

**VYUŽITÍ MANOMETRICKÉ METODY
STANOVENÍ BIOCHEMICKÉ SPOTŘEBY
KYSLÍKU PRO HODNOCENÍ
BIOLOGICKÉ ROZLOŽITELNOSTI XENOBIOTIK**

**JAROMÍR HOFFMANN, JOSEF HOUSER, IVETA
ŘEZNIČKOVÁ a FRANTIŠEK BEDNAŘÍK**

*Katedra technologie životního prostředí a chemie, Vysoké
učení technické Brno - fakulta technologická ve Zlíně,
Nám. T. G. Masaryka 275, 762 72 Zlín*

Došlo dne 30. VIII. 1996

Úvod

Pro testování biorozložitelnosti xenobiotik a jejich případných vlivů na mikrobiocenózu byly v průběhu doby ve světě aplikovány desítky různých testů, které byly částečně sjednoceny v návrhu OECD¹. Ve směrnici¹ je popsáno 6 metod, které dovolují testovat chemické látky rozložitelné v aerobním vodném prostředí (tab.I). Uzančně přijatá doba testu je 28 dnů. Test může být ukončen dříve, pokud biodegradační křivka dosáhla konstantní hodnoty při nejméně třech následujících měřeních. Za limit snadné biorozložitelnosti je považováno 70 %-ní odstranění rozpuštěného organického uhlíku (DOC), nebo je-li dosaženo poměru biochemická spotřeba kyslíku/teoretická spotřeba

kyslíku (BSK/TSK) více jak 60 % (u respirometrických metod). Tyto hodnoty musí být dosaženy v 10-denním intervalu u 28-denního testu. V navržených metodách jsou akumulovány mnohaleté zkušenosti, včetně mezilaboratorních okružních testů. V závislosti na fyzikálních vlastnostech testovaných látek mohou být pro sledování hodnotících parametrů použity i speciální metody.

Biochemická spotřeba kyslíku (BSK) je dobrým kritériem pro hodnocení biorozložitelnosti xenobiotik (tab.I). Ve srovnání s jinými alternativami sledování průběhu biorozkladu (úbytek substrátu, chemická spotřeba kyslíku (CHSK), DOC, růst biomasy, přírůstek produktů apod.) je respirometrické měření BSK relativně jednoduché a daleko méně pracné, data mohou být přesněji kvantifikována a kineticky zpracována². Respirometrický postup je akceptován i v ČSN³. Biorozložitelnost je podle této normy posuzována na základě relací BSK/CHSK, BSK/TSK, ze změn DOC či výsledků specifických analýz; konkrétní limity pro charakterizaci testovaných látek jako snadno či špatně biologicky rozložitelných zmíněny nejsou. Na tyto limity lze usuzovat z podmínek platnosti zkoušky, kterou je mj. minimálně 50 %-ní biologická rozložitelnost referenční sloučeniny (octanu nebo benzoanu sodného). Výsledky jsou vyjadřovány pomocí shora uvedených kritérií a graficky jako časová závislost biologického rozkladu (% vs. čas). Další výpočetní zpracování z hlediska kinetiky procesu není uvedeno.

Metodiky OECD¹ ani norma³ nestanovují konkrétní typ respirometru. Jednou z alternativ je manometrické sledování časového průběhu BSK. Tato práce uvádí poznatky

Tabulka I

Testy biologické rozložitelnosti xenobiotik doporučené OECD¹

OECD test	Název testu	Sledovaný parametr	Vhodné pro sloučeniny		
			špatně rozpustné	těkavé	adsorb. biomasou
301 A	DOC DIE-AWAY	rozpuštěný organický uhlík	-	-	+/-
301 B	CO2 EVOLUTION	vývoj oxidu uhličitého	+	-	+
301 C	MODIFIED MITI	spotřeba kyslíku	+	+/-	+
301 D	CLOSED BOTTLE	spotřeba kyslíku	+/-	+	+
301 E	MODIFIED OECD SCREENING	rozpuštěný organický uhlík	-	-	+/-
301 F	MANOMETRY RESPIROMETRY	spotřeba kyslíku	+	+/-	+

a dobré zkušenosti, získané během několikaleté práce s jednoduchými manometrickými přístroji Bial tuzemské provenience, včetně návrhu zpracování experimentálních dat.

Experimentální podmínky

Materiály

Všechny použité chemikálie a roztoky byly běžné laboratorní čistoty. Zásobní roztoky testovaných látek (koncentrace 200 mg.l^{-1}) byly připravovány těsně před použitím ve zředěvací vodě. Byly použity následující modelové látky:

glycin (GLY), alfa-alanin (ALA), glukosa + kyselina glutamová (GLU+GLUK), N-acetanilid (ACA), kyselina octová (OCT), hydrogenftalan draselný (HFK), kyselina salicylová (SAK), kyselina benzoová (BEK), benzoan sodný (BZNa), fenol (FEN), dimethylamin (DMA), kyselina 2-naftol-1-sulfonová (NSK).

Zředěvací voda (ZV) byla připravována a případně očkována analogicky jako při „jednorázových“ testech biologické rozložitelnosti⁴. Její složení bylo podobné jako v normě³.

Inokulum

Používána surová splašková voda, směs koželužské a splaškové vody v poměru 2:1, kalová voda z odsazeného biologického kalu (dávkování 2 až 10 ml do 1 l zředěvací vody). Očkovací vody byly odsazeny, případně krátce odstředěny (kalové vody); nebyly filtrovány.

Biologické kaly byly odebírány z městské čistírny odpadních vod Zlín-Malenovice a čistírny směsných koželužských a splaškových vod (2:1) a.s. TOMA Otrokovice, resp. splaškových a průmyslových „dusíkatých“ odpadních vod a.s. Technoplast Chropyně. Kaly byly provzdušňovány a 1 až 3 x dekantovány vodovodní vodou.

Podmínky testů

Podmínky testů byly voleny s ohledem na doporučené postupy^{1,5}; norma³ ještě zpracována nebyla. Byla zohledněna možnost rozlišení látek snadno biologicky rozložitelných (tzv. vyhledávací testy, s nízkou koncentrací neadaptovaného inokula) a látek potenciálně biologicky rozložitelných (vyšší koncentrace adaptovaného inokula)⁵. Testy byly prováděny ve třech souběžných seriích následovně:

- Vyhledávací test biologické rozložitelnosti (označení VTA), aktuální koncentrace testované látky 100 mg.l^{-1} , velmi nízká koncentrace inokula (zaočkování 2 až 10 ml splaškové nebo kalové vody na 1 litr).
- Vyhledávací test biologické rozložitelnosti (VTB), 100 mg.l^{-1} substrátu, obsah inokula – 100 mg.l^{-1} městského aktivovaného kalu v 1 litru.
- Test potenciální biologické rozložitelnosti (TPR), 100 mg.l^{-1} substrátu, 1000 mg.l^{-1} „neselektivně“ adaptovaného aktivovaného kalu (vysvětleno níže) v 1 litru.

Zařízení

Biochemické analyzátoři řady BIAL⁶ (Bial BOD 10, BSK metr SL-01), výrobce DAK Slušovice. Byly použity různé výrobní verze přístroje, lišící se jen nepodstatnými konstrukčními úpravami. Přístroje umožňují manometricky sledovat závislost BSK v čase (tzv. průběhové hodnoty BSK) při zvolené teplotě (zpravidla $25 \text{ }^\circ\text{C}$) a za mírného promíchávání vzorku (kývavý pohyb baněk). Základem desetimístného přístroje je měřicí jednotka tvořená dvěma lahvičkami (měřicí a kompenzační), které jsou spojeny dělenou manometrickou U-trubicí. Spotřeba kyslíku se sleduje na stupnici manometru (uvolněný oxid uhličitý se sorbuje v nádobce s roztokem KOH); kyslík spotřebovaný činnostmi mikroorganismů se doplňuje z plynné fáze.

Pracovní postup stanovení průběhových BSK

Bylo dávkováno vždy 25 ml roztoku substrátu a 25 ml suspenze inokula. U slepých pokusů byla místo roztoku substrátu přidávána neočkovaná zředěvací voda. Testy byly prováděny vždy několikrát souběžně (zpravidla 3-5 x). Na začátku i konci testů bylo měřeno pH násad a DOC (na analyzátoru uhlíku Beckman model 915A).

Při větším předpokládaném BSK (nad hodnotu $130-140 \text{ mg.l}^{-1}$) byl vzorek buď ředěn, nebo byly baňky zavzdušněny, nastaveny nové počáteční hodnoty na manometrických trubicích a v testu pokračováno (čas počítán průběžně).

Detailnější popis přístroje i pracovní postupy jsou uvedeny v návodu k přístroji⁶; případné odlišnosti jsou zmíněny přímo v textu.

Všechny testy byly prováděny při teplotě $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Ostatní stanovení byla prováděna na běžné laboratorní technice obvyklými postupy.

Zpracování výsledků měření

Ve všech testech byly sledovány časové závislosti BSK. Výpočty BSK i odečty slepých pokusů byly provedeny podle jednoduchých vztahů, uvedených v manuálu přístroje⁶. Tabelemní i grafické zpracování výsledků měření bylo prováděno pomocí tabulkových editorů QuatroPro a Excel v.5, výpočetní zpracování programem Statgraphics v.7.

Výsledky manometrických měření a jejich interpretace

Ověření reprodukovatelnosti manometrického stanovení

Bylo provedeno s modelovou směsí glukosy a kyseliny glutamové (po 0,150 g.l⁻¹ každé složky). Pro tuto směs byly publikovány hodnoty pětidenní BSK 199,4 mg.l⁻¹ se směrodatnou odchylkou 37 mg.l⁻¹ (hodnoty stanoveny zředovací metodou na různých pracovištích)⁷. V průběhu cca 1,5 roku byla provedena téměř stovka stanovení BSK této směsi na různých přístrojích Bial, obsluhovaných různými pracovníky. Inokulace byla prováděna splaškovou či kalovou vodou (testy VTA). Průběh biorozkladu byl podobný jako uvedl Bush⁸; na vzestupné části křivek byly často nalezeny prodlevy (plató). Ze závislostí byly odečítány hodnoty BSK_{plató}, BSK₍₅₎ (hodnoty po 5 dnech) a BSK_{max} (dané maximem na křivce). Průměrné hodnoty (ϕ) a jejich směrodatné odchylky (s) byly následující:

$$\begin{aligned} \text{BSK}_{\text{plató}}, \phi &= 127,9 \text{ mg.l}^{-1}, s = 10,3 \text{ mg.l}^{-1}, \\ \text{BSK}_{\text{max}}, \phi &= 159,7 \text{ mg.l}^{-1}, s = 8,3 \text{ mg.l}^{-1}, \\ \text{BSK}_{(5)}, \phi &= 156,1 \text{ mg.l}^{-1}, s = 9,2 \text{ mg.l}^{-1}. \end{aligned}$$

Pro vyjadřování biorozložitelnosti je nejprůhodnější hodnota BSK_{max} (po dosažení maxima lze test ukončit).

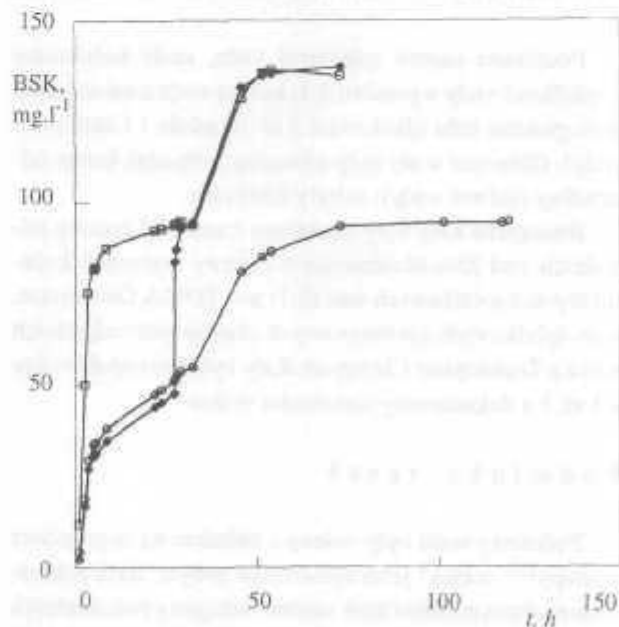
Ze shora uvedeného plyne, že manometrická metoda poskytuje ve srovnání s klasickým zředovacím testem výsledky cca o 20 % nižší. Podstatnou roli zde bezpochyby hrají jiné podmínky testů. Tyto diference mohou narůstat zejména u vzorků s vyššími hodnotami BSK; nutnost mnohonásobného ředění při použití zředovacího postupu vzbuzuje obavy už z analytického hlediska, odhlédneme-li od aspektů mikrobiologických. Hodnoty zředovacích BSK jsou často závislé na koeficientu ředění (s rostoucím zředěním rostou). Tento problém lze eliminovat použitím tzv. grafické metody vyhodnocení BSK při různém ředění⁹.

Uvedená metoda, aplikovaná na našem pracovišti při manometrických měřeních BSK modelových směsí kyseliny glutamové a glukosy a „syntetické“ splaškové vody, vedla k velmi dobrým lineárním závislostem BSK VÍ. ředění (s regresními koeficienty zpravidla nad 0,999) v širokém rozsahu ředění (R= 0,05 až 1)¹⁰.

Neúplná sorpce oxidu uhličitého by mohla být příčinou nižších výsledků manometrických měření (produkce CO₂ vs. spotřeba kyslíku v plynné fázi), jeho „příliš“ dokonalé odstraňování by naopak mohlo vést ke vzniku „umělé perzistence“¹¹. Vliv sorpce na průběh a konečné hodnoty BSK byl sledován pouze orientačně u několika testů. Na obr. 1 jsou pro jeden případ uvedeny průběhy BSK se sorpcí (běžný test), bez sorpce a s dodatečným přídatkem sorpčního roztoku (hydroxidu draselného). Poslední jmenovaná křivka ilustruje rychlou sorpci oxidu uhličitého; k úplnému vyrovnání křivek dojde po cca 2 hodinách. Pokud není CO₂ odstraňován, dosahují hodnoty v závěrečné fázi testu cca 2/3 hodnot ve srovnání s hodnotami běžného provedení (se sorpcí).

Průběh biologického rozkladu za variabilních podmínek

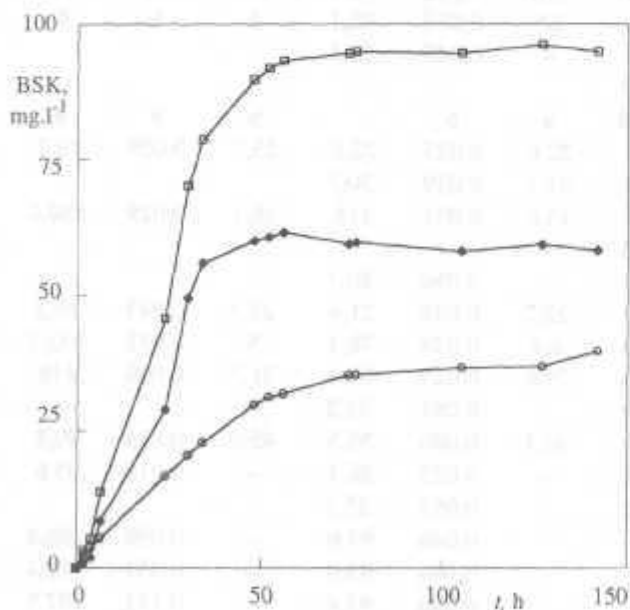
Testy řady VTA a VTB lze považovat za „vyhledávací“ testy látek snadno biologicky rozložitelných, testy TPR



Obr. 1. Vliv oxidu uhličitého na průběh manometricky sledovaných BSK při biologickém rozkladu směsi kyselina glutamová + glukosa (0,150 mg.l⁻¹ každé složky); test bez sorpce CO₂ (body O), se sorpcí od počátku(1) a po cca 28 hodinách testu (♦)

postihují „potenciální“ biologickou rozložitelnost látek obtížně rozložitelných (proto vyšší koncentrace inokula adaptovaného na testovanou látku). V našem případě bylo u TPR použito „neselektivně“ adaptované inokulum (koželužský aktivovaný kal ze zpracování koželužských odpadních vod, tzn. adaptovaný především na fenolické látky a látky s peptidickou vazbou, případně kal ze zpracování odpadních vod obsahujících dimethylformamid). Vyhodnocení bylo prováděno na základě BSK a DOC, doplňkově měřeno počáteční a konečné pH směsí. Vybrané modelové substráty reprezentovaly jen některé typy organických látek.

Rozpuštěný kyslík je spotřebováván hlavně na biochemickou přeměnu testovaného substrátu (asimilaci, disimilaci) a respiraci vlastního inokula. Při sledování biologické rozložitelnosti látek je nutné stanovit respirační spotřebu samotného inokula - endogenní respiraci (např. separátním slepým pokusem) a tuto od celkové spotřeby odečíst. Proti tomuto postupu mohou být výhrady, poněvadž endogenní respirace může být přítomností testovaných látek inhibována nebo naopak stimulována. Nebezpečí zanesení těchto nepřesností je tím větší, čím vyšší je respirace samotného inokula. Hodnoty BSK slepých pokusů u testů serie VTA byly zpravidla velmi nízké: řádově mg.l^{-1} a proti hodnotám vlastních testů většinou zanedbatelné. V případě testů VTB a zejména TPR nabývaly ale významných hodnot a podstatně ovlivňovaly tvar konečných závislostí. Na obr. 2 jsou pro ilustraci



Obr. 2. Průběh biologického rozkladu hydrogenftalanu draselného (koncentrace $0,100 \text{ mg.l}^{-1}$, test VTB). Označení křivek: celková BSK (body D) slepý pokus (○), substrátová respirace (◆)

uvedeny příklady experimentálních respiračních závislostí při biorozkladu hydrogenftalanu draselného za podmínek testu VTB.

Chování testovaných substrátů za aerobních podmínek lze hodnotit na základě průběhů substrátových respiračních křivek, získaných za různých pokusných podmínek, případně v relaci se stejnými závislostmi dobře rozložitelných látek (např. octanu či benzoanu sodného). Primárním požadavkem je hodnocení stupně biochemického rozkladu (v procentech teoretické či chemické spotřeby kyslíku). Při znalosti průběhu BSK je tento výpočet v zásadě bez problémů, navíc je možno eliminovat případné následné děje, které nesmí být do výpočtu zahrnuty (nitrifikace). Z tohoto pohledu je výhodné odečítat hodnoty BSK v asymptotické části BSK-křivek, event. v jejich maximu (BSK_{max}). Pro ilustraci jsou tyto hodnoty nalezené u některých modelových látek popsány testy (VTA, VTB, TPR) uvedeny v tabulce II.

Je obtížné striktně stanovit hranici pro rozlišení dobře či špatně rozložitelných látek, poněvadž kyslík je různou měrou spotřebováván různými pochody (vlastní oxidace, syntéza biomasy, dýchání protozoí, nitrifikace apod.). Uplatnění těchto pochodů závisí na pokusných podmínkách i typu testované sloučeniny. Některé z nich lze do jisté míry eliminovat na základě znalosti průběhových závislostí. Důležitou roli hraje poměr mezi množstvím živin (F) a koncentrací biomasy (M); při neměnném F a rostoucím M se zvyšuje podíl „sekundárních“ pochodů a účinnost z hlediska BSK zdánlivě klesá. Tuto situaci ilustrují i výsledky zde uvedených testů: při vyšších koncentracích biomasy (při stejném dávkování substrátů) se hodnoty $\text{BSK}_{\text{max}}/\text{TSK}$ postupně snižují, ačkoliv účinnost odstraňování uhlíkatých látek významně roste (tab. II - hodnoty úbytku $\text{DOC}_{\text{rozl}}/\text{DOC}_{\text{dávka}}$). U testů VTA bylo možné sestavit následující pořadí biochemické rozložitelnosti testovaných modelových látek podle $\text{BSK}_{\text{max}}/\text{TSK}$:

GLY>ALA>GLU+GLUK>ACA>OCT>HFK>SAK>
BEK>FEN>NSK

a v podstatě stejné pořadí z hlediska účinnosti odstraňování organického uhlíku. Mezi látky dobře rozložitelné by podle limitů 50, resp. 85 % ($\text{BSK}_{\text{max}}/\text{TSK}$, resp. $\text{DOC}_{\text{rozl}}/\text{DOC}_{\text{dávka}}$) bylo možno zařadit tytéž první čtyři, resp. tři látky. Podle testů VTB a TPR jsou všechny látky dobře rozložitelné, soudě z poklesu obsahu organického uhlíku, nicméně hodnoty $\text{BSK}_{\text{max}}/\text{TSK}$ se pohybují kolem hranice 50 %, respektive 40 %. Je tedy zřejmé, že aplikace pouze jednoho

kriteria by mohla vést k chybným interpretacím. Souběžná kontrola stanovením např. rozpuštěného organického uhlíku, CHSK apod. by měla být povinná. Norma ji pouze doporučuje.

Matematické zpracování kinetiky biologického rozkladu

Vedle uvedených odečtů BSK (obecně proveditelné v libovolném čase) a případné lagové fáze umožňuje znalost průběhu BSK i výpočet rychlostí, resp. rychlostních konstant biochemického rozkladu.

Průběh biochemické spotřeby kyslíku může být formálně popsán diferenciálními rovnicemi, vycházejícími z chemické kinetiky pro reakce 1. nebo 2. řádu¹². Jejich integrací obdržíme následující modely průběhu BSK s la-

govou fází, resp. bez lagové fáze (při dosažení $l_g=0$):
pro kinetiku 1. řádu

$$y = L \left(1 - e^{-k_1(t-l_g)} \right) \quad (1)$$

pro kinetiku 2. řádu

$$y = \frac{L * K_2 (t-l_g)}{T + K_2 (t-l_g)^2} \quad (2)$$

kde y ... okamžitá hodnota BSK [mg.l⁻¹],

L ... limitní BSK [mg.l⁻¹],

k_1, k_2 ... rychlostní konstanty pro kinetiku 1., resp. 2. řádu [h⁻¹, mg⁻¹.l.h⁻¹],

K_2 ... konstanta $K_2 = k_2.L$ [h⁻¹],

t ... čas [h],

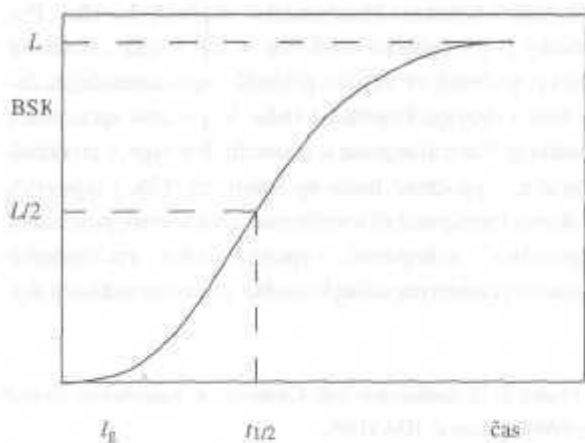
l_g ... lagová fáze [h].

Tabulka II

Biologická rozložitelnost modelových látek - hodnoty odečtené z časových závislostí a vypočtené podle kinetických vztahů 1. a 2. řádu

Test. látka	Test	n	Odečteno			DOCrozl/ DOCdavk. [%]	Výpočet pro 1. řád			Výpočet pro 2. řád				
			Lag.f. [h]	BSKmax [mg.l ⁻¹]	BSKmax/ TSK[%]		Lag [h]	k(1) [h ⁻¹]	BSKmaxl [mg.l ⁻¹]	Lag [h]	K(2) [h ⁻¹]	BSKmax2 [mg.l ⁻¹]		
GLU+	VTA	8	-	86,1	56,1	92,6	19	0,142	83,1	19,6	0,217	91		
		GLUK ^a	8	15	77,2	50,3	92,5	18,2	0,083	77,5	18,8	0,101	92,1	
			10	25	68,8	44,9	93,1	24,7	0,120	71,4				
	VTB	3	-	74,2	46,8	98,4	2,5	0,077	73,1	b	b	b		
		5	-	79,6	50,3		-	0,048	79,5					
		TPR	4	-	59	38,5	92,7							
	TPR	3	-	64,3	41,9	102,3	b	b		b	b	b		
		FEN	VTA	6	27	15,8	6,6	22,6	0,027	22,6	23,7	0,029	19,7	
				6		31,6	13,3	28,8	21,7	0,039	30,5			
5	16			115,9	48,7	97,8	15,6	0,031	118	16,1	0,029	150,4		
	TPR	5	-	117,1	49,2	96,6								
		6	-	75,7	31,8	98,4	-	0,056	80,1					
		SAK	VTA	7	26	22,1	13,6	31,7	22,7	0,036	21,9	23,2	0,043	26,2
VTB	4			4	77,6	47,8	93,9	6,4	0,048	78,3	5	0,037	102,7	
	7			21	77,8	48	97,1	21,6	0,025	84,4	21,7	0,020	118	
	TPR	7	-	66,8	41,2	94,8	-	0,067	73,8					
		GLY	VTA	6	45	37,1	58,1	97,2	45,1	0,086	35,5	45,0	0,095	40,8
				VTB	4	-	27,4	42,9	95,2	-	0,023	26,4	-	0,019
5	-				24,1	37,7	92,2	-	0,087	23,7				
	TPR	5	-	24,1	37,7	92,2	-	0,087	23,7					
		BZNa	VTA			91,1	42,5	-	0,048	93,6	-	0,059	108,4	
				b	b	91,1	42,5	b	-	0,044	93,9	-	0,051	110,4
				100	46,7	-	0,080	97,4	-	0,111	107,8			
	VTB	b	b	102,7	47,9	b	-	0,080	99,7	-	0,111	110,3		
				110,6	51,6	-	0,086	105,8	-	0,123	116,3			

^a Aktuální koncentrace substrátu 0,075 g.l⁻¹, ^b neměřeno



Obr. 3. Určení počátečních aproximací parametrů z experimentální průběhové závislosti BSK

V 1. etapě byl pro výpočet parametrů k_1 , K_2 , L , l_g používán vlastní program vytvořený v Turbo Pascalu¹³. Použité algoritmy byly založeny na linearizaci regresních funkcí, popsaných v literatuře¹². Pro zmírnění vlivu linearizace na původní součet čtverců reziduí byly použity vhodné váhové funkce. Po rozšíření nabídky komerčních programů nebyl ale tento postup dále rozvíjen.

V současné době je k vyhodnocování využíván systém Stagraphics (produkt fy STSC, Inc., verze 7), který poskytuje účinné nástroje jak pro statistické výpočty, tak pro grafické zobrazení experimentálních dat. Pro výpočet parametrů modelů je použita procedura Nonlinear Regression, jejímž základem je Marquardtův algoritmus¹⁴. Odhady koeficientů jsou počítány minimalizací součtu čtverců reziduí iteračním algoritmem s použitím kombinace Gaussovy-Newtonovy linearizace a metody největšího spádu. Iterační metody vyžadují počáteční odhady parametrů, na jejichž kvalitě závisí konvergence metody.

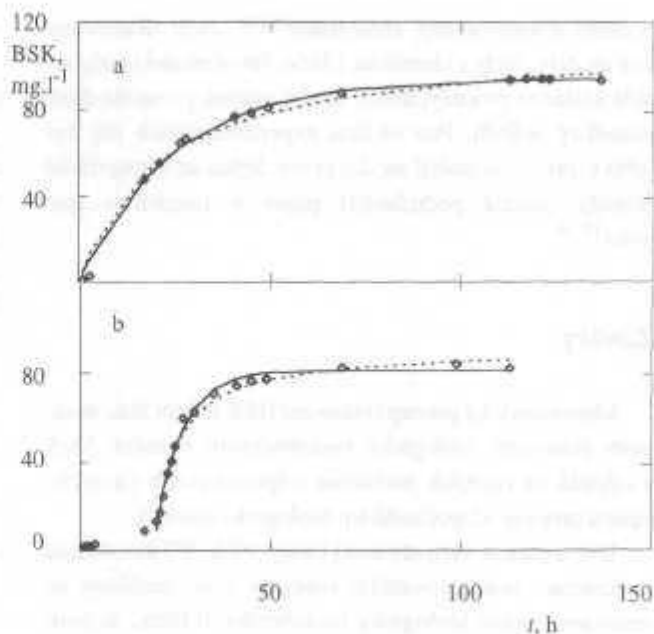
U výše uvedeného modelu se ze zobrazených experimentálních dat (obr.3) získají počáteční odhady parametrů L , l_g , $t_{1/2}$, parametry k_1 , K_2 se vypočtou ze vztahů:

$$f_c = \ln 2 / (t_{1/2} \cdot l_g), \text{ resp. } K_2 = \chi(t_{1/2} \cdot l_g)$$

(3), resp. (4)

Minima součtu čtverců je obvykle dosaženo během několika iteračních kroků.

Výsledky zpracování některých experimentálních dat navrženým postupem jsou uvedeny tab. II, grafická demon-



Obr. 4. Matematické vyhodnocení křivek průběhu BSK při rozkladu benzoanu sodného (koncentrace $0,100 \text{ mg.l}^{-1}$, test VTB, obr. 4a) a směsi kyselina glutamová + glukosa ($0,075 \text{ mg.l}^{-1}$ každé složky, test VTA, obr. 4b); experimentální hodnoty (body \diamond), vypočteno podle kinetiky 1. řádu (plná křivka), resp. 2. řádu (tečkované)

strace je na obr. 4. Ve většině experimentů byl průběh biochemické spotřeby kyslíku lépe popsán kinetikou 1. řádu, soudě z hodnot regresních koeficientů nelineární regrese i z grafického znázornění průběhu BSK (obr. 4).

Hodnoty vypočtených rychlostních konstant u jednotlivých serií byly dosti variabilní. Hlavní příčinou této variability byla zřejmě proměnlivá aktivita inokula; počty mikroorganismů ani jejich aktivita nebyly v této fázi sledovány. Uvedené vlivy se významněji neprojeví v hodnotách limitní biorozložitelnosti (adaptace a růst potřebných mikroorganismů v průběhu i několikátýdenních testů), uplatní se ale v kinetice procesu. Tyto okolnosti, úplně neodstranitelné ani při pečlivé přípravě inokula (aktivita, počty mikroorganismů, stáří, adaptace apod.), do jisté míry „diskriminují“ využitelnost těchto rychlostních konstant jako kritéria pro hodnocení biorozkladu různých substrátů.

V některých případech nebyl časový průběh závislosti BSK monotónní, byla pozorována prodleva (plató) s následným nárůstem BSK. Podobné závislosti byly pozorovány při testech s modelovou směsí glukosy a kyseliny glutamové, později s reálnými směsami typu *bionafty*¹⁵. Pro uvedené případy je navržen postup, spočívající v rozdělení průběhové závislosti na dva úseky, které jsou vý-

početně zpracovávány samostatně^{15,16}. Jsou uvažovány dva modely, vždy s kinetikou 1. řádu. První model předpokládá následné procesy, druhý model naopak po určité době souběžný průběh. Pro většinu experimentálních dat byl (překvapivě) vhodnější model první. Jedná se o specifické případy, jejichž podrobnější popis je uveden v jiné práci^{15,16}.

Závěry

Manometrický postup stanovení BSK nabízí řadu možností stanovení biologické rozložitelnosti různých látek a odpadů za různých podmínek odpovídajících samočisticímu procesu až podmínkám biologické čistírny.

Dvě uvedené varianty testů (testy VTA, VTB, s nízkou koncentrací neadaptovaného inokula) jsou zaměřeny na testování snadno biologicky rozložitelných látek, za podmínek v podstatě „kompatibilních“ s novou ČSN³.

Třetí postup (testy TPR, s koncentrací aktivovaného kalu cca 1 g.l⁻¹) umožňuje sledovat potenciální biologickou rozložitelnost xenobiotik (s adaptovaným aktivovaným kalem), biologickou rozložitelnost v podmínkách aktivačního procesu na biologických čistírnách, případně inhibiční či toxické účinky apod.

Z testů vyplynulo následující:

Časové závislosti BSK poskytují dobrou představu o chování testovaných substrátů za aerobních podmínek. Z limitních hodnot BSK (nejlépe hodnot BSK_{max}) můžeme bez problémů určit % biorozložitelnosti (v relaci k TSK nebo CHSK).

Hodnota poměru BSK/TSK (BSK/CHSK) se mění v závislosti na množství inokula; se zvyšující se koncentrací inokula (s klesajícím F/M) dochází ke snižování těchto hodnot. Tento zdánlivý pokles biorozložitelnosti látek je způsoben zvýšenou asimilací uhlíkatých látek biomasou.

Pro rozlišení látek snadno či obtížně biologicky rozložitelných lze doporučit jako limitní hodnoty 50 % BSK/TSK (resp. BSK/CHSK) u testů typu VTA (ČSN³), resp. 40 % v případě testů typu TPR.

Souběžně a vždy musí být provedeny testy s vhodnou referentní látkou (benzoanem nebo octanem sodným). Biorozložitelnost musí být povinně posuzována i na základě jiného kritéria (např. podle počátečních a konečných hodnot CHSK, DOC apod.) s limitní hodnotou 85 % pro snadno biologicky odstranitelné látky.

Vedle určení hodnot limitní biologické rozložitelnosti umožňují průběhové závislosti BSK výpočet rychlostí, resp.

rychlostních konstant biochemické spotřeby kyslíku. Pro kinetický popis průběhu BSK lze využít rovnic chemické kinetiky, přičemž ve většině případů experimentálními datům lépe vyhovuje kinetika 1. řádu. Výpočetní zpracování metodou nelineární regrese je proveditelné např. v prostředí Statgraph. Vypočtené hodnoty limitních BSK i lagových fází dobře korespondují s reálnými závislostmi, posouzení „vypovídací“ schopnosti vypočítávaných rychlostních konstant vyžaduje rozsáhlejší soubor experimentálních dat.

Práce byla sponzorována Grantovou agenturou České republiky, grant č. 104/1066.

LITERATURA

1. OECD Guideline for Testing of Chemicals. OECD, Paris 1992.
2. Dang J. S., Harvey D. M., Jobaggy A., Grady C. P. L., Jr.: Research JWPCF 61, 1711 (1989).
3. ČSN EN 29408 (ISO 9408; 1991). Český normalizační institut, Praha 1995.
4. Pitter P., Tuček F., Chudoba J., Žáček L. a kol.: *Laboratorní metody v technologii vody*. SNTL+ALFA, Praha 1983.
5. Pitter P.: *Vodní hospodářství B* 38, 169 (1988).
6. Návod k obsluze biochemického analyzátoru BIAL BOD 10. JZD Agrokombinát, Slušovice 1990.
7. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 15th Edition. APHA-AWWA-WPCF, Washington 1980.
8. Busch A. W.: *Water Res. Res.* 2, 59 (1966).
9. Woodring S. L., Clifford D. A.: JWPCF 60, 537 (1988).
10. Kupec J., Hoffmann J., Houser J.: *Projekt FVŽP ČSFR, zpráva C 4.10.1*. VUT Brno – fakulta technologická ve Zlíně, Zlín listopad 1992.
11. Ilič P.: *Z. Wasser Forsch.* 11, 77 (1978).
12. Tuček F., Chudoba J., Koníček Z.: *Základní procesy a výpočty v technologii vody*. SNTL, Praha 1988.
13. Bednařík F., Hoffmann J., Houser J., Kupec J.: *Výpočetní zpracování dat BSK stanovených manometrickou metodou*. Seminář Hydrochemia '91, Bratislava listopad 1991.
14. Maquardt D. W.: *J. Soc. Ind. Appl. Math.* 2, 431 (1963).
15. Kupec J. a kol.: *Závěrečná zpráva grantu GA 104/93/1066*. VUT Brno - fakulta technologická ve Zlíně, Zlín leden 1996.

16. Bednařík F., Řezníčková I., Hoffmann J.: *Biodegradability in Waste Waters*. Environmental Statistics and Earth Sciences. Satellite Meeting to the 4th World Congress of the Bernoulli Society, Brno August 20-24, 1996.

J. Hoffmann, J. Houser, I. Řezníčková and F. Bednařík
(*Department of Environmental Technology and Chemistry, Technical University Brno, Faculty of Technology, Zlín*):
Utilization of the Manometric Determination of BOD for Evaluation the Biodegradability of Xenobiotics

The possible utilizations of simple manometric devices of the Bial series in investigation of biological decomposition of xenobiotics is described. The study concerns easily decomposing substances and substances potentially degradable. The time course of biological oxygen consumption (BOD) makes possible the determination of final biodegradability from BOD values in the curve maximum, elimination of the potential accompanying processes (nitrification, respiration of protozoa), and calculation of the kinetic constants of biodecomposition from the 1st order or 2nd order kinetics. The possibilities were verified in biodecomposition of model substrates and the positive experience is surveyed. The present OECD, ISO and Czech Standard recommendations and standards were considered in the choice of test conditions.

SIMULACE KATALYTICKÉ MOKRÉ OXIDACE FENOLU PROGRAMEM ASPEN PLUS

VRATISLAV TUKAC a JIŘÍ HANIKA

Ústav organické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

Došlo dne 30.VIII. 1996

Úvod

Využití počítačových programů pro simulaci technologických procesů při projekci (CAD) a intenzifikaci výroby v chemickém průmyslu běžné. Vývoj posledních let však rozšiřuje jejich použití pro vyhodnocování experimentál-

ních dat, optimalizaci provozních podmínek stávajících zařízení a technologických celků i pro jejich operativní řízení. Součástí všech nejnámějších programových kompletů jsou vedle modelů jednotkových chemicko-inženýrských operací a chemických reaktorů také rozsáhlé databáze fyzikálně chemických vlastností látek, včetně jejich neideálních směsí a optimalizační procedury.

Použití programu ASPEN Plus¹ pro vývoj procesu souvisejícího s ochranou životního prostředí přináší jednotné integrované programové prostředí jak pro analýzu laboratorních dat, tak i návrh a optimalizaci jednotky většího měřítka.

Baktericidní látky v odpadních vodách z chemických a farmaceutických výroby působí problémy při biologickém čištění těchto vod. Jedním z možných řešení je předchozí katalytická oxidace vodných roztoků těchto látek za zvýšené teploty a tlaku, tzv. mokrá oxidace². Jako typická modelová sloučenina se nejčastěji používá fenol², i když proces sám je určen i pro chloro-, nitro-, sulfo- a další deriváty fenolů a aromatických hydroxy sloučenin^{2,4}. Proces je vhodný pro odpadní vody s rozmezím koncentrací chemické spotřeby kyslíku CHSK 15-150 kg.m⁻³. Problémy se koncentrují na značnou energetickou náročnost u nekatalytických procesů², stabilitu a aktivitu případného katalyzátoru^{4,5} a korozi zařízení atomárním kyslíkem a kyselými reakčními meziprodukty^{5,6}.

Při vývoji procesu lze s výhodou použít procesního simulátoru pro vyhodnocení laboratorních dat, přenos měřítka a porovnání variant při optimalizaci a návrhu technologického celku.

Cílem bylo využít procesní simulátor pro identifikaci kinetických parametrů z laboratorních měření a stanovení parametrické citlivosti reakcí vůči tlaku. Dále bylo záměrem porovnat chování dvou variant reaktorového uspořádání (vsádkový autokláv se suspendovaným katalyzátorem a kontinuální trubkový reaktor) z hlediska konverze oxidačního rozkladu polutantu, účinnosti procesu a energetické náročnosti uspořádání reakčního uzlu.

Při vývoji procesu lze s výhodou použít procesního simulátoru pro vyhodnocení laboratorních dat, přenos měřítka a porovnání variant při optimalizaci při návrhu technologického celku.

Cílem bylo využít procesní simulátor pro identifikaci kinetických parametrů z laboratorních měření a stanovení parametrické citlivosti reakcí vůči tlaku. Dále bylo záměrem porovnat chování dvou variant reaktorového uspořádání (vsádkový autokláv se suspendovaným katalyzá-