,02	1	6,96	6,74
	2	6,90		2	2,00		2	6,51	
28	1	7,14	7,24	1	2,14	2,18	1	7,36	7,29
	2	7,18		2	2,22		2	7,21	

Tabulka 10: Test č.5 – procento biologického rozkladu kontrolní sloučeniny a zkoušené látky v jednotlivých dnech.

(průměr ± směrodatná odchylka)

Den	Kontrolní sloučenina*	Zkoušená látka
	D _t [%]	D _t [%]
0	0	0
7	67 ± 0,01	13 ± 0,09
14	70 ± 0,02	24 ± 0,04
21	79 ± 0,02	37 ± 0,13
28	80 ± 0,01	-6 ± 0,03

*směs: D-glukóza (c = 3,083 mg/l) + kyselina

glutamová (c = 3,270 mg/l)

8.3.6 Test č. 6 – odtoková voda

Použité inokulum: odtoková voda z Čistírny odpadních vod, Zlín – Malenovice.

Odběr inokula: 8.3.2019

Koncentrace kontrolní sloučeniny: 4,889 mg/l (2,25 mg CHSK_{Cr}/l D-glukóza + 2,76 mg CHSK_{Cr}/l kyselina glutamová)

Koncentrace zkoušené látky: 13,898 mg/l (5,04 mg CHSK_{Cr}/l)

Koncentrace ATM: 2,127 mg/l

Tabulka 11: Test č.6 – naměřené hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku v slepém stanovení, kontrolní sloučenině a zkoušené látce.

Den	Slepé stanovení			Kontrolní sloučenina			Zkoušená látka		
	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]
0	1	8,22	8,22	1	8,27	8,27	1	8,25	8,25
7	1	7,73	7,76	1	3,95	4,01	1	5,65	5,66
	2	7,78		2	4,06		2	5,67	
14	1	7,55	7,57	1	3,69	3,71	1	4,48	4,46
	2	7,59		2	3,73		2	4,44	
21	1	7,43	7,41	1	3,08	3,08	1	3,77	3,79
	2	7,39		2	3,07		2	3,80	
28	1	7,11	7,10	1	2,59	2,62	1	3,33	3,36
	2	7,09		2	2,64		2	3,39	

Tabulka 12: Test č.6 – procento biologického rozkladu kontrolní sloučeniny a zkoušené látky v jednotlivých dnech.

(průměr ± směrodatná odchylka)

Den	Kontrolní sloučenina*	Zkoušená látka
	D _t [%]	D _t [%]
0	0	0
7	76 ± 0,01	42 ± 0,01
14	78 ± 0,01	62 ± 0,01
21	87 ± 0,01	73 ± 0,01
28	90 ± 0,01	75 ± 0,01

*směs: D-glukóza (c = 2,592 mg/l) + kyselina glutamová (c = 2,297 mg/l)

8.3.7 Test č. 7 – povrchová voda

Použité inokulum: povrchová voda z řeky Dřevnice, Zlín.

Odběr inokula: 8.3.2019

Koncentrace kontrolní sloučeniny: 4,889 mg/l (2,25 mg CHSK_{Cr}/l D-glukóza + 2,76 mg CHSK_{Cr}/l kyselina glutamová)

Koncentrace zkoušené látky: 13,898 mg/l (5,04 mg CHSK_{Cr}/l)

Koncentrace ATM: 2,127 mg/l

Tabulka 13: Test č.7 – naměřené hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku v slepém stanovení, kontrolní sloučenině a zkoušené látce.

Den	Slepé stanovení			Kontrolní sloučenina			Zkoušená látka		
	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]	Měření	c O ₂ [mg/l]	Øc O ₂ [mg/l]
0	1	8,13	8,13	1	8,24	8,24	1	8,17	8,17
7	1	7,89	7,91	1	4,19	4,15	1	5,61	5,63
	2	7,93		2	4,10		2	5,65	
14	1	7,79	7,81	1	3,95	3,93	1	4,82	4,81
	2	7,82		2	3,90		2	4,80	
21	1	7,58	7,56	1	3,20	3,23	1	4,43	4,46
	2	7,53		2	3,25		2	4,49	
28	1	7,37	7,55	1	2,86	2,88	1	4,21	4,20
	2	7,36		2	2,90		2	4,19	

Tabulka 14: Test č.7 – procento biologického rozkladu kontrolní sloučeniny a zkoušené látky v jednotlivých dnech.
(průměr ± směrodatná odchylka)

Den	Kontrolní sloučenina*	Zkoušená látka
	D _t [%]	D _t [%]
0	0	0
7	77 ± 0,01	46 ± 0,01
14	80 ± 0,01	60 ± 0,01
21	89 ± 0,01	62 ± 0,01
28	95 ± 0,03	67 ± 0,03

*směs: D-glukóza (c = 2,592 mg/l) + kyselina glutamová (c = 2,297 mg/l)

9 DISKUZE VÝSLEDKŮ

Byla provedena optimalizace postupu stanovení biologické rozložitelnosti organických látek ve vodném prostředí dle ČSN ISO 10707 - metoda stanovení biologické spotřeby kyslíku v uzavřených lahvičkách. Zvolený postup byl ověřen při stanovení biologické rozložitelnosti testované látky v podobě detergentu, jehož tenzidovou složkou byl nízkomolekulární polyamid dále barviva a parfém.

U všech provedených testů na biologické rozložitelnosti byly zkontrolovány podmínky stanovené normou, kde úbytek koncentrace kyslíku při slepém stanovení po 28 dnech nepřesáhl hodnotu 1,5 mg/l. Zbytková koncentrace rozpuštěného kyslíku ve skleněných lahvičkách neklesla pod 0,5 mg/l a biologický rozklad kontrolní sloučeniny (směs D-glukózy a kyseliny glutamové) dosáhl 60 % po 14 dnech inkubace. Zkoušky tímto splnily podmínky stanovení biologické rozložitelnosti dle ČSN ISO 10707.

Přehled výsledků z vypočtených procent biologických rozkladů zaznamenaných v tabulkách (Tabulka 2, 4, 6, 8, 10, 12) byl vyjádřen pomocí grafických závislostí (Obrázek 14 – 17), do kterých se vynesly průměrné procenta biologických rozkladů pro kontrolní sloučeninu a zkoušenou látku v závislosti na čase.

Ze vzniklých křivek je možné odečíst parametry, které popisují biologický rozklad, a to zejména lag fázi, která je charakterizovaná jako doba od začátku inokulace až do dosažení přibližně 10 % v rozkladu TSK, popřípadě $CHSK_{Cr}$ a je udávána ve dnech.¹⁷ Nicméně, vzhledem k intervalům měření udávaných normou, lze zaznamenat až lagovou fázi delší jak 7 dní. U kontrolní sloučeniny ani u zkoušené látky (detergentu) nebyla zaznamenána lagová fáze delší jak 7 dní.

Z naměřených biodegradačních křivek lze také určit úroveň fáze maximálního stupně rozkladu, který nastává tehdy, kdy už neprobíhá další biologický rozklad látky během zkoušky. Doba rozkladu definuje úsek od konce lag fáze do doby dosažení 90 % rozkladu a je uváděna ve dnech.¹⁷ Vzhledem k zaměření bakalářské práce nebyla tato data vyhodnocována.

U přípravy k zaočkování média, byla zvolena tři inokula, a to povrchové vody, odtokové a městské splaškové vody. Inokula byla vybírána s ohledem na snadnou dostupnost, pokud možno s minimální proměnlivostí a s předpokladem dobrého mikrobiálního oživení.

Norma stanovuje koncentraci inokula od jedné kapky (přibližně 0,05 ml) do 5 ml na 1 litr média. Zvolení optimálního objemu inokula je v normě odkázáno na experimentální stanovení a není blíže specifikováno. Za vhodný objem je v poznámkách normy označován objem obsahující $10^3 - 10^6$ aktivních buněk v 1 ml. Z tohoto důvodu byla kvalita vody z pohledu mikrobiálního zastoupení hodnocena pomocí mikrobiologických testů. Testované inokula obsahovala $10^4 - 10^5$ aktivních buněk v 1 ml s výjimkou inokula městské splaškové vody odebraného dne 19.3.2018, které vykazovalo, podle očekávání, vysoké mikrobiální zastoupení s výsledným průměrným počtem $1,05 \cdot 10^7$ KTJ/ml.

Norma udává bezpečnostní opatření, které obsahuje výstrahu při manipulaci se splaškovou odpadní vodou, která může obsahovat potenciálně patogenní organismy, a proto tato práce se splaškovou vodou byla vyhodnocena jako nevhodná, i přes dobré výsledky testů biologické rozložitelnosti.

Na základě mikrobiologických testů byla tedy při jednotlivém testování biologické rozložitelnosti použita koncentrace inokula 5 ml/l. Následné biodegradační testy s kontrolní sloučeninou potvrdily vhodnost tohoto dávkování pro všechny typy navrhovaných inokul, a proto nebyl tento objem v dalším testování změněn.

Vzhledem k realizaci biodegradačních testů v různých ročních obdobích, docházelo k měnícím se hodnotám mikrobiálního zastoupení ve vodě.

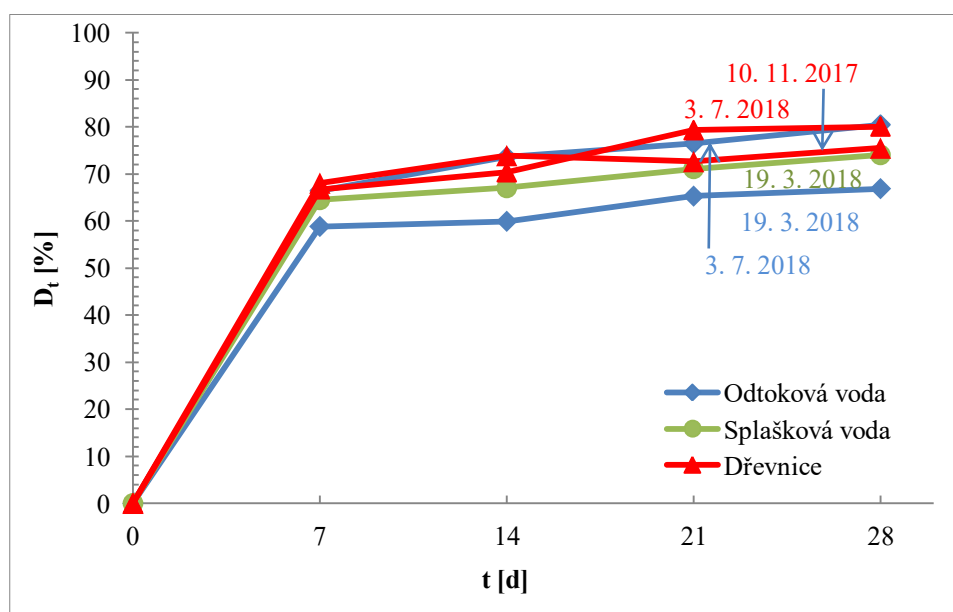
V mikrobiálních testech na průměrný počet kolonií psychrotrofních bakterií v odtokové vodě v měsíci březnu roku 2018 bylo zastoupeno $5,1 \cdot 10^4$ KTJ/ml. V tomtéž měsíci o rok později se počet kolonií psychrotrofních bakterií výrazně nelišil. Bylo zde zjištěno $1,07 \cdot 10^4$ KTJ/ml. Testy se stejným inokulem se zavedly i v měsíci červenci roku 2018, kde byl zaznamenán výrazný nárůst kolonií psychrotrofních bakterií. Celkový průměrný počet činil $4,1 \cdot 10^5$ KTJ/ml. Srovnáním testů biologických rozkladů se stejnou testovací koncentrací zkoušené látky, prokazoval zmíněný červencový test s vyšším mikrobiálním zastoupením zvýšenou aktivitu k biologickému rozkladu, než test provedený v březnu 19.3.2018.

Testy byly provedeny i pro inokulum povrchové vody v měsíci červenci roku 2018, kde byl zjištěn průměrný počet kolonií psychrotrofních bakterií $6,2 \cdot 10^4$ KTJ/ml. V roce 2019 v měsíci březnu, byl zaznamenán počet $4,1 \cdot 10^4$ KTJ/ml. Zde došlo k poklesu mikrobiálního zastoupení ve srovnání s červencovým měsícem roku 2018. Inokulum povrchové vody vykazovalo značnou

proměnlivost v závislosti na ročním období, kde výsledky biodegradčních testů prokazovaly nespolehlivost inokula.

Výsledky mikrobiologických testů poukázaly na skutečnost, že inokula po zimním období jsou méně mikrobiálně oživená v porovnání s inokuly v letních měsících. To mohlo být způsobeno táním sněhu, nebo odběrem inokula po deštivých dnech.

Po vyhodnocení všech testů se prokázalo inokulum odtokové vody jako nejlepší a nejspolehlivější volbou z testovacích inokul.

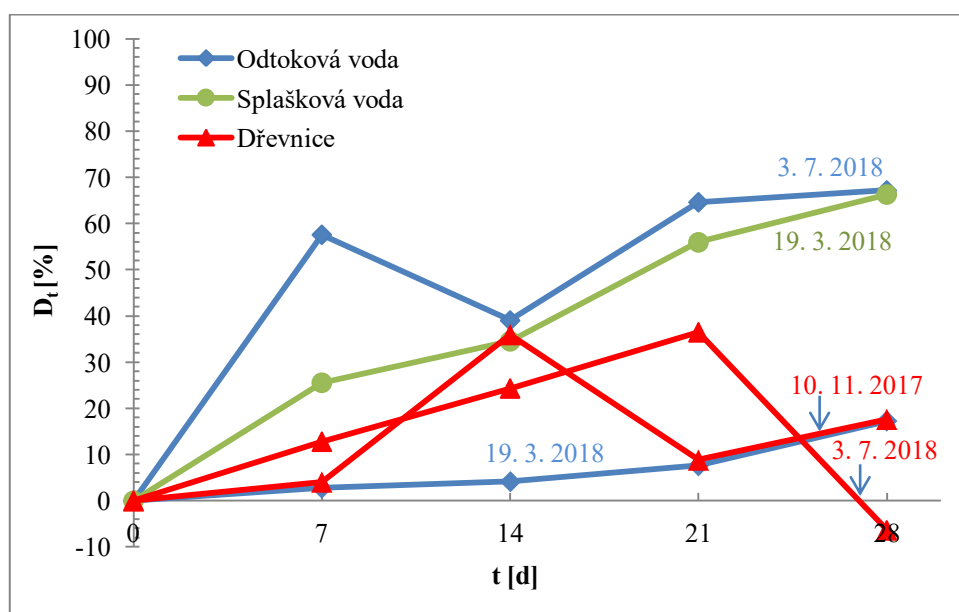


Obrázek 14: Průběh biologického rozkladu směsi kontrolních sloučenin pro testy č. 1 – 5.

Na obr. 14 je zaznamenán průběh biologického rozkladu směsi kontrolních sloučenin pro testy č. 1 - 5, kde došlo k mírnému poklesu biologické rozložitelnosti testované směsi u inokula povrchové vody odebraného dne 10.11.2017, které bylo již výše vyhodnoceno jako nespolehlivé na základě mikrobiálního testování.

Jak je patrné z dat prezentovaných v tab. 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, u testů č. 1 – 5 biologických rozkladů zkoušené látky docházelo během zkoušek k „nárůstu“ koncentrace kyslíku, kde hodnota ovlivňovala biologickou spotřebu kyslíku a tím byly zaznamenány poklesy biodegradace (Obrázek 15).

U inokula z povrchové vody řeky Dřevnice, odebraného 3.7.2018, došlo na konci zkoušky dokonce až k záporným hodnotám biologického rozkladu. Tento výsledek může naznačovat, že se jedná o toxickou látku, ale vzhledem k době odběru inokula, panujícím klimatickým podmínkám v tomto ročním období a k použité velmi nízké testovací koncentraci reálného vzorku (2 mg/l), lze přisuzovat záporné hodnoty biodegradace spíše kvalitě inokula, které mohlo obsahovat zelené organismy a negativně tak ovlivnit zaočkování média. Vzhledem ke skutečnosti, že stejný trend byl zaznamenán i u kontrolní sloučeniny a slepého stanovení, mohlo dojít k dalšímu nežádoucímu ovlivnění biologického rozkladu v důsledku nedostatečného očištění skleněných lahvíček, ve kterých se mohl tvořit povlak biofilmu a na něm vznikat kolonizace řas, a způsobit tak nadměrnou produkci kyslíku. K poklesu procentuální hodnoty biologické rozložitelnosti došlo i u testu inokula odtokové vody, odebraného dne 3.7.2018 mezi sedmým a čtrnáctým dnem zkoušky, kde se mohla taktéž projevit horší kvalita inokula v letním měsíci.

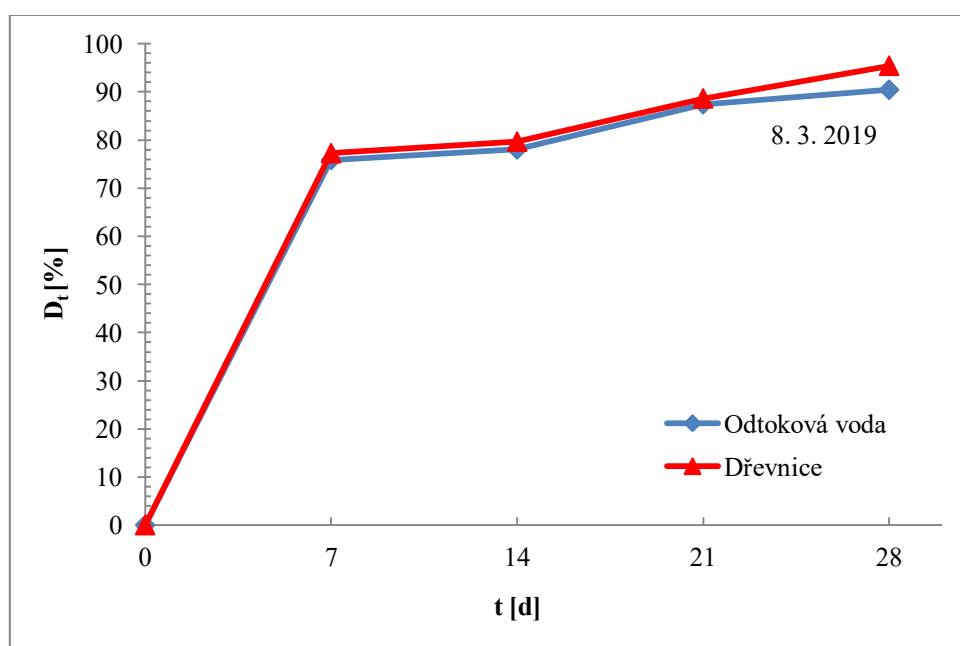


Obrázek 15: Průběh biologického rozkladu zkoušené látky pro testy
č. 1 - 5.

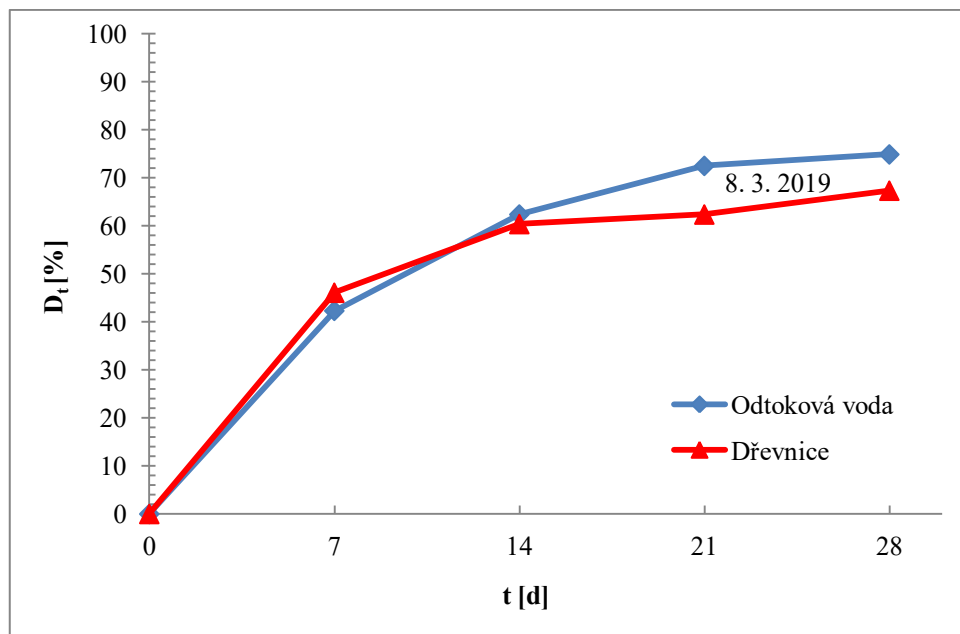
Zkoušená organická látka (detergent) byla nejprve testována podle obvyklé koncentrace 2 mg/l jak je doporučeno v normě (Obrázek 15). Koncentrace zkoušené látky je volena tak, aby během zkoušky neklesla koncentrace rozpuštěného kyslíku pod 0,5 mg/l, což bylo ve všech testech splněno. Avšak zkoušená koncentrace testované látky byla nedostačující z důvodu zastoupení nízké koncentrace uhlíku v testované látce ($\text{CHSK}_{\text{Cr}} = 362,3 \text{ mg/g.}$), která se projevila nízkým biolo-

gickým rozkladem a značnou variabilitou získaných výsledků v různých časových obdobích, což je při vyhodnocování biologického rozkladu hodnocené látky nežádoucí.

Testy na zkoušenou látku s doporučenou koncentrací 2 mg/l se neosvědčily. Dle normy je dáno, že při zkoušení těžko rozložitelných látek a látek s nízkými hodnotami $CHSK_{Cr}$ resp. TOC, může být koncentrace testované látky zvýšena až na 10 mg/l, proto bylo přistoupeno k navýšení koncentrace na 10 mg/l. U těchto testů bylo pracováno s inokulem povrchové vody z řeky Dřevnice odebírané v létě 2018 (teplota vzduchu při odběru 35 °C, dlouhodobé sucho). Data získaná v průběhu měření nebyla reprodukovatelná, a povrchová voda tak byla vyhodnocena jako nevhodná pro testy. Zároveň se ukázala i nevhodnost dávkování zkoušené látky dle hmotnostní koncentrace. Tento postup totiž neumožňuje vzájemné srovnání různých typů zkoušených látek. Z tohoto důvodu bylo v posledním testování upraveno dávkování dle hodnoty CHSK a to na 5 mg/l. Na obrázku 16 je znázorněn optimální průběh biologického rozkladu směsi kontrolních sloučenin při dávkování 5 mg CHSK/l. Tato zvýšená koncentrace zkoušené látky byla vyhodnocena jako nejvhodnější pro stanovení jejího biologického rozkladu (Obrázek 17).



Obrázek 16: Průběh biologického rozkladu směsi kontrolních sloučenin pro testy č. 6 a 7.



Obrázek 17: Průběh biologického rozkladu zkoušené látky pro testy č. 6 a 7.

ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo optimalizovat metodu stanovení biologické rozložitelnosti organických látek ve vodném prostředí metodou popsanou v ČSN ISO 10707 a pomocí zvoleného postupu vyhodnotit biologický rozklad vzorku organické látky v podobě detergentu, jehož tenzidovou složkou byl nízkomolekulární polyamid dále barviva a parfém. Na základě testů byla provedena vhodná volba inokula a jeho dávkování a také zvolena optimální koncentrace testované látky.

K zaočkování média, byla navržena tři inokula, a to pracovní označené jako odtokové (odtoková voda z ČOV), povrchové (povrchová voda z řeky Dřevnice) a městská splašková voda. Vzorky byly mikrobiologicky testovány na zastoupený počet kolonií psychrotrofních bakterií v 1 ml vzorku. Po vyhodnocení celkových testů se prokázala spolehlivost inokula u odtokové vody, které bylo odebráno z čistírny odpadních vod, Zlín – Malenovice v různých ročních obdobích a vyhodnoceno jako nejlepší volba z celkových tří testovaných inokul.

Objem dávkovaného inokula k zaočkování média byl zvolen na 5 ml/l. Jedná se o maximálně možnou použitou koncentraci dle postupu zkoušky stanovené v normě. Objem byl na základě testování vyhodnocen jako vhodný a nebyl v dalším testování změněn. Úbytek koncentrace kyslíku při slepém stanovení nepřekročil po 28 dnech hodnotu 1,5 mg/l.

Také byla zvolena vhodná příprava a dávkování zkoušené látky, která byla nejprve testována s nízkou koncentrací 2 mg/l, dle doporučení normy. Zavedené testy s touto koncentrací látky se neosvědčily, protože byl zaznamenán nízký a proměnlivý biologický rozklad u reálného vzorku. Pro reálný vzorek byla stanovena hodnota $CHSK_{Cr}$, která prokazovala nízký obsah organických látek. Norma udává, že při zkoušení těžko rozložitelných látek a látek s nízkými hodnotami $CHSK_{Cr}$, může být koncentrace testované látky zvýšena až na 10 mg testované látky na litr. Proto bylo v rámci jedné série testů upraveno dávkování na tuto hodnotu, avšak ani tato koncentrace se neosvědčila, proto při posledním testování bylo upraveno dávkování zkoušené látky dle hodnot $CHSK_{Cr}$ na 5 mg $CHSK_{Cr}$ na litr. Zvýšená koncentrace látky byla vyhodnocena jako vhodná pro stanovení jejího biologického rozkladu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. **J. Hoffman, I. Řezníčková, J. Ružička.** *Technologická cvičení z Ochrany prostředí, část II.*, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta technologická ve Zlíně, 2000.
2. **Pavel Pitter.** *Hydrochemie*, Vydavatelství VŠCHT, 1999.
3. **Josef Trögl.** *Biodegradace*, 2008. [cit. 10. 2. 2019]
Dostupné na: <http://fzp.ujep.cz/~trogl/1Mikr11Biodegradace.pdf>
4. **K. Červená, B. Lyčková, L. Kučerová, M. Bouchalová, T. Barabášová.** *Biologické metody zpracování odpadu – Biodegradace*, VŠB-TU Ostrava. [cit. 12. 2. 2019]
Dostupné na: <http://hgfl0.vsb.cz/546/bmzo/pages/Biodegradace.html>
5. **K. Červená, B. Lyčková, L. Kučerová, M. Bouchalová, T. Barabášová.** *Biologické metody zpracování odpadu – Faktory ovlivňující biodegradaci*, VŠB-TU Ostrava. [cit. 12. 2. 2019]
Dostupné na: http://hgfl0.vsb.cz/546/bmzo/pages/Faktory_ovlivnujici_biodegradaci.html
6. **P. Pitter, J. Chudoba.** *Biodegradability of Organic Substances in the Aquatic Environment*, CRC Press, 1990.
7. **J. P. Eubeler, M. Bernhard, S. Zok, T. P. Knepper.** *Environmental biodegradation of synthetic polymers I. Test methodologies and procedures*, Elsevier Eltd., 2009.
8. *ČSN EN ISO 7827, Jakost vod – Hodnocení úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí: Metoda stanovení rozpuštěného organického uhlíku (DOC)*, Praha: Český normalizační institut, 1994.
9. *ČSN EN ISO 9408, Jakost vod – Hodnocení úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí stanovením spotřeby kyslíku v uzavřeném respirometru*, Praha: Český normalizační institut, 2000.
10. *ČSN EN ISO 9439, Jakost vod – Hodnocení úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí: Metoda stanovení uvolněného oxidu uhličitého*, Praha: Český normalizační institut, 2001.
11. *ČSN EN ISO 9887, Jakost vod. Hodnocení aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí. Semikontinuální metoda s aktivovaným kalem (SCAS)*, Praha: Český normalizační institut, 1997.
12. *ČSN EN ISO 9888, Jakost vod – Hodnocení aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí – Statická zkouška (Zahn-Wellensova metoda)*, Praha: Český normalizační institut, 2000.

13. ČSN EN ISO 11733, *Jakost vod – Stanovení odstranitelnosti a biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí – Simulační zkouška s aktivovaným kalem*, Praha: Český normalizační institut, 2005.
14. ČSN ISO 10708, *Jakost vod – Hodnocení úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí – Metoda dvoufázového stanovení biochemické spotřeby kyslíku (v uzavřených lahvičkách)*, Praha: Český normalizační institut, 1999.
15. ČSN EN ISO 11734, *Jakost vod – Hodnocení úplné anaerobní biologické rozložitelnosti organických látek kalem z anaerobní stabilizace: Metoda stanovení produkce bioplynu*, Praha: Český normalizační institut, 1999.
16. ČSN ISO 14593, *Jakost vod – Hodnocení úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí: Metoda stanovení anorganického uhlíku v těsně uzavřených lahvičkách (CO₂ headspace metoda)*, Praha: Český normalizační institut, 2005.
17. ČSN ISO 10707, *Stanovení vod – Hodnocení úplné aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí: Metoda stanovení biochemické spotřeby kyslíku (v uzavřených lahvičkách)*, Český normalizační institut, 1996.
18. ČSN EN ISO 10634, *Jakost vod – Pokyny pro přípravu a zpracování ve vodě těžko rozpustných organických látek pro následující hodnocení jejich biologické rozložitelnosti ve vodním prostředí*, Praha: Český normalizační institut, 1997.
19. [www.google.com/maps](https://www.google.com/maps/place/%C4%8Cist%C3%ADrna+odpadn%C3%ADch+vod+Male+novice/@49.2100595,17.5769502,492m/data=!3m2!1e3!4b1!4m5!3m4!1s0x47130c5402711177:0xc2d1ed37b8e18656!8m2!3d49.210056!4d17.5791389) [4. 3. 2019] Dostupné na: <https://www.google.cz/maps/place/%C4%8Cist%C3%ADrna+odpadn%C3%ADch+vod+Male+novice/@49.2100595,17.5769502,492m/data=!3m2!1e3!4b1!4m5!3m4!1s0x47130c5402711177:0xc2d1ed37b8e18656!8m2!3d49.210056!4d17.5791389>
20. [www.google.com/maps](https://www.google.com/maps/place/49%C2%B013'39.6%22N+17%C2%B039'35.5%22E/@49.2273388,17.65859,288m/data=!3m1!1e3!4m13!1m6!3m5!1s0x4713735361860c49:0xf651a097d6a9a5c2!2zxIxlGtvdg!8m2!3d49.2290658!4d17.6615876!3m5!1s0x0:0x0!7e2!8m2!3d49.2276642!4d17.65985) [4. 3. 2019] Dostupné na: <https://www.google.cz/maps/place/49%C2%B013'39.6%22N+17%C2%B039'35.5%22E/@49.2273388,17.65859,288m/data=!3m1!1e3!4m13!1m6!3m5!1s0x4713735361860c49:0xf651a097d6a9a5c2!2zxIxlGtvdg!8m2!3d49.2290658!4d17.6615876!3m5!1s0x0:0x0!7e2!8m2!3d49.2276642!4d17.65985>
21. ČSN ISO 15705, *Stanovení vod – Stanovení chemické spotřeby kyslíku: (CHSKcr) - Metoda ve zkumavkách*, Český normalizační institut, 2008.
22. *Stanovení CHSK dvojjchromanovou a Kubelovou metodou*, 2014. [cit. 24. 4. 2019] Dostupné na: http://vypocty.remediace.cz/studmat/2014103114527/Uloha_1_Stanoveni_CHSK_2014.pdf

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BSK	Biologická spotřeba kyslíku
CHSK	Chemická spotřeba kyslíku
CHSK _{Cr}	Chemická spotřeba kyslíku – oxidace dichromanem draselným
TSK	Teoretická spotřeba kyslíku
TSK _{NH3}	Teoretická spotřeba kyslíku bez nitrifikace
ČSN	Česká státní norma
ISO	Mezinárodní organizace pro normalizaci
DOC	Rozpuštěný organický uhlík
TOC	Koncentrace celkového organického uhlíku
KTJ	Kolonie tvořící jednotka
SCAS	Semikontinuální metoda
DIC	Rozpuštěný anorganický uhlík

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Mapa odběrového místa 1. Čistírna odpadních vod Zlín – Malenovice. ¹⁹	28
Obrázek 2: Odběrové místo pro odtokovou vodu z Čistírny odpadních vod Zlín – Malenovice. (Šipka na obrázku 2 znázorňuje směr toku vody.).....	28
Obrázek 3: Odběrové místo pro městskou splaškovou vodu z Čistírny odpadních vod Zlín – Malenovice. (Šipka na obrázku 3 znázorňuje směr toku vody.).....	28
Obrázek 4: Mapa odběrového místa 2. Břeh řeky Dřevnice, Zlín. ²⁰	29
Obrázek 5: Odběrové místo pro povrchovou vodu z řeky Dřevnice, Zlín. (Šipka na obrázku 5 znázorňuje směr toku vody.).....	29
Obrázek 6: Naplněné skleněné lahvičky – kyslíkovky (dle Winklera), otočeny dnem vzhůru a připraveny k inkubaci.	31
Obrázek 7: Kalibrační křivka pro stanovení CHSK _{Cr} v rozsahu 0–600 mg/l: 16mm zkumavky. ²²	40
Obrázek 8: Narostlé kolonie psychrotrofních bakterií po inkubaci v ředění 10 ⁻³ – odtoková voda z ČOV Zlín – Malenovice (19.3.2018).	41
Obrázek 9: Narostlé kolonie psychrotrofních bakterií po inkubaci v ředění 10 ⁻⁵ – městská splašková voda z ČOV Zlín – Malenovice (19.3.2018).	41
Obrázek 10: Narostlé kolonie psychrotrofních bakterií po inkubaci v ředění 10 ⁻⁴ – odtoková voda z ČOV Zlín – Malenovice (3.7.2018).	42
Obrázek 11: Narostlé kolonie psychrotrofních bakterií po inkubaci v ředění 10 ⁻³ – povrchová voda z řeky Dřevnice, Zlín (3.7.2018).	42
Obrázek 12: Narostlé kolonie psychrotrofních bakterií po inkubaci v ředění 10 ⁻² – odtoková voda z ČOV Zlín – Malenovice (8.3.2019).	43
Obrázek 13: Narostlé kolonie psychrotrofních bakterií po inkubaci v ředění 10 ⁻³ – povrchová voda z řeky Dřevnice, Zlín (8.3.2019).	43
Obrázek 14: Průběh biologického rozkladu směsi kontrolních sloučenin pro testy č. 1 – 5.	54
Obrázek 15: Průběh biologického rozkladu zkoušené látky pro testy č. 1 - 5.	55
Obrázek 16: Průběh biologického rozkladu směsi kontrolních sloučenin pro testy č. 6 a 7.	56
Obrázek 17: Průběh biologického rozkladu zkoušené látky pro testy č. 6 a 7.	57

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Test č.1 – naměřené hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku v slepém stanovení, kontrolní sloučenině a zkoušené látce.	44
Tabulka 2: Test č.1 – procento biologického rozkladu kontrolní sloučeniny a zkoušené látky v jednotlivých dnech. (průměr ± směrodatná odchylka)	44
Tabulka 3: Test č.2 – naměřené hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku v slepém stanovení, kontrolní sloučenině a zkoušené látce.	45
Tabulka 4: Test č.2 – procento biologického rozkladu kontrolní sloučeniny a zkoušené látky v jednotlivých dnech. (průměr ± směrodatná odchylka)	45
Tabulka 5: Test č.3 – naměřené hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku v slepém stanovení, kontrolní sloučenině a zkoušené látce.	46
Tabulka 6: Test č.3 – procento biologického rozkladu kontrolní sloučeniny a zkoušené látky v jednotlivých dnech. (průměr ± směrodatná odchylka)	46
Tabulka 7: Test č.4 – naměřené hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku v slepém stanovení, kontrolní sloučenině a zkoušené látce.	47
Tabulka 8: Test č.4 – procento biologického rozkladu kontrolní sloučeniny a zkoušené látky v jednotlivých dnech. (průměr ± směrodatná odchylka)	47
Tabulka 9: Test č.5 – naměřené hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku v slepém stanovení, kontrolní sloučenině a zkoušené látce.	48
Tabulka 10: Test č.5 – procento biologického rozkladu kontrolní sloučeniny a zkoušené látky v jednotlivých dnech. (průměr ± směrodatná odchylka)	48
Tabulka 11: Test č.6 – naměřené hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku v slepém stanovení, kontrolní sloučenině a zkoušené látce.	49
Tabulka 12: Test č.6 – procento biologického rozkladu kontrolní sloučeniny a zkoušené látky v jednotlivých dnech. (průměr ± směrodatná odchylka)	50
Tabulka 13: Test č.7 – naměřené hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku v slepém stanovení, kontrolní sloučenině a zkoušené látce.	51
Tabulka 14: Test č.7 – procento biologického rozkladu kontrolní sloučeniny a zkoušené látky v jednotlivých dnech. (průměr ± směrodatná odchylka)	51