TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI
Fakulta mechatroniky, informatiky
a mezioborových studií

VYUŽITÍ NANOVLÁKENNÝCH NOSIČŮ BIOMASY PŘI BIOFILTRACI KONTAMINOVANÝCH VZDUŠNIN

Bakalářská práce

Studijní program: B3942 – Nanotechnologie
Studijní obor: 3942R002 – Nanomateriály

Autor práce: **Magda Nechanická**
Vedoucí práce: Mgr. Ing. Lukáš Dvořák, Ph.D.

Liberec 2015

TECHNICAL UNIVERSITY OF LIBEREC
Faculty of Mechatronics, Informatics
and Interdisciplinary Studies

USE OF NANOFIBERS BIOMASS CARRIERS FOR BIOFILTRATION OF POLLUTED AIR

Bachelor thesis

Study programme: B3942 – Nanotechnology
Study branch: 3942R002 – Nanomaterials

Author: **Magda Nechanická**
Supervisor: Mgr. Ing. Lukáš Dvořák, Ph.D.

Liberec 2015

TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI
Fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií
Akademický rok: 2014/2015

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	**Magda Nechanická**
Osobní číslo:	**M12000097**
Studijní program:	**B3942 Nanotechnologie**
Studijní obor:	**Nanomateriály**
Název tématu:	**Využití nanovlákenných nosičů biomasy při biofiltraci kontaminovaných vzdušnin**
Zadávající katedra:	**Ústav nových technologií a aplikované informatiky**

Zásady pro vypracování:

1. Seznámit se obecně s problematikou biofiltrace kontaminovaných vzdušnin.
2. Seznámit se s dosavadními aplikacemi biofiltračních jednotek.
3. Zpracovat literární rešerši zaměřenou na problematiku biofiltrace kontaminovaných vzdušnin zejména s ohledem na kontaminaci těkavými organickými látkami.
4. Navrhnout, sestavit a ověřit vhodný způsob dávkování vybraného polutantu do laboratorní biofiltrační jednotky.
5. Zprovoznit a následně pomocí laboratorní biofiltrační jednotky ověřit možnost čistění vzdušnin kontaminovaných vybraným modelových polutantem.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy: **cca 45 stran**

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

Seznam odborné literatury:

[1] Kennes Ch., Veiga M. C.: Air Pollution Prevention and Control: Bioreactors and Bioenergy, 2013, ISBN: 978-1-119-94331-0.
[2] Vergara-Fernández A. et al.: Effects of gas flow rate, inlet concentration and temperature on the biofiltration of toluene vapors. Journal of Environmental Management (2007), 115-122.
[3] Mario Z. et al.: Toluene and styrene removal from air in biofilters. Process Biochemistry (2001), 423-429.
[4] Carla C. C. R. et al.: Adaptation of Rhodococcus erythropolis cells to high concentrations of toluene. Applied Microbiology and Biotechnology (2007), 1423-1430.
[5] Deshusses MA.: Biological waste air treatment in biofilters. Current Opinion in Biotechnology (1997), 335-339

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Ing. Lukáš Dvořák, Ph.D.**
Ústav nových technologií a aplikované informatiky

Konzultant bakalářské práce: **Ing. Jan Dolina**
Ústav nových technologií a aplikované informatiky

Datum zadání bakalářské práce: **20. října 2014**

Termín odevzdání bakalářské práce: **15. května 2015**

prof. Ing. Václav Kopecký, CSc.
děkan

L.S.

prof. Dr. Ing. Jiří Maryška, CSc.
vedoucí ústavu

V Liberci dne 20. října 2014

Prohlášení

Byla jsem seznámena s tím, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, zejména § 60 - školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé bakalářské práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li bakalářskou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím bakalářské práce a konzultantem.

Současně čestně prohlašuji, že tištěná verze práce se shoduje s elektronickou verzí, vloženou do IS STAG.

Datum: 15.5.2015

Podpis: Nechanická

Poděkování

Chtěla bych tímto poděkovat vedoucímu mé bakalářské práce Mgr. Ing. Lukáši Dvořákovi, Ph.D. za jeho připomínky, cenné rady a pomoc se zpracováním odborného textu. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Janu Dolinovi za poskytnuté rady. Rovněž bych chtěla poděkovat studentům a pracovníkům laboratoře za jejich pomoc.

Abstrakt

Tato práce se zaměřuje na uplatnění nanovláken jako nosičů biomasy při biofiltraci znečištěného vzduchu, kde byl jako polutant použit plynný toluen.

V první části práce je zpracována literární rešerše na téma biofiltrace, bioreaktory a faktory ovlivňující provoz biofiltrační jednotky. Dále je v tomto oddíle popsáno využití nanovláken ve filtraci vzduchu a jejich výroba pomocí elektrostatického zvlákňování.

Na základě rešerše bylo navrženo schéma biofiltrační jednotky a byly zvoleny její komponenty a metody její analýzy. Byly vyrobeny nosiče biomasy z polyuretanových nanovláken. Po sestavení biofiltrační jednotky proběhla prostřednictvím cirkulačního okruhu inokulace kolony konsorciem, které obsahovalo především bakterie rodu *Rhodococcus*. Vývoj biofilmu na nosičích byl sledován mikroskopickým snímáním. Po dostatečném nárůstu biofilmu byla zavedena do biofiltrační jednotky směs syntetického vzduchu a toluenu z tlakových láhví.

Klíčová slova: biofiltrace, biofiltr, nanovlákna, nosiče biomasy, Rhodococcus, toluen

Abstract

This thesis focuses on the application of nanofibers as carriers of biomass for biofiltration of polluted air, where the pollutant is gaseous toluene.

The first part of this thesis deals with general aspects of biofiltration, bioreactors and factors influencing the operation of biofilter. In this section the application of nanofibers for filtration and their production by electrospinning are also described.

Based on the literature research, the scheme of biofilter was designed and its components were chosen. The analytical methods for biofilter operation were selected. The biomass carriers were made of polyurethane nanofibers. After assembling biofilter the column was inoculated through the circulation circuit by consortium containing bacteria of the genus *Rhodococcus*. The biofilm development was observed by microscopic techniques. After sufficient growth of biofilm on the carriers, the mixture of synthetic air and toluene from gas cylinders was fed into biofilter.

Keywords: biofiltration, biofilter, nanofibers, biomass carriers, Rhodococcus, toluene

Obsah

Seznam obrázků 11

Seznam zkratek 12

1 Úvod 13

2 Teoretická část 14

2.1 Těkavé organické sloučeniny v ovzduší 14

2.1.1 Toluen 14

2.2 Biodegradace toluenu 16

2.3 Bioreaktory pro čištění ovzduší 17

2.3.1 Druhy bioreaktoru 18

2.3.2 Faktory ovlivňující provoz bioreaktorů 21

2.3.3 Nosiče biomasy 24

2.4 Nanovlákenné nosiče 25

2.4.1 Nanovlákna ve filtraci vzduchu 26

2.4.2 Elektrostatické zvlákňování 26

3 Praktická část 28

3.1 Měřicí přístroje 28

3.1.1 Hmotnostní regulátor průtoku plynu 28

3.1.2 Plynový chromatograf Varian CP-3800 29

3.1.3 Spektrofotometr DR 6000 UV-VIS 30

4 Výsledky a diskuze 31

4.1 Stavba bioreaktoru 31

4.1.1 Popis biofiltrační jednotky 31

4.1.2 Nanovlákenné nosiče 35

4.2 Inokulace 36

4.3 Chemické analýzy 37

4.3.1 Kalibrační křivka 37

4.3.2 Spektrofotometrické metody 38

4.4 Mikrobiologické testy 38
4.4.1 Nárůst biofilmu na nosičích 38
4.4.2 Kultivační testy 42
4.5 Provoz biofiltru 43
4.6 Provozní problémy a návrhy řešení 43
5 Závěr 45
Literatura 46

Seznam obrázků

Obrázek 1: Schéma biofiltru s pevným ložem 18
Obrázek 2: Schéma skrápěného biofiltru 19
Obrázek 3: Schéma bioskrubru 20
Obrázek 4: Schéma membránového bioreaktoru určeného pro čištění plynů 20
Obrázek 5: Kapilární trubice se senzory u hmotnostního snímače průtoku (Omega, 2000) 28
Obrázek 6: Schéma finálního uspořádání biofiltrační jednotky 31
Obrázek 7: Fotografie výsledného uspořádání biofiltrační jednotky 32
Obrázek 8: Hmotnostní průtokoměr a regulátor průtoku 33
Obrázek 9: Vzduchotěsné komponenty Swagelok (průměr ⅛ a ¼ palce) 33
Obrázek 10: Peristaltické čerpadlo Watson Marlow 34
Obrázek 11: Fotografie vzorkovací vialky 34
Obrázek 12: Mikroskopické snímky nosného vlákna s nánosem nanovláken: jemnost 5 dtex, zvětšení: 100× a 1000×. Snímky z rastrovacího elektronového mikroskopu (SEM) značky Carl Zeiss ULTRA Plus. 35
Obrázek 13: Mikroskopické snímky nosného vlákna s nánosem nanovláken: jemnost 10 dtex, zvětšení: 100× a 1000×. Snímky z rastrovacího elektronového mikroskopu (SEM) značky Carl Zeiss ULTRA Plus. 35
Obrázek 14: Nosiče z nosných vláken s vyšším nánosem nanovláken (10 dtex), s nižším nánosem nanovláken (5 dtex) a bez nánosu nanovláken 36
Obrázek 15: Kalibrační křivka toluenu naměřená na plynovém chromatografu Varian CP-3800. 38
Obrázek 16: Snímky nárůstu biofilmu na nosičích z vrchní části kolony (zvětšení 50×) 40
Obrázek 17: Snímky nárůstu biofilmu na nosičích z vrchní části kolony (zvětšení 50×) 41
Obrázek 18: Snímky nárůstu biofilmu na nosičích ze spodní části kolony (zvětšení 50×) 42
Obrázek 19: Kultivace vzorků konsorcia z kolony na krevním a Sabouraudově agaru 43

Seznam zkratek

BTEX	benzen, toluen, ethylbenzen a xylen
EBRT	doba zdržení (*empty bed residence time*)
EC	kapacita odstranění (*elimination capacity*)
FID	plamenově ionizační detektor (*flame ionization detector*)
GC	plynový chromatograf (*gas chromatograph*)
$CHSK_{Cr}$	chemická spotřeba kyslíku
PAN	polyakrylonitril
RE	účinnost odstranění (*removal efficiency*)
SEM	rastrovací elektronový mikroskop (*scanning electron microscope*)
SZÚ	Státní zdravotní ústav
VOC	těkavé organické látky (*volatile organic compounds*)
(m_i/m), %	hmotnostní zlomek
(v_i/v), %	objemový zlomek

1 Úvod

Ovzduší je složka životního prostředí, která při svém znečištění bezprostředně ohrožuje lidské zdraví. Jedinec nemá možnost volby jako je tomu například u požití kontaminované vody nebo potraviny. Proto společnost ve vyspělých zemích hledá nová a účinnější řešení k eliminaci rizik vyplývajících ze znečišťování ovzduší, ať už se jedná o exhalace z průmyslu nebo dopravy. Pro zamezení vstupu do atmosféry se zachycují a odstraňují znečišťující látky, v prvé řadě pevné částice, oxid uhelnatý, oxidy dusíku, oxid siřičitý a těkavé organické látky, přímo u jejich zdroje.

Biofiltrace je metoda, která využívá mikroorganismy k odstraňování těkavých organických a anorganických látek z ovzduší. Polutanty jsou absorbovány na biofilmu, vrstvy tvořené mikroorganismy, a v ideálním případě rozkládány na netoxické produkty. Důležitým prvkem biofiltrační technologie jsou nosiče biomasy, na kterých dochází k fixaci a růstu mikroorganismů.

Nanovlákna se již uplatnila v biologickém čištění odpadních vod a ve filtraci vzdušnin zachycováním pevných částic, včetně bakterií. Díky svému velmi vysokému specifikovanému povrchu mohou umožňovat rychlou fixaci mikroorganismů a přispívat ke zvýšení množství biomasy v systému.

Cíle práce

Primárním cílem této práce bylo otestování nanovláken jako nosičů biomasy při biofiltraci znečištěného vzduchu. K jeho realizaci předcházelo několik kroků: vybrat vhodný druh bioreaktoru, navrhnout biofiltrační jednotku, zvolit její komponenty a sestavit biofiltrační jednotku. Následně byly vyrobeny nanovlákenné nosiče biomasy a naplněná kolona s nosiči byla inokulována konsorciem obsahujícím především bakterie rodu *Rhodococcus*. Po dostatečném nárůstu biofilmu byla do biofiltrační jednotky zavedena směs toluenu a syntetického vzduchu.

2 Teoretická část

2.1 Těkavé organické sloučeniny v ovzduší

Podle směrnice Evropského parlamentu a Rady 2010/75/EU o průmyslových emisích, těkavé organické sloučeniny (VOC) jsou organické látky, které mají při teplotě 293,15 K (20 °C) tlak par 0,01 kPa nebo vyšší (Evropská unie, 2010). Hlavní zdroje emisí těkavých organických látek v Evropské unii jsou průmyslové, zejména z oblasti petrochemie. Dalším významným zdrojem emisí je doprava (Kennes a Veiga, 2013).

Ke snížení emisí těkavých organických sloučenin jsou instalovány dodatečné kontrolní technologie. Technologické procesy pro odstranění VOC z ovzduší jsou podle jejich zpracování rozděleny do dvou skupin, regenerace surovin anebo rozpouštědel a rozklad sloučeniny. Mezi procesy první skupiny patří absorpce, adsorpce, kondenzace a membránová separace nebo jejich kombinace. Tyto techniky transformují znečištěný plyn na kapalný nebo pevný polutant, ze kterého je možné dalšími operacemi separovat VOC, kterou lze dále použít. Mezi metody odstraňování VOC patří spalovací techniky, termální a katalytická oxidace, a biofiltrace. Proces spalování dosahuje vysoké účinnosti, ovšem za určitých podmínek může docházet k tvorbě toxických produktů.

Metoda, která se prokázala být účinná a levná pro odstranění VOC, se nazývá biofiltrace. Tato technika je založena na schopnosti mikroorganismů (většinou bakterií) biodegradovat neboli přeměnit za aerobních podmínek organické polutanty kompletní oxidací na vodu, oxid uhličitý, biomasu a v některých případech i anorganické produkty.

Kromě mírných provozních podmínek biofiltrační proces na rozdíl od většiny metod odstraňujících VOC nepřevádí znečištěný plyn na kapalný či pevný polutant. Produkt kompletní biofiltrace tedy není potřeba dále čistit. Biologické čištění je obzvláště účinné, když zápachové nebo toxické odpadní plynové emise jsou v rozsahu nižších koncentrací (Khan a Kr. Ghoshal, 2000). V porovnání s dalšími rozkladnými technikami, v případě nízkého zatížení polutantu (tj. méně než 100 $mg \cdot m^{-3}$ uhlíku), jsou náklady na provoz biofiltrace přibližně 15krát nižší než náklady termálního spalování, 10krát nižší než náklady katalytického spalování a 5krát nižší než náklady procesu adsorpce následované spalováním (Vandecasteele, 2008).

2.1.1 Toluen

Toluen neboli také methylbenzen, je čirá bezbarvá hořlavá kapalina s aromatickým zápachem. Je to látka mírně rozpustná ve vodě (515 $mg \cdot l^{-1}$ při 20 °C), ale dobře rozpustná v tucích.

Toluen se přirozeně nachází v ropě a je produkován při rafinaci ropy na benzín a další paliva. Dále je vedlejší produkt při vysokoteplotní karbonizaci uhlí na koks. Toluen se používá jako

přímě do paliva pro zvýšení oktanového čísla a jako rozpouštědlo v barvách, nátěrech, lepidlech, čisticích prostředcích a inkoustech. Také se využívá při syntéze organických chemikálií včetně benzenu, fenolu a xylenu i jako surovina pro výrobu výbušnin. Toluen je výchozí surovina při syntéze polymerů, ze kterých se dále vyrábí např. nylon, plastové láhve a polyuretany. Toluen se využívá také při výrobě některých léčiv a kosmetických přípravků.

Většina emisí toluenu se uvolní do vzduchu hlavně jako následek jeho použití v palivech. Toluen je uvolňován do životního prostředí během jeho dopravy, výroby, používání a likvidace (Foxall, 2014). Přípustná koncentrace (hmotnostní koncentrace látky v ovzduší, jejímž překročením lze při expozici člověka očekávat vlivy na zdraví) toluenu je stanovena Státním zdravotním ústavem (SZÚ) na 260 $\mu g \cdot m^{-3}$ za rok. V roce 2013 byl v České republice toluen sledován na 9 stanicích SZÚ (Ostrava, Pardubice, Hradec Králové, Ústí nad Labem, Most a Třinec) a jeho koncentrace se pohybovaly v rozmezí 1,4 - 3,9 $\mu g \cdot m^{-3}$, a to včetně stanic s průmyslovou nebo vysokou dopravní zátěží (Kazmarová et al., 2014).

Člověk je nejčastěji vystaven toxickým účinkům toluenu jeho vdechnutím, které zasahuje především centrální nervovou soustavu. Akutní inhalační účinek může vyvolat euforii, halucinace, závratě, ospalost, třes, respirační deprese, srdeční arytmii a křeče. Expozice vysokým koncentracím může vést k bezvědomí a smrti. Chronické vdechování toluenu může vyvolat poškození jater a ledvin a neurologické účinky, jako je ztráta koordinace, třes a poruchy řeči, sluchu a zraku. V některých případech může být poškození centrálního nervového systému trvalé. Toluen také dráždí pokožku a sliznice, do kterých se absorbuje. Při akutním požití toluenu se mohou vyskytnout systémové účinky, jaké je vidět po inhalaci, i podráždění ústní, hltanové a žaludeční sliznice se zvracením. U očí toluen vyvolává slzení a přechodné poškození rohovky. Při kontaktu toluenu s kůží dochází k podráždění, zarudnutí a při dlouhodobém působení mohou vznikat i popáleniny. Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) dospěla k závěru, že toluen není karcinogenní pro člověka, ale v Evropské unii je klasifikován jako možná toxická látka pro reprodukci (Foxall, 2014).

Toluen spadá do kategorie těkavých organických látek se specifickou rizikovostí uvedených v čl. 59 směrnice 2010/75/EU, která vstupuje v platnost od 1. června 2015, ale i v čl. 82 směrnice 2010/75/EU, platící do té doby. V případě emisí výše uvedených látek o jejich celkovém hmotnostním toku větším nebo rovném 10 $g \cdot h^{-1}$ nesmí být překročena mezní hodnota emisí 2 $mg \cdot Nm^{-3}$. Mezní hodnota emisí v tomto případě představuje součet hmotností jednotlivých sloučenin (Evropská unie, 2010).

2.2 Biodegradace toluenu

Mikroorganismy jsou schopny metabolizovat široký rozsah těkavých organických a anorganických látek. Tyto procesy slouží jako zdroj energie pro bakterie a houby. V případě organických polutantů tyto sloučeniny slouží také jako zdroj uhlíku. Pokud není uhlík získán mikroorganismy z degradovaného polutantu, musí být pro jejich růst přítomen jiný zdroj uhlíku. Biodegradace těkavých organických a anorganických polutantů v mikroorganismech zahrnuje enzymatickou transformaci některých polutantů na meziprodukty nebo konečné produkty metabolismu, které nemají žádné použití v průmyslu. Naopak během procesů biokonverze je těkavý substrát přeměněn biochemickými reakcemi na konečné produkty, které jsou dále průmyslově využitelné.

Mezi konečné produkty biodegradace organických sloučenin patří vždy voda a oxid uhličitý. Obsahuje-li organická látka anorganickou funkční skupinu, vznikne dodatečně anorganický metabolit. Kromě těchto konečných produktů vzniká také biomasa, jelikož mikroorganismy rozkládající VOC jsou heterotrofní, tedy využívají polutant jako zdroj uhlíku a zároveň energie. Obecně platný vzorec biomasy je $C_5H_7NO_2$, ovšem ve vzorci mohou být použity i jiné poměry prvků C, H, N a O, případně i další prvky jako např. fosfor. Za předpokladu, že vzorec biomasy je $C_5H_7NO_2$, chemická reakce popisující aerobní biodegradaci toluenu jako jediného zdroje uhlíku s chloridem amonným jako zdrojem dusíku je uvedena v rovnici 1 (Kennes a Veiga, 2013):

$$C_7H_8 + 4\ O_2 + NH_4Cl \rightarrow C_5H_7NO_2 + 2\ CO_2 + 2\ H_2O + HCl \qquad (1)$$

Toluen je vysoce toxická sloučenina. Její objemová koncentrace na úrovni okolo 0,1 % (v_i/v) je dostatečná pro usmrcení většiny mikroorganismů. Několik druhů bakterií je schopno růstu v přítomnosti toluenu, ovšem jen některé využívají toluen jako zdroj uhlíku a energie. Například některé druhy bakterií z rodu *Pseudomonas* jsou schopny tolerovat a růst v přítomnosti více než 50% (v_i/v) toluenu, ale nerostou za přítomnosti toluenu jako jediného zdroje uhlíku. Zatímco druhy rodu *Rhodococcus* tolerují nízkou koncentraci toluenu, některé z nich se dokážou adaptovat na jeho vyšší koncentrace a využít jej jako primární zdroj uhlíku (de Carvalho et al., 2007).

Buňky *Rhodococcus erythropolis* obsahují velké množství enzymů, které jim umožňují průběh procesů biologické přeměny a rozkladu, jako je oxidace, dehydrogenace, epoxidace, hydrolýza, hydroxylace, dehalogenace a odsíření (de Carvalho a da Fonseca, 2005a). Podle de Carvalho a da Fonseca (2005b) je druh *R. erythropolis* DCL14 schopen rozkládat C5-C16 uhlovodíky (alkany, cykloalkany a monocyklické areny) a C1-C12 alkoholy a využít je jako jediný zdroj uhlíku a energie, a to za teplot 15 a 28 °C. Buňky bakterií druhu *R. erythropolis* DCL14 jsou schopny se adaptovat na vysoké koncentrace toxických látek, a to prostřednictvím kontaktu s pomalu narůstajícími koncentracemi toxické sloučeniny. De Carvalho et al. (2007) použila metodu,

že, kdykoli koncentrace toluenu dosáhla 50 % své počáteční hodnoty, bylo přidáno takové množství toluenu, aby se zdvojnásobila předchozí počáteční koncentrace. Takto bylo dosaženo nejvyšší objemové koncentrace 52,4 % (v_i/v) toluenu v *n*-dodekanu (což odpovídá molární koncentraci 4,9 M), při které buňky DCL14 ještě dokázaly růst. Buňky druhu DCL14, které byly adaptovány na vysoké koncentrace toluenu (4,9 M), vykazovaly značně vyšší odolnost ve srovnání s neadaptovanými buňkami vůči 50% etanolu a roztokům Betadine (biocid obsahující aktivní jód) a Micropur (biocid obsahující stříbrné ionty a používaný pro dezinfekci vody) (de Carvalho et al., 2007).

2.3 Bioreaktory pro čištění ovzduší

Technologie biologického čištění odpadních plynů zahrnují různá uspořádání bioreaktoru. Mezi hlavní typy biologických reaktorů patří biofiltry s pevným ložem, skrápěné biofiltry, bioskrubry a membránové bioreaktory. Princip provozu pro všechna tato uspořádání je podobný, ale jednotlivé typy se liší chováním kapalné fáze, nepřetržitě se pohybující nebo téměř stojící, a umístěním mikroorganismů, volně rozptýlených v kapalině nebo imobilizovaných na nosiči. Správná volba vhodné technologie čištění záleží na provozních a regulačních požadavcích potřebných pro zajištění optimálního chemického a fyzikálního prostředí pro maximální přenos hmoty a biodegradaci polutantu za účelem dosáhnout nejvyšší účinnosti jeho odstranění.

Biofiltrace v reaktorech je dvoufázový proces skládající se z přechodu sloučenin z plynné fáze na kapalnou fázi (biofilm) a následné oxidace absorbované látky mikroorganismy. Plynný polutant je absorbován do biofilmu anebo adsorbován na povrchu lože. V mikrobiálním biofilmu dochází k difúzi a biodegradaci polutantu. Během biodegradace mikrobiální enzymy přemění polutant na energii, oxid uhličitý, vodu a někdy i další produkty (Mudliar et al., 2010; Kennes a Veiga, 2013).

Biofilm je tvořen shlukem mikrobiálních buněk fixovaných na povrch a obklopených extracelulárními polymery, které buňky vytvořily (Donlan, 2002). Uvnitř biofilmu tvoří objem biomasy jen malou část celkového objemu. Extracelulární matrice, ve které jsou buňky a kolonie fixovány, představuje většinu objemu biofilmu. Struktura a složení extracelulární matrice se liší mezi jednotlivými biofilmy, ale obecně převažují extracelulární polysacharidy, které představují až 65 % hmotnosti tohoto materiálu, zatímco proteiny tvoří obvykle okolo 10-15 % jeho celkové biomasy (Cohen, 2001). Funkce extracelulární matrice shrnul Lewandowski (2014) ve své knize. Jsou to například adheze biofilmu k povrchu, agregace mikrobiálních buněk, sorpce organických sloučenin a anorganických iontů, enzymatická aktivita, zdroj živin a ochranná bariéra.

2.3.1 Druhy bioreaktoru

- **Biofiltr s pevným ložem**

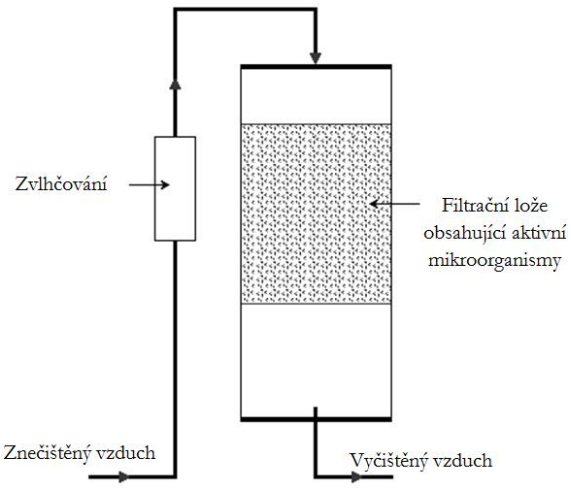
Nejstarším typem bioreaktoru využívaného pro čištění odpadních plynů je biofiltr s pevným ložem. Při jeho provozu dochází nejprve k úpravě proudu kontaminovaného vzduchu spočívající v odstranění pevných částic, které by zanesly lože. Dále je provedena regulace zatížení, a to prostřednictvím úpravy koncentrace polutantu a jeho průtoku. Také je regulována teplota a zvlhčení vzduchu.

Po úpravě proud vlhkého znečištěného vzduchu prochází přes lože obsahující porózní nosiče biomasy, na nichž jsou imobilizovány živé mikroorganismy schopné rozložit daný polutant.

Tento biofiltr se skládá z filtračního lože, které zajišťuje dostatečnou vlhkost, živiny a přísun kyslíku pro podporu mikrobiální aktivity. Biofiltr s pevným ložem může být nainstalován s otevřenou či uzavřenou konstrukcí. U otevřených biofiltrů vlhký znečištěný vzduch proudí směrem nahoru. Tyto reaktory vyžadují velkou plochu a jsou vystaveny změnám klimatu. Uzavřené biofiltry s vzestupně nebo sestupně proudícím plynem potřebují méně prostoru než otevřené biofiltry.

Mezi výhody biofiltru s pevným ložem patří především nízké náklady, možnost zpracování velkých objemů VOC o nízkých koncentracích a absence sekundárního odpadu. Jeho nevýhodami je vyčerpání živin (pokud nejsou dodávány) při dlouhodobém provozu, obtíže při regulaci vlhkosti a hodnoty pH, ale i menší účinnost čištění u vysokých koncentrací polutantu. Schematické znázornění biofiltru s pevným ložem je zobrazeno na obrázku 1.

Většina biofiltrů s pevným ložem, které jsou v současné době v provozu, může za ustálených optimálních podmínek čistit plynné těkavé organické a anorganické sloučeniny s účinností až 90 %. Pro úspěšný dlouhodobý provoz biofiltru je rozhodující udržování optimálních environmentálních a fyzikálně-chemických podmínek, jako je teplota, hodnota pH, vlhkost, zatížení polutantem a koncentrace živin ve filtračním loži (Kennes a Veiga, 2013; Mudliar et al., 2010).



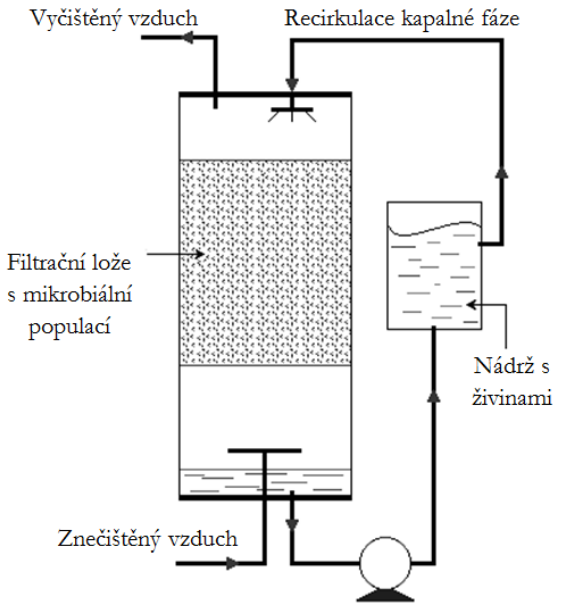
Obrázek 1: Schéma biofiltru s pevným ložem

- **Skrápěný biofiltr**

Skrápěný biofiltr je charakteristický pohyblivostí kapalné fáze. V tomto biofiltru kontaminovaný vzduch proudí skrz lože, které je nepřetržitě zkrápěno vodním roztokem obsahující

esenciální živiny, které jsou potřebné pro růst imobilizované mikrobiální populace rozkládající polutant. Kapalná fáze, která obsahuje kromě živin také pufry nutné pro regulaci hodnoty pH, do bioreaktoru vstupuje přes rozstřikovací hlavici ve vrchní části kolony a skrápí se skrz lože na dno biofiltru, odkud odtéká do nádrže, ze které je pomocí čerpadla recirkulována. Před vstupem znečištěného plynu do skrápěného biofiltru je nutné, aby došlo k odstranění pevných částic a k regulaci teploty a zatížení. Poté proud kontaminovaného vzduchu může vstoupit do kolony, a to buď v dolní či v horní části biofiltru. Podle několika studií volba mezi souběžným a protisměrným prouděním plynné a kapalné fáze významně neovlivní výkonnost bioreaktoru. Schematický nákres skrápěného biofiltru je znázorněn na obrázku 2.

Materiál média použitého v tomto druhu bioreaktoru musí usnadnit proudění plynu a kapaliny skrz lože, měl by poskytovat potřebnou plochu pro fixaci biofilmu a odolávat stlačení. Tyto podmínky nejlépe splňují inertní anebo syntetické materiály. Z toho důvodu je nutné skrápěný biofiltr inokulovat vhodnou mikrobiální populací. Výhodami biofiltru se skrápěným ložem jsou nízké provozní náklady, nízká tlaková ztráta, dobrá regulace vlhkosti, živin a hodnoty pH, ale i schopnost zpracovávat kyselé produkty rozkladu VOC. Mezi jeho nevýhody patří zejména akumulace přebytečné biomasy ve filtračním loži způsobující jeho zanášení, složitost jeho konstrukce a provozu či vznik sekundárního odpadu (Kennes a Veiga, 2013; Mudliar et al., 2010; Cox a Deshusses, 1998).



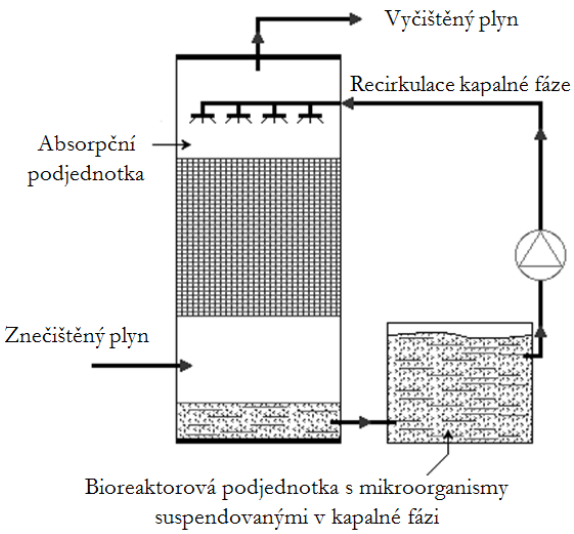
Obrázek 2: Schéma skrápěného biofiltru

- **Bioskrubr (biologická pračka)**

Bioskrubr neboli biologická pračka se skládá ze dvou podjednotek, absorpční a bioreaktorové (viz obrázek 3). U absorpční podjednotky jsou vstupní plynné polutanty převedeny do kapalné fáze. Plynné a kapalné fáze proudí protisměrně uvnitř kolony, která obsahuje lože. Přidáním inertního média se zvětšuje plocha mezifázového rozhraní plynu a kapaliny, a tím se usnadňuje přechod polutantu do kapalné fáze. Vypraný proud vzduchu je vypuštěn z vrchní části kolony, zatímco oddělená kontaminovaná kapalná fáze je čerpána do provzdušněného bioreaktoru. Tato podjednotka obsahuje mikrobiální druhy vhodné pro rozklad polutantu, jež jsou suspendované ve vodní fázi, která obsahuje živiny pro jejich růst. Většina bioskrubrů v dnešní

době využívá aktivovaný kal získaného při čištění odpadních vod. Konstrukce bioskrubru a jeho provozní podmínky jsou stanoveny rozpustností, biodegradabilitou a koncentrací polutantu a jeho průtokem.

V biologické pračce se lépe regulují provozní parametry, jako je hodnota pH a koncentrace živin. Biologická pračka vyžaduje také menší prostor a vykazuje nízkou tlakovou ztrátu. Bioskrubry jsou přizpůsobeny zpracovávat snadno rozpustné VOC (alkoholy, ketony) o koncentracích nižších než 5 $g \cdot m^{-3}$ v plynné fázi. Tento typ bioreaktoru vykazuje malý specifický povrch pro přechod hmoty z plynné fáze do kapalné fáze a během jeho provozu zde vzniká přebytečný kal a kapalný odpad (Mudliar et al., 2010; Kennes a Veiga, 2013).

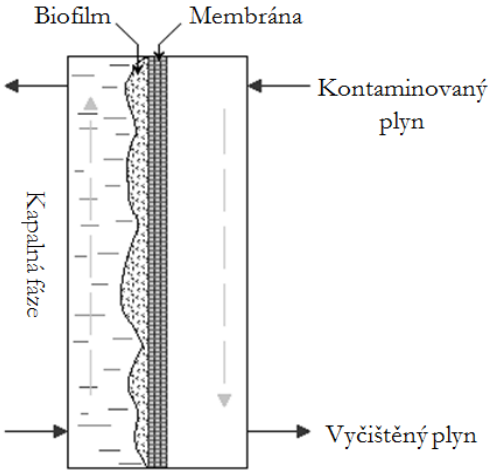


Obrázek 3: Schéma bioskrubru

- **Membránové bioreaktory**

Jako alternativa ke konvenčním biofiltrům pro čištění odpadních plynů byly navrženy membránové bioreaktory. Po vstupu plynné fáze do reaktoru (viz obrázek 4) dochází k selektivnímu oddělení cílových polutantů a kyslíku ze znečištěného vzduchu prouděním skrz membránu. Polutanty jsou dále degradovány mikroorganismy fixovanými na druhé straně membrány, které jsou zároveň ponořeny ve vodě obsahující živiny nezbytné pro jejich růst. Konečné produkty biodegradace procházejí skrz membránu a odchází z kolony.

Membrána slouží jako bariéra pro selektivní transport sloučenin z plynné fáze do kapalné fáze a zároveň jako podpora pro mikrobiální populaci. Fyzikální separace mezi proudem znečištěného vzduchu a biomasou umožňuje tomuto druhu bioreaktoru použití v případě, kdy kontaminovaný proud nemůže být v přímém kontaktu s biomasou a kdy je polutant vysoce hydrofobní a kapalná fáze by vytvářela bariéru pro přenos hmoty.



Obrázek 4: Schéma membránového bioreaktoru určeného pro čištění plynů

U membránových bioreaktorů se proud plynu a kapaliny může měnit nezávisle, bez problémů zaplavení, zatížení nebo pěnění. Nevýhodami tohoto typu bioreaktoru jsou vysoké investiční náklady a problémy související s nárůstem biomasy na membráně. Dosud všechny provedené studie s membránovými bioreaktory využívanými pro čištění odpadních plynů byly uskutečněny pouze v laboratorním měřítku a neexistuje plno-provozní aplikace tohoto typu bioreaktoru v praxi (Mudliar et al., 2010; Kennes a Veiga, 2013).

2.3.2 Faktory ovlivňující provoz bioreaktorů

Mezi faktory ovlivňující provoz biofiltračních jednotek patří především vstupní koncentrace polutantu, průtok, doba zdržení, přítomnost a koncentrace živin, vlhkost, teplota a hodnota pH. Výsledná výkonnost biofiltru je určena kapacitou odstranění (EC), účinností odstranění (RE) nebo mírou tvorby CO_2 (P_{CO_2}).

Kapacita odstranění je hmotnost rozloženého polutantu vztažená na jednotku objemu filtračního lože za jednotku času. EC je vyjádřena následující rovnicí 2:

$$EC = \frac{Q}{V} \cdot \left(C_{in} - C_{out}\right) \left[g \cdot m^{-3} \cdot h^{-1}\right] \quad (2)$$

kde Q je průtok $\left[m^3 \cdot h^{-1}\right]$, V je volný objem bioreaktoru $[m^3]$ a C_{in} a C_{out} jsou koncentrace polutantu na vstupu a na výstupu $[g \cdot m^{-3}]$.

Účinnost odstranění je poměr degradovaného polutantu a množství polutantu přivedeného do bioreaktoru. RE je vyjádřena rovnicí 3:

$$RE = \frac{(C_{in} - C_{out})}{C_{in}} \cdot 100 \ [\%] \quad (3)$$

Míra tvorby CO_2 vyjadřuje úroveň biodegradace uvnitř biofiltru a je určena rovnicí 4:

$$P_{CO_2} = \frac{Q}{V} \cdot \left(CO_{2,out} - CO_{2,in}\right) \left[g \cdot m^{-3} \cdot h^{-1}\right] \quad (4)$$

kde $CO_{2,in}$ a $CO_{2,out}$ jsou koncentrace CO_2 na vstupu a na výstupu z biofiltru $[g \cdot m^{-3}]$ (Kennes a Veiga, 2013).

- **Koncentrace polutantu na vstupu a doba zdržení**

Koncentrace a složení odpadního plynu výrazně ovlivňuje rychlost přenosu hmoty a následně rychlost biodegradace uvnitř biofiltru. Další faktor, který má výrazný vliv na výkonnost biofiltru je doba zdržení. Doba zdržení (EBRT, rovnice 5) je čas, po který je polutant přítomen uvnitř filtračního lože, uvažujeme-li celkový volný objem bioreaktoru jako V $[m^3]$:

$$EBRT = \frac{V}{Q} \ [s] \quad (5)$$

kde Q je průtok [$m^3 \cdot s^{-1}$]. Za ustálených podmínek se účinnost odstranění sníží, pokud je hodnota EBRT nižší než kritická hodnota. Zvýšení vstupní koncentrace polutantu anebo zkrácení doby zdržení vede ke zvýšení zatížení biofiltru. Zatížení (IL) biofiltrační jednotky je definováno jako hmotnost polutantu vstupujícího do biofiltru vztažená na jednotku času a na jednotku volného objemu – viz rovnice 6 (Kennes a Veiga, 2013):

$$IL = \frac{Q}{V} \cdot C_{in} \ [g \cdot m^{-3} \cdot h^{-1}] \quad (6)$$

Rene et al. (2005) ve své práci odstraňoval toluen v biofiltru naplněném kompostem po 8 měsíců při různých dobách zdržení a koncentracích toluenu na vstupu do reaktoru. Během 1. fáze se vstupní koncentrace toluenu pohybovala v rozmezí 0,1-0,5 $g \cdot m^{-3}$ a EBRT dosahovala 2,45 min, aby biofiltr dosáhl ustáleného stavu. V této etapě se účinnost odstranění postupně zvýšila téměř k 100 %. Během 2. fáze se RE pohybovala mezi 80 a 100 %, a to při koncentraci toluenu na vstupu 0,3-1,3 $g \cdot m^{-3}$ a EBRT 1,63 min. Zvýšení vstupní koncentrace na 1,2-2,3 $g \cdot m^{-3}$ a zkrácení EBRT na 0,81 min ve 3. fázi vedlo ke snížení RE na hodnotu okolo 50 %. Ve 4. fázi, ačkoli byla udržována nízká koncentrace na vstupu, a to v rozmezí 1,5-1,9 $g \cdot m^{-3}$, RE významněji klesla z důvodu kratší EBRT (0,41 min). K obnově funkce (zvýšení účinnosti odstranění) biofiltru došlo v 5. a 6. fázi, kdy se vstupní koncentrace pohybovala mezi 0,7-1 $g \cdot m^{-3}$ a 0,1-0,2 $g \cdot m^{-3}$ a EBRT dosahovala 2,45 min a 0,81 min. Účinnosti odstranění byly stejně vysoké jako během 1. fáze (80-100 %).

Chen et al. (2012) ve své studii v biofiltru odstraňovala toluen za různých hodnot zatížení a EBRT. Vliv EBRT na výkonnosti biofiltrace byl za konstantní vstupní koncentraci toluenu 77 $mg.m^{-3}$ hodnocen pro hodnoty 15 s, 7,5 s a 3,8 s, kterým odpovídá zatížení bioreaktoru toluenem 18,7 $g \cdot m^{-3} \cdot h^{-1}$, 37,3 $g \cdot m^{-3} \cdot h^{-1}$ a 74,6 $g \cdot m^{-3} \cdot h^{-1}$. Pro tyto hodnoty bylo dosaženo účinností odstranění toluenu 99 %, 97 % a 84 %.

- **Živiny**

Dostupnost živin uvnitř filtračního lože je důležitý faktor při regulaci mikrobiálního růstu a aktivity. Kromě zdroje uhlíku mikroorganismy v biofiltru potřebují živiny jako je dusík, draslík, fosfor, vápník, hořčík, sodík, železo, síra, vitamíny (např. B1) a mnoho dalších. U biofiltru s pevným ložem jsou některé živiny získány přímo z filtračního lože tvořeným přírodním médiem (např. kůrou, kompostem). Při dlouhodobém provozu biofiltru využívající lože na bázi kompostu bylo zjištěno, že dochází k postupnému vyčerpání vlastních výživných zdrojů a živiny musí být poté do systému dodávány.

Skrápěný biofiltr je obvykle naplněn inertním materiálem, který neobsahuje živiny, pokud není specificky připraven pro jejich uvolnění. Živiny je tedy nutné do reaktoru dodávat, nejčastěji prostřednictvím kapaliny, jejíchž složení je upraveno tak, aby poskytovala vyvážený poměr jednotlivých složek. Jedná se tedy o přesnější způsob dávkování živin, než je tomu u ostatních biofiltrů (Kennes a Veiga, 2013; Mudliar et al., 2010).

Zilli et al. (2001) se ve své studii zabýval odstraňováním toluenu a styrenu ve dvou identických biofiltrech, kde byly přítomny bakteriální kmeny *Acinetobacter* NCIMB 9689 rozkládající toluen, a *Rhodococcus rhodochrous AL* NCIMB 13259 rozkládající styren. Oba reaktory byly periodicky skrápěny roztokem, který měl následující složení na jeden litr vody: 5,8 g KH_2PO_4, 4,5 g K_2HPO_4, 2,0 g $(NH_4)_2SO_4$, 0,34 g $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 0,20 g $CaCl_2 \cdot 6H_2O$, 0,002 g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ a 0,0016 g $MnCl_2 \cdot 4H_2O$.

- **Vlhkost**

Vlhkost filtračního lože je velmi důležitý faktor pro výkonnost biofiltru, protože mikroorganismy vyžadují vodu pro svou metabolickou aktivitu. Při nižší úrovni vlhkosti, než je optimální, dochází k vysušení lože a následný nedostatek vody způsobí u mikroorganismů značné snížení rychlosti biodegradace. Naopak přebytek vody omezuje přenos kyslíku a hydrofobních polutantů do biofilmu, čímž je následně podporován rozvoj anaerobních oblastí uvnitř lože a je snižována rychlost biodegradace.

Optimální vlhkost se liší s různým filtračním materiálem, v závislosti na médiu, plošném obsahu, porozitě a dalších faktorech. Míra vlhkosti pro optimální provoz biofiltru by měla být v mezí 30-60 % (m_i/m) podle použitého filtračního média. U biofiltru s pevným ložem je vlhkost udržována zvlhčením vstupního plynu před vstupem do kolony. U skrápěného biofiltru je dostatečná vlhkost zajišťována nepřetržitým proudem kapalné fáze (Mudliar et al., 2010; Kennes a Veiga, 2013).

- **Teplota**

Teplota je důležitý faktor, který významně ovlivňuje mikrobiální aktivitu a celkovou výkonnost biofiltrů. Mikroorganismy korigují své metabolické reakce, syntézu a aktivaci enzymů v určitém teplotním rozsahu. Nízké teploty zvyšují sorpci, ale zpomalují mikrobiální aktivitu a při zvýšení teploty naopak vzroste rychlost metabolických procesů (Kennes a Veiga, 2013; Ambrožová, 2004).

Vergara-Fernández et al. (2007) ve svém experimentu zvyšoval teplotu z 30 na 34 °C a pro různé zatížení toluenu pozoroval, jak se kapacita odstranění (EC) zvýšila z 32 $g \cdot m^{-3} \cdot h^{-1}$ na

85 $g \cdot m^{-3} \cdot h^{-1}$. Při nejnižším průtoku (0,12 $m^3 \cdot h^{-1}$) byl pozorován pokles EC při zvýšených teplotách. Tento jev mohl být způsoben snížením rozpustnosti plynu v biofilmu, anebo zvýšením Henryho konstanty.

- **Hodnota pH**

Vliv hodnoty pH na výkonnosti biofiltru je obdobný vlivu teploty. Při změně hodnoty pH okolí mikroorganismu dochází k rozdílné ionizaci kladných a záporných skupin v aktivním místě enzymu a tím se vratně snižuje nebo zvyšuje katalytická aktivita enzymu. Nejvyšší aktivitu má enzym v úzkém rozmezí hodnot pH, v tzv. pH optimu. Při extrémních odchylkách pH okolí na obě strany se mění konfigurace enzymu a ten se nevratně denaturuje. Rozmezí hodnot pH, ve kterém je daný druh mikroorganismu schopen růst, je stanoven pH optimem a krajními hodnotami pH (Ledvina et al., 2004; Ambrožová, 2004).

Některé vzdušné polutanty mohou během biodegradace vytvářet kyselé produkty. Snížení hodnoty pH filtračního lože mění aktivitu mikrobiálního konsorcia, což následně ovlivní také výkonnost bioreaktoru. Pro optimální provoz biofiltru je nutné udržovat konstantní hodnotu pH v systému a pravidelně odstraňovat/neutralizovat kyselé metabolity. Pro tento účel se do biofiltru s pevným ložem přidává vhodné médium posilující pufrační kapacitu lože, například vápenec, a u skrápěného biofiltru se do jeho kapalné fáze přidávají pufry (Kennes a Veiga, 2013).

De Carvalho (2012) ve svém experimentu dokázala adaptovat druh *Rhodococcus erythropolis* DCL14 na hodnoty pH v rozmezí 3-11. Optimální růst *R. erythropolis* DCL14 byl však pozorován při hodnotách pH mezi 6,5 a 7,5.

Lu et al. (2002) ve své práci sledoval účinky hodnoty pH na výkonnosti skrápěného biofiltru při odstraňování benzenu, toluenu, ethylbenzenu a *o*-xylenu (BTEX). Hodnota pH prostředí v koloně byla regulována prostřednictvím roztoku živin, který obsahoval vysoké koncentrace KH_2PO_4 a $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$. Kapacita odstranění BTEX se zvýšila po zvýšení hodnoty pH roztoku živin z původních 5 na 8. Avšak opačný vývoj byl pozorován při hodnotách pH mezi 8 a 8,5. Rozmezí pH optima bylo proto určeno mezi 7,5-8.

2.3.3 Nosiče biomasy

Výběr nejvhodnějšího filtračního lože je důležitý faktor pro optimalizování výkonnosti biofiltru a jeho provozní stability. Nosiče biomasy lze rozdělit na dvě základní skupiny: přírodní média a inertní syntetická média. U přírodních médií, jako je např. zemina, kůra, rašelina a kompost, jsou obvykle potřebné živiny pro růst biomasy zajištěny samotným materiálem. Tento druh materiálu se běžně využívá v biofiltru s pevným ložem. Naopak syntetická média, jako je např.

granulované aktivní uhlí, perlit, polyuretanová pěna a nejrůznější plastové útvary a tělíska, jsou biologicky neaktivní a poskytují pouze povrch, na němž je biomasa imobilizována a následně vytváří bioaktivní vrstvy biofilmu. Tato média jsou stabilnější a jsou běžně používaná ve skrápěném biofiltru (Kennes a Veiga, 2013; Wang et al., 1996).

Kritéria při výběru vhodného média pro nosiče biomasy se mírně liší podle typu biofiltrační jednotky. U biofiltru s pevným ložem by médium mělo poskytovat optimální mikrobiální prostředí, pokud jde o přísun živin, kyslíku a uhlíku a udržování hodnot pH. Obecně by filtrační lože mělo mít velký specifický povrch, což umožňuje vyšší míru sorpce polutantu. Médium by mělo dále vykazovat vysokou porozitu a dobrou retenční schopnost. Při dlouhodobém provozu by médium mělo zachovávat svou strukturální integritu a odolávat stlačení filtračního lože. Vysoká mezerovitost lože usnadňuje proudění plynné i kapalné fáze skrz lože, což snižuje tlakové ztráty v koloně. Mikroorganismy se také lépe fixují na hydrofobní nepolární materiál s hrubým povrchem (Kennes a Veiga, 2013).

Při dlouhodobém provozu biofiltru dochází k akumulaci určitého množství biomasy v systému, a tím roste tlaková ztráta. Růst biofilmu mimo jeho účinnou tloušťku vede k vytvoření anaerobních zón, ke snížení výkonnosti biofiltru a nakonec k zanesení a kolapsu reaktoru (Kennes a Veiga, 2013). Deshusses (1997) uvedl, že se průměrná tloušťka biofilmu zvětšila z 80 μm na 280 μm, ale neobjevilo se žádné zvýšení účinnosti odstranění polutantu. Pro zabránění a regulování zanášení Delhoménie et al. (2003) ve své studii hodnotila různé metody. Zkoušeli dvě mechanické metody: 1) promíchání lože, které spočívalo ve vyprázdnění kolony, promíchání medií v oddělené nádrži a jejich opětovného umístění do biofiltru, a 2) promývání lože proudem čerstvé vody přímo v systému. Oba tyto postupy byly testovány a účinně vedly k zlepšení výkonu díky odstranění přebytečné biomasy. Dále pro zabránění akumulace biomasy snižovali koncentraci dusíku v přidávaném roztoku živin. To sice mělo pozitivní vliv na minimalizaci tvorby přebytečné biomasy, ovšem poklesla zároveň i metabolická aktivita biomasy.

2.4 Nanovlákenné nosiče

Za nanovlákna jsou považovány jednorozměrné materiály s průměrem menším než 1 μm a s poměrem délky k průměru větším než 100:1. Vlákna o průměru v rozmezí 100-1000 nm jsou také nazývána submikronová vlákna. Nanovlákna vyráběná elektrostatickým zvlákňováním vykazují jedinečné vlastnosti, jako jsou velmi vysoký specifický povrch, vysoká porozita s dobrým vzájemným propojením jednotlivých vláken, vysoká ohebnost a nízká měrná tíha (Lin a Wang, 2013; Bhardwaj a Kundu, 2010).

2.4.1 Nanovlákna ve filtraci vzduchu

Kromě využití jako nosičů biomasy se nanovlákna používají také v membránách pro filtraci vzduchu. Membrána z nanovláken vyrobených elektrostatickým zvlákňováním výrazně zvyšuje účinnost filtrace. Ve srovnání s běžnými filtračními vlákny při stejném poklesu tlaku mají nanovlákna o průměru menším než 0,5 μm mnohem vyšší schopnost retence jemných částic (pevné částice menší než 2,5 μm), protože tok plynu okolo nanovláken zvyšuje účinnost přímého záchytu, difúzního a setrvačného usazení částic. Mechanická pevnost nanovláken není dostatečná, aby odolala makroskopickým nárazům během filtrace, jako je normální proudění kapaliny nebo plynu, které jimi protéká. Proto jsou nanovlákna používána jako aktivní potahová vrstva na podpůrném médiu k posílení celkové mechanické pevnosti. Podpůrné médium, které je tvořeno z vláken vyrobených metodou „melt-blown", vykazuje vhodné mechanické vlastnosti umožňující následné plisování a stavbu filtru, a zvyšuje životnost filtru během provozu. Navíc podpůrné médium slouží také jako „záložní" filtr v případě poškození nanovlákenné vrstvy během provozu (Lin a Wang, 2013; Barhate a Ramakrishna, 2007).

Chaudhary et al. (2014) ve své práci zkoumala antimikrobiální filtr z elektrostaticky zvlákněných nanovláken. Do nanovlákenné membrány byl přidán dusičnan stříbrný ($AgNO_3$) pro své antimikrobiální účinky. Nanočástice stříbra byly připraveny in-situ metodou v roztoku polyakrylonitrilu (PAN). Kompozitní nanovlákna PAN-Ag byla poté připravena elektrostatickým zvlákňováním. Během filtrace vzduchu byly jejich antimikrobiální vlastnosti testovány na *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*. Výsledky experimentu ukázaly, že membrána z kompozitních nanovláken obsahující nanočástice stříbra zabraňuje mikroorganismům a prachovým částicím o velikosti 500 - 1000 nm projít do vnitřních struktur membrány. Na povrchu membrány kladně nabité ionty stříbra přitahující elektronegativní bakteriální buňky vytvoří vazby s membránou bakterie nebo s thiolovými skupinami (-SH) jejích enzymů, což vede k zabránění šíření bakterií a zablokování tvorby biofilmu (Son et al., 2004).

2.4.2 Elektrostatické zvlákňování

Pro výrobu nanovláken bylo vyvinuto několik metod, jako je například dloužení, podložková syntéza, fázová separace a elektrostatické zvlákňování. V současnosti se stalo elektrostatické zvlákňování nejdůležitější technikou pro produkci dlouhých nanovláken ve velkém měřítku. U této metody je možnost rozsáhlého výběru surovin z polymerních materiálů, integrovat jiné materiály (např. biomateriály, nanočástice) do nanovláken, upravovat rozměry, chemické složení a další vlastnosti vláken a řídit strukturu nanovláken pro přípravu nanovláken s jádrem, dutých nanovláken a nanovláken s porézní strukturou (Wang a Li, 2012; Lin a Wang, 2013).

Elektrostatické zvlákňování probíhá za pokojové teploty a atmosférického tlaku. Typická sestava elektrostatického zvlákňování se skládá ze tří komponent: zdroje vysokého napětí, kapilární trubice s jehlou nebo pipetou a kovového kolektoru. Zdroj vysokého napětí poskytuje až několik desítek kilovoltů. Roztok je napojen ke kladné elektrodě, zatímco kolektor je uzemněn. Nejprve se suroviny, polymery, úplně rozpustí v rozpouštědle k získání roztoku o určité koncentraci. Poté je roztok vstřikován do kapiláry, na jejímž konci je držen svým povrchovým napětím. Vysoké napětí indukuje na povrchu kapaliny elektrický náboj. Jak se zvyšuje napětí, kapka tekutiny na špičce kapiláry se prodlužuje, až vytvoří kuželovitý tvar známý jako Taylorův kužel. Když aplikované napětí dosáhne kritické hodnoty, odpudivé elektrické síly překonají povrchové napětí. Ze špičky Taylorova kuželu je emitován nabitý proud roztoku směrem ke kolektoru. V prostoru mezi špičkou kapiláry a kolektorem se za vysokého napětí tento proud kapaliny prodlužuje a ztenčuje díky nestabilitě, která se projevuje podél dráhy letu vlákna. Mezitím se odpaří rozpouštědlo a vlákno ztuhne. Vytvořená nanovlákna jsou posléze nanesena na kolektor (Wang a Li, 2012; Bhardwaj a Kundu, 2010; Baji et al., 2010).

Pro zvýšení účinnosti elektrostatického zvlákňování na úroveň průmyslové produkce byla vyvinuta nová technika, elektrostatické zvlákňování bez jehly, ve které se místo kapiláry používá rotující válec v polymerním roztoku. Povrch válce je pokrytý tenkou polymerní vrstvou a připojen k vysokému napětí. Když napětí překoná kritickou hodnotu, vznikne velké množství proudů roztoku. Počet a umístění těchto proudů je uspořádáno přirozeně v jejich optimálních pozicích, což řeší problémy, které by nastaly u zařízení s více tryskami (Wang a Li, 2012). Tento způsob výroby nanovláken vynalezl Jirsák et al. (2009). Nanovlákna vytvořená z polymerního roztoku na zvlákňovací ploše otáčející se válcovité nabité elektrody jsou unášena k protielektrodě a před ní jsou vlákna fixována na materiál určený pro povrstvení, např. nosná nit, textilie apod. Potřebné napětí se pohybuje v rozmezí 30 - 120 kV a koncentrace polymeru v roztoku je více než 20 %. Průměr vyrobených nanovláken je v intervalu 80 - 500 nm s odchylkou 30 % (Petrík, 2011).

3 Praktická část

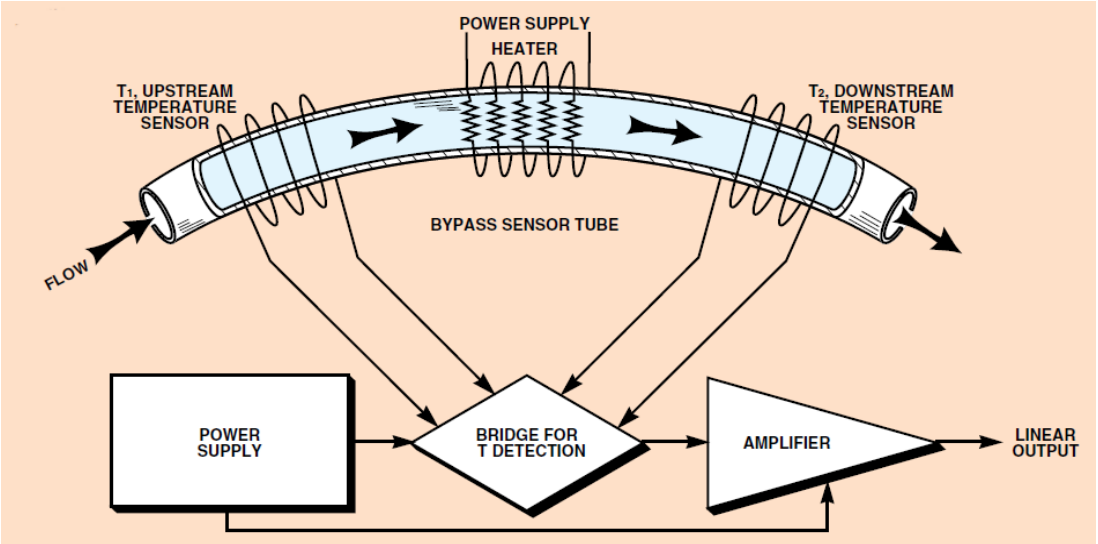
3.1 Měřicí přístroje

Jedním z komponentů biofiltrační jednotky, jejíž stavbou a provozem se zabývá tato práce, je hmotnostní regulátor průtoku pro plyn. Ten je společně se dvěma dalšími přístroji použitými k analýze provozu této jednotky popsán níže.

3.1.1 Hmotnostní regulátor průtoku plynu

Hmotnostní regulátory průtoku plynu umožňují jak měření, tak regulaci průtoku daného plynu. Využívají při měření průtoku plynu vliv proudění tekutiny na šíření tepla. Změny v rozložení teploty jsou úměrné protékající hmotě plynu.

Při vstupu do hmotnostního snímače průtoku je proud plynu rozdělen do dvou laminárních průtokových cest, z nichž jedna prochází přímou průtočnou trubicí a druhá z nich skrz obtokovou kapilární trubici se senzory (obrázek 5). Obě tyto průtočné trubice jsou navrženy tak, aby zajistily laminární proudění, a proto je poměr jejich průtoků konstantní. Uprostřed kapiláry se nachází vnější topné vinutí. Teplota její stěny je měřena dvěma vnějšími senzory teploty, které jsou umístěné symetricky k topnému vinutí. Senzor T_1 je blíže vstupu do kapiláry a druhý senzor, označený jako T_2, se nachází blíže výstupu z kapiláry. Senzory teploty jsou teplotně závislé rezistory, jejichž signál vyhodnocuje Wheatstoneův můstek. Pokud průtokoměrem neproudí žádný plyn, bude podél kapiláry průběh teploty na obě strany od topného vinutí zrcadlově symetrický, tedy teploty naměřené na obou senzorech budou shodné. Prochází-li však průtokoměrem v určeném směru plyn, dochází k porušení symetrického rozložení teploty podél kapiláry a senzor T_1 naměří menší teplotu než senzor T_2. Rozdílné teploty rezistorů jsou zaznamenány rozdílnými hodnotami jejich elektrických odporů, což se projeví nenulovým napětím na diagonále můstku.



Obrázek 5: Kapilární trubice se senzory u hmotnostního snímače průtoku (Omega, 2000)

Rozdíl teplot ΔT [K] naměřených na senzorech T_1 a T_2 je přímo úměrný hmotnostnímu průtoku. Za ustálených teplotních podmínek a pro malé průtoky Q_M [kg·s^{-1}] platí rovnice 7:

$$Q_M = K \cdot \frac{\Delta T}{P \cdot C_p} \tag{7}$$

kde K [J^2·s^{-2}·K^{-2}] je konstanta závislá na geometrickém uspořádání průtokoměru, druhu měřeného média, tepelné vodivosti materiálů průtokoměru apod., C_p [J·kg^{-1}·K^{-1}] je měrná tepelná kapacita tekutiny za konstantního tlaku a P je příkon topného zdroje [J·s^{-1}].

Řízení průtoku probíhá prostřednictvím regulačního členu umístěného za průtokoměrem. Tento regulační člen je tvořen uzavřeným kontrolním okruhem, který porovnává hodnotu průtoku z průtokoměru s hodnotou nastavenou řídícím signálem z počítače nebo vestavěným potenciometrem. Nastavené hodnoty průtoku jsou získány pomocí proporcionálního ventilu, solenoidového nebo piezoelektrického (Kinovič et al., 2003; Aalborg, 2014; Omega, 2000).

Pro biofiltrační jednotku v této práci byl vybrán hmotnostní regulátor průtoku GFC 17 od společnosti Aalborg s vestavěným solenoidovým ventilem.

3.1.2 Plynový chromatograf Varian CP-3800

Plynová chromatografie (GC) je separační a analytická metoda plynů, kapalin a pevných látek s bodem varu do cca 400 °C. Základem této metody je rozdělení složek vzorku mezi dvě fáze, mobilní a stacionární. Mobilní fází v GC je nosný plyn (He, H_2, N_2, Ar) a stacionární fázi může být pevná látka (aktivní uhlí, silikagel, oxid hlinitý apod.) nebo vysokovroucí kapalina nanesená v tenké vrstvě na inertním pevném nosiči.

Separace látek probíhá následovně. Nosný plyn neustále prochází kolonou se stacionární fází. Plynný vzorek je z vialky odebrán injekční stříkačkou automatického dávkovače (autosampler) a vnesen do nástřikové komory (injektoru), odkud je pak unášen nosným plynem až do kolony. Na začátku kolony dochází ve stacionární fázi k sorpci složek ze vzorku a pak k desorpci čerstvým nosným plynem. Složky vzorku jsou postupně unášeny nosným plynem k výstupu kolony a separační proces se neustále opakuje. Každá složka ze vzorku postupuje kolonou svou vlastní rychlostí. Doba průchodu látky kolonou se nazývá retenční čas. Poté, co vycházejí separované látky z kolony, vstupují do detektoru, kde je detekována jejich okamžitá koncentrace v nosném plynu. Signál detektoru je upraven a plynule registrován. Jeho závislost na čase je graficky zaznamenána na chromatogramu.

Podle polohy píku na chromatogramu lze stanovit identitu látky a plocha píku je úměrná jejímu množství ve vzorku. Pro sestrojení kalibrační křivky pro určitou látku jsou na GC změřeny

vzorky o známé koncentraci dané látky. Na chromatogramech je poté po identifikaci jejího píku odečtena jeho plocha a přiřazena k dané koncentraci (Krofta, 2001).

Pro účely této bakalářské práce byl použit chromatograf Varian CP-3800 s autosamplerem a s hmotnostním a plamenově ionizačním (FID) detektorem. Délka kolony GC byla 60 m a jako nosný plyn bylo použito helium.

3.1.3 Spektrofotometr DR 6000 UV-VIS

Metodou absorpční spektrofotometrie je stanovena hmotnostní koncentrace látky v roztoku na základě absorpce záření při určité vlnové délce. Míra pohlceného světla měřeným vzorkem je určena absorbancí A. Podle Lambert-Beerova zákona (rovnice 8) je absorbance vzorku A_λ přímo úměrná hmotnostní koncentraci absorbující látky ϱ a tloušťce proměřované vrstvy roztoku b. Absorpční koeficient a_λ je veličina charakteristická pro danou látku a stejně jako absorbance A_λ závisí na vlnové délce, při které se měření provádí.

$$A_\lambda = a_\lambda \cdot b \cdot \varrho \tag{8}$$

Absorpční spektrofotometr se skládá ze čtyř základních částí: zdroje záření, monochromátoru, absorpčního prostředí (kyveta se vzorkem) a detekčního systému.

Průběh měření ve spektrofotometru je následující. Ze zdroje (halogenová nebo deuteriová lampa) vychází svazek polychromatického záření a dopadá na vstupní štěrbinu monochromátoru. Z výstupní štěrbiny vychází po rozkladu na difrakční mřížce nebo hranolu svazek monochromatického záření, který vstupuje do absorpčního prostředí. Po průchodu absorpčním prostředím dopadá monochromatické záření na fotoelektrický detektor, kde se vzniklý elektrický proud převádí na digitální výstup (Sinica, 2010).

Moderní spektrofotometry mohou obsahovat speciální čtečku čárových kódů v kyvetovém prostoru, která automaticky načte čárový kód na vložené kyvetě. Přístroj využije identifikaci čárovým kódem pro nastavení správné vlnové délky k analýze a po měření vypočítá hmotnostní koncentraci látky v roztoku s pomocí uložených absorpčních koeficientů (Hach-Lange, 2013).

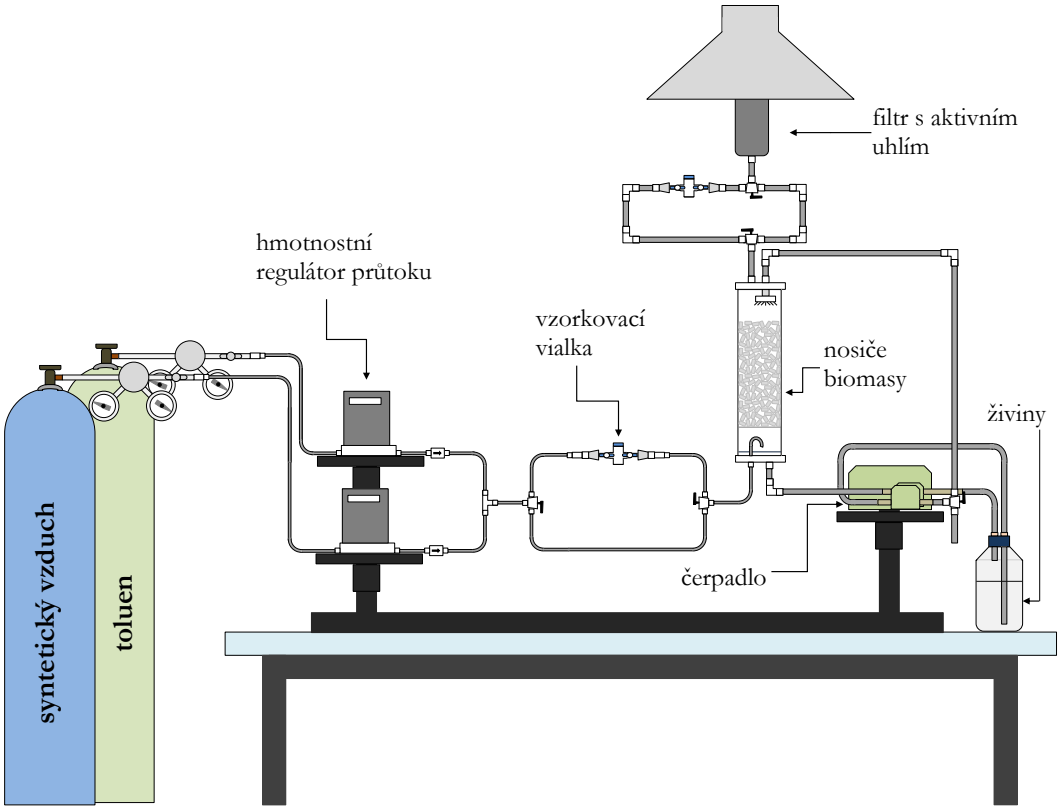
Pro účely této práce byl použit spektrofotometr DR 6000 UV-VIS s nastavitelnou vlnovou délkou v rozmezí od 190 do 1100 nm od společnosti Hach-Lange. Hmotnostní koncentrace látek v roztoku byla stanovena pomocí kyvetových setů od Hach-Lange.

4 Výsledky a diskuze

4.1 Stavba bioreaktoru

4.1.1 Popis biofiltrační jednotky

Pro účely této bakalářské práce a souvisejícího projektu byl jako nejvhodnější typ biofiltru zvolen tzv. skrápěný biofiltr. Jelikož návrh a vlastní konstrukce laboratorní jednotky byl součástí zadání práce, je na tomto místě detailně popsáno finální uspořádání celého testovacího systému. Jeho schéma je znázorněno níže na obrázku 6.

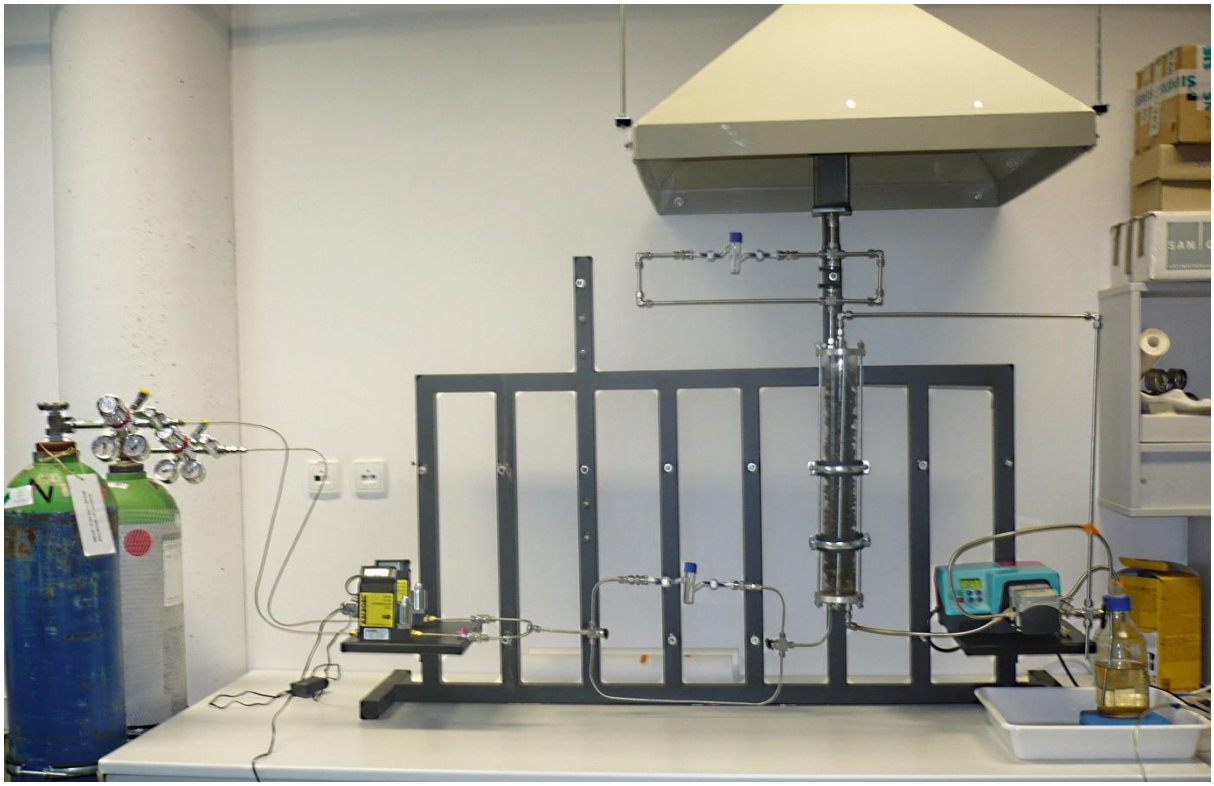


Obrázek 6: Schéma finálního uspořádání biofiltrační jednotky

Kontaminovaný vzduch o požadované koncentraci toluenu byl vytvořen smísením dvou plynů, syntetického vzduchu a toluenu o (původní) definované koncentraci 450 ppm z tlakových láhví. Vstupní koncentrace a průtok toluenu byly regulovány hmotnostními regulátory průtoku. Před mísení obou plynů byly navíc instalovány zpětné klapky pro zamezení reverzního toku plynu. Pomocí trojcestných ventilů bylo možné nastavit proud kontaminovaného vzduchu buď do větve s nainstalovanou vzorkovací vialkou, pomocí které byl jímán vzorek vstupujícího kontaminovaného vzduchu nebo do větve vedoucí přímo do kolony. Jednoduchým vyjmutím vialky ze systému je dále možné přesnou koncentraci polutantu ve vstupním proudu stanovit na plynovém chromatografu (GC).

Po vstupu do kolony prochází plyn skrz nosiče biomasy vyrobené z nanovláken a podpůrné konstrukce – viz jejich detailní specifikace uvedená dále v textu. Na výstupu z kolony je možné proud plynu trojcestnými ventily opět nasměrovat do větve se vzorkovací vialkou nebo přímo do koncového filtru. Před vstupem do digestoře plyn prochází přes filtr s granulovaným aktivním uhlím, na kterém je adsorbován zbytkový polutant.

V poslední části schématu biofiltrační jednotky je nezbytná cirkulace živného média zajišťující jednak přísun živin (zejména N a P), ale také zajišťující dostatečnou vlhkost v koloně. Ze zásobní nádoby je roztok s živinami veden prostřednictvím čerpadla do rozstřikovací hlavice umístěné v horní části kolony. Zpět do zásobní nádoby je roztok odčerpáván ze dna kolony. Za účelem snadného vzorkování koncentrace živin v roztoku byl do okruhu nainstalován trojcestný ventil, který umožňuje velmi snadný odběr vzorku pro analýzu. Fotografie výsledného uspořádání biofiltrační jednotky je uvedena na obrázku 7.



Obrázek 7: Fotografie výsledného uspořádání biofiltrační jednotky

Při konstrukci výše popsané biofiltrační jednotky byla použita řada dílčích celků a jednotek. Jejich bližší specifikace je uvedena dále v textu.

- **Tlakové láhve**

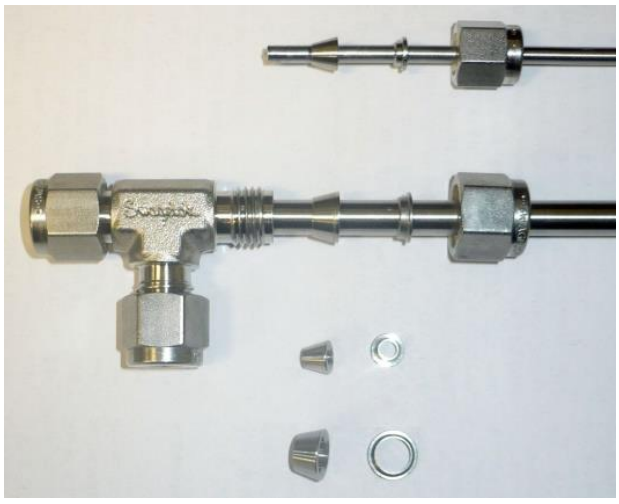
Kontaminovaný plyn byl vytvořen pomocí smísení syntetického vzduchu a toluenu z tlakových láhví od firmy Linde. Pro syntetický vzduch byla použita tlaková láhev o objemu 50 l

s plnícím tlakem 200 bar (20 MPa). Kalibrační plyn toluenu o koncentraci 450 ppm (1825,64 mg·m^{-3}) byl vyroben na zakázku a dodán rovněž v tlakové láhvi o objemu 40 l s plnícím tlakem 10 bar (1 MPa).

- **Hmotnostní regulátory průtoku**

Před vzájemným smísením obou plynů docházelo k nastavení požadované koncentrace toluenu prostřednictvím regulace jejich průtoků, respektive nastavením vzájemných poměrů. Průtoky byly regulovány pomocí dvou hmotnostních průtokoměrů GFC17 dodaných firmou Aalborg, USA – viz obrázek 8. Hmotnostní průtokoměry/regulátory byly předem od výrobce kalibrovány na dané plyny, tj. toluen a syntetický vzduch. Průtok plynu je možno regulovat v rozmezí od 0 do 10 l·min^{-1} u regulátoru průtoku vzduchu a od 0 do 5 l·min^{-1} u regulátoru průtoku toluenu. Požadovanou hodnotu průtoku je možné nastavit buď řídícím signálem z počítače, nebo vestavěným potenciometrem.

Obrázek 8: Hmotnostní průtokoměr a regulátor průtoku



Obrázek 9: Vzduchotěsné komponenty Swagelok (průměr ⅛ a ¼ palce)

- **Komponenty Swagelok**

Laboratorní biofiltrační jednotka byla sestavena pomocí vzduchotěsných komponent z nerezové oceli od společnosti Swagelok, USA – viz obrázek 9. Byly použity jak kapiláry o průměrech ⅛ palce (3,175 mm), tak kapiláry o průměru ¼ palce (6,35 mm). Kapilára a komponenty o menším průměru, ⅛ palce, byly začleněny v části biofiltrační jednotky určené pro smísení plynů před vstupem do kolony. Menší průměr byl vybrán pro zvýšení tlaku procházejícího plynu. Pro zbývající části jednotky byly použity kapiláry a komponenty o průměru ¼ palce. U cirkulačního okruhu větší průměr kapilár snižoval pravděpodobnost jejich zanesení, a to zejména při inokulaci jednotky směsnou kulturou mikroorganismů. Větší průměr kapilár na

výstupní trati plynu z biofiltrační kolony byl zvolen především kvůli nižšímu tlakovému odporu, ale také kvůli vyšší mechanické pevnosti dané části (nedochází k deformaci výstupní tratě).

- **Čerpadlo**

Pohyb kapalné fáze (média s živinami) v cirkulačním okruhu u biofiltrační jednotky byl zajišťován prostřednictvím peristaltického čerpadla Watson Marlow série 323 (obrázek 10) od společnosti AxFlow. Čerpadlo umožňovalo plynulou regulaci otáček chodu v širokém rozmezí hodnot, a tedy i přesnou možnost regulace množství vstupujícího kapalného média do jednotky.

Obrázek 10: Peristaltické čerpadlo Watson Marlow

Obrázek 11: Fotografie vzorkovací vialky

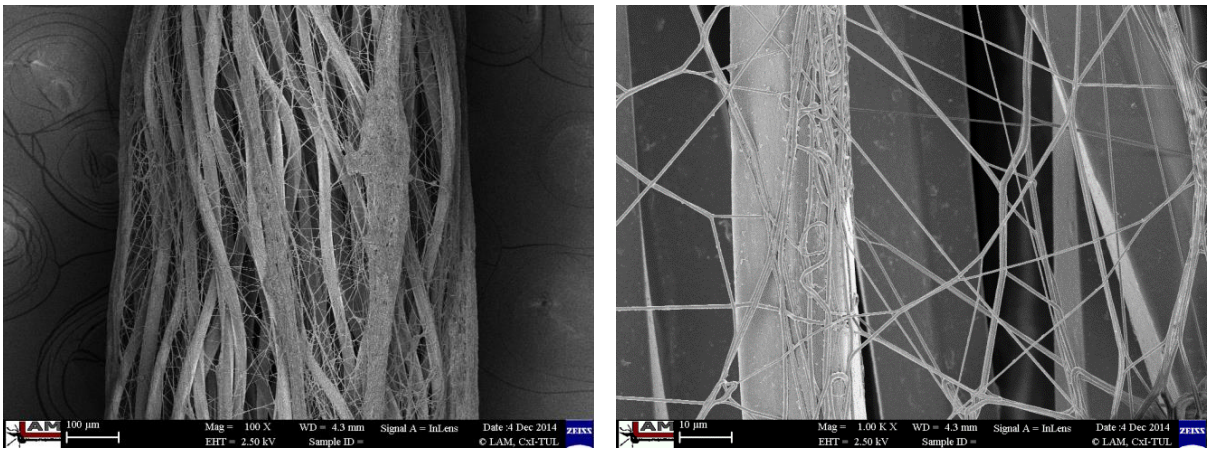
- **Vzorkovací vialka**

Za účelem analýzy koncentrace toluenu, jak ve výstupním proudu plynu, tak pro ověření koncentrace toluenu na vstupu do biofiltrační jednotky, byly do systému začleněny skleněné vzorkovací vialky. Ty byly speciálně navrženy pro tyto účely a následně vyrobeny na Ústavu skla a keramiky VŠCHT Praha.

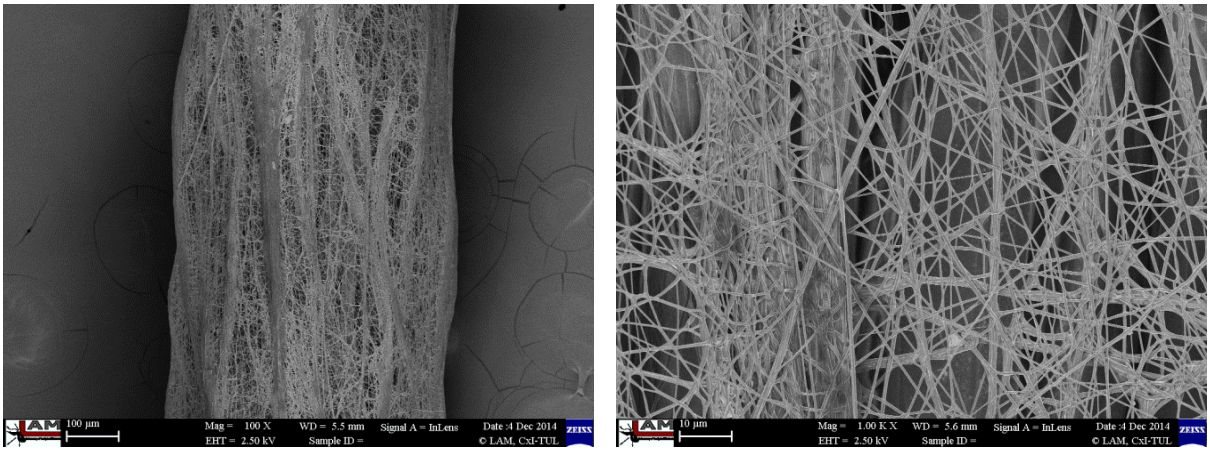
Vzorkovací vialka je tvořena „baňkou“ pro záchyt vzorku daného plynu, která je v horní části utěsněna teflonovým septem. Těsnot septa je zajištěna dostatečným utažením zátkou s otvorem, která zároveň umožňuje průchod vzorkovací jehly autosampleru GC. Na vstupu a výstupu z/do vzorkovací vialky jsou nainstalovány teflonové ventily, kterými se zajišťuje otevření nebo naopak uzavření baňky při odběru vzorku plynu. Vzorkovací vialku je možné jednoduchým způsobem ze systému vyjmout a zachycený plyn analyzovat na GC. Její velikost a tvar byly navrhovány tak, aby ji bylo možné umístit do autosampleru GC a následně analyzovat bez jakékoliv asistence. Není tudíž nutné manuální dávkování vzorku do GC. Fotografie vzorkovací vialky je uvedena na obrázku 11.

4.1.2 Nanovlákenné nosiče

Pro účely této práce byla použita nanovlákna na bázi polyuretanu vyrobená metodou elektrostatického zvlákňování z volné hladiny ve vysokonapěťovém elektrickém poli, tzv. electro-spinningem. Nanovlákna byla nanesena na nosné nitě z polyesterového hedvábí SLOTERA (označení: 167f25x1x1). Byly zvoleny dvě hustoty nánosu nanovláken na nosném vláknu. Menší nános představovala nanovlákna s jemností 5 dtex (plošná hustota 0,56 $g \cdot m^{-2}$) a výrobní rychlostí 216 $m \cdot min^{-1}$ (obrázek 12). Vyšší nános byl tvořen nanovlákny s jemností 10 dtex (plošná hustota 1,12 $g \cdot m^{-2}$) a výrobní rychlostí 108 $m \cdot min^{-1}$ (obrázek 13). Vlákna určená pro následnou výrobu nosičů biomasy byla připravena bez ovinu.

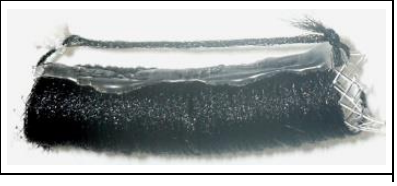


Obrázek 12: Mikroskopické snímky nosného vlákna s nánosem nanovláken: jemnost 5 dtex, zvětšení: 100× a 1000×. Snímky z rastrovacího elektronového mikroskopu (SEM) značky Carl Zeiss ULTRA Plus.



Obrázek 13: Mikroskopické snímky nosného vlákna s nánosem nanovláken: jemnost 10 dtex, zvětšení: 100× a 1000×. Snímky z rastrovacího elektronového mikroskopu (SEM) značky Carl Zeiss ULTRA Plus.

Nosiče biomasy byly vyrobeny navinutím nosných vláken s patřičným nánosem nanovláken na podpůrnou konstrukci, který představoval materiál odplyňovací hadice (firma PEGA-VEL) z polyamidu (obrázek 14). Za účelem této práce byla většina použitých nosičů s vyšším nánosem nanovláken, tedy s hustotou 10 dtex. Pro porovnání rychlostí nárůstu biofilmu bylo do kolony přidáno také několik nosičů s nižším nánosem nanovláken, tedy 5 dtex, a se samotnou nosnou nití, tedy bez nánosu nanovláken.

10 dtex	5 dtex	Nosná niť
		

Obrázek 14: Nosiče z nosných vláken s vyšším nánosem nanovláken (10 dtex), s nižším nánosem nanovláken (5 dtex) a bez nánosu nanovláken

V koloně byly nosiče uloženy na nosné síťce instalované přibližně 5 cm nad dnem. Při prvním sestavení byla tato síť vyrobena pro jednoduchost z drátu. Ze stejného materiálu byly vyrobeny také držáky nosičů závěsné na síťce, které zde byly instalovány za účelem snadnější manipulace a odběru vzorků pro snímkování. Ukázalo se však, že použitý materiál drátu byl náchylný ke korozi, a proto musel být vyměněn za nerezový. Výměna proběhla 72. den od inokulace kolony – viz dále.

4.2 Inokulace

Inokulace mikrobiálním konsorciem, které obsahovalo zejména bakterie rodu *Rhodococcus*, probíhala prostřednictvím cirkulačního okruhu biofiltrační jednotky. Inokulační médium bylo odebráno na průmyslové čistírně odpadních vod v areálu společnosti Lučební závody Draslovka Kolín, kde je tento rod mikroorganismů využíván pro čištění průmyslových odpadních vod. Inokulace biofiltrační jednotky proběhla dne 17. 2. 2015 (1. den). Během 40. a 41. dne se zanesla rozstřikovací hlavice a natlakováním cirkulačního okruhu se uvolnila hadička u čerpadla. Následně došlo k úniku části inokulačního média. Dne 1. 4. 2015 (44. den) bylo proto inokulum *Rhodococcus* přiočkováno, přičemž byl použit jeho stejný zdroj – čistírna odpadních vod společnosti Lučební závody Draslovka Kolín. Během 47. a 48. dne se situace se zanesením rozstřikovací hlavice opět opakovala, a to i přes to, že celá trať byla řádně vyčištěna a vymyta. 51. den byl proto do systému přidán další podíl inokulačního média obsahující rod *Rhodococcus*. Zároveň s inokulem byl do toho okruhu přidán také roztok nezbytných živin.

Roztok živin byl pomocí pipety nejméně jednou týdně dávkován do zásobní nádoby, ze které prostřednictvím cirkulačního okruhu byly živiny dodávány mikrobiální populaci v koloně. Roztok živin obsahoval chlorid amonný (NH_4Cl), hydrogenfosforečnan draselný (K_2HPO_4), glukózu ($C_6H_{12}O_6$) a anilín ($C_6H_5NH_2$). NH_4Cl sloužil jako zdroj dusíku pro mikroorganismy, K_2HPO_4 jako pufr a zároveň jako zdroj fosforu. Jako zdroje uhlíku sloužily $C_6H_{12}O_6$ a $C_6H_5NH_2$. Anilín, jako biodegradabilní netěkavá látka obsahující aromatické jádro, byl do systému dávkován proto, jelikož původní inokulum odebrané z průmyslové čistírny odpadních vod již bylo na tuto sloučeninu adaptováno (vody s obsahem anilínu) a v plánu bylo postupně snižovat dávky anilínu a zároveň zvyšovat dávky toluenu, čímž mělo být docíleno adaptace daného konsorcia na vyšší koncentrace toluenu. Koncentrace jednotlivých látek jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1: Koncentrace jednotlivých živin v roztoku

Složka	NH_4Cl	K_2HPO_4	$C_6H_{12}O_6$	$C_6H_5NH_2$
Koncentrace [mg·l^{-1}]	50	10	100	300

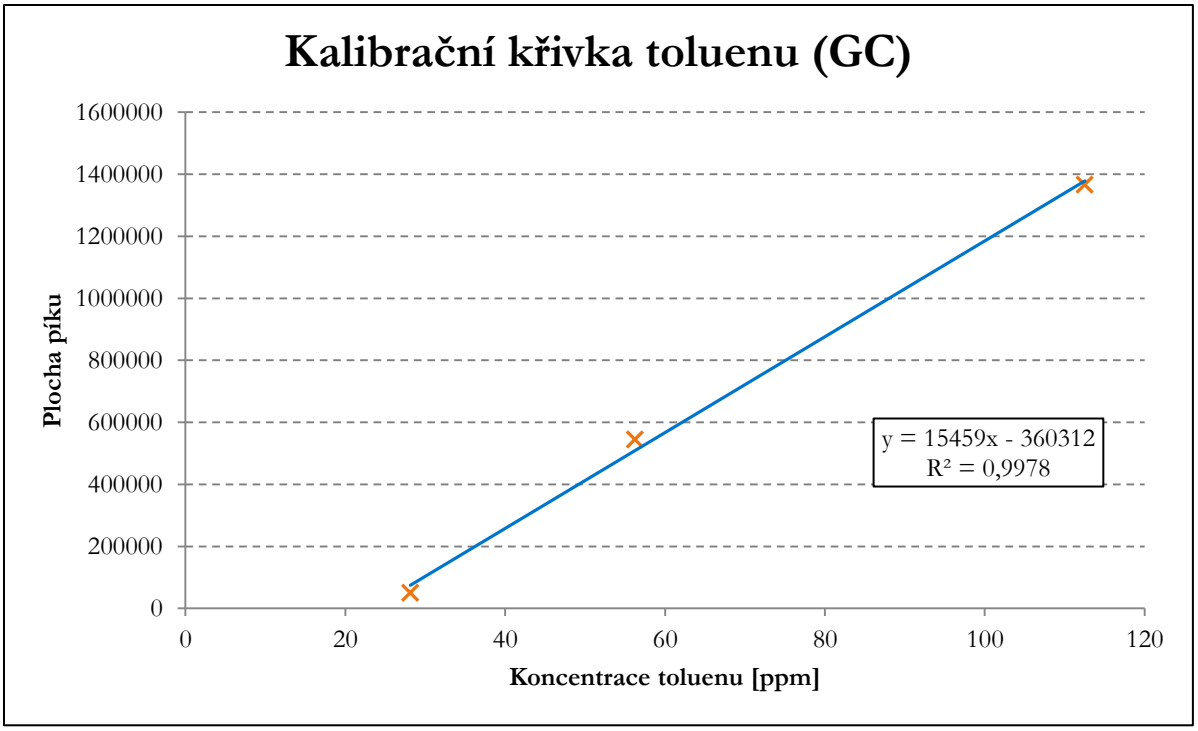
4.3 Chemické analýzy

4.3.1 Kalibrační křivka

Na plynovém chromatografu Varian CP-3800 byla sestrojena podle naměřených údajů (tabulka 2) kalibrační křivka pro toluen – viz obrázek 15. Pro účely této práce byla vytvořena metoda pro měření nízkých koncentrací toluenu. Metoda měření měla následující teplotní režim. Teplota se z původních 45 °C krokově (20 °C za minutu) zvyšovala až na 200 °C. Retenční čas toluenu dosahoval pro tuto metodu 11,27 min.

Tabulka 2: Hodnoty pro připravení a sestrojení kalibrační křivky

Koncentrace toluenu		**Průtok [l·min^{-1}]**		**Plocha píku**
[ppm]	**[mg·m^{-3}]**	**Toluen**	**Syntetický vzduch**	
28,125	114,1	0,10	1,50	50830
56,25	228,2	0,25	1,75	544716
112,5	456,4	0,25	0,75	1367000



Obrázek 15: Kalibrační křivka toluenu naměřená na plynovém chromatografu Varian CP-3800

4.3.2 Spektrofotometrické metody

Pomocí spektrofotometrických metod bylo prováděno stanovení koncentrace živin v roztoku ($P\text{-}PO_4^{3-}$ a $N\text{-}NH_4^+$) a chemické spotřeby kyslíku ($CHSK_{Cr}$) v odebraném vzorku kapalné fáze. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulce 3. Na základě těchto výsledků byly upravovány přídavky jednotlivých aditiv.

Tabulka 3: Naměřené hodnoty koncentrace živin a chemické spotřeby kyslíku ($CHSK_{Cr}$)

Den od inokulace	Koncentrace [mg·l^{-1}]		Koncentrace $CHSK_{Cr}$ [mg·l^{-1}]	
	$P\text{-}PO_4^{3-}$	$N\text{-}NH_4^+$	Nefiltrovaný vzorek	Filtrovaný vzorek
18.	5,8	302	1264	1026
60.	0,496	170	-	-
63.	-	-	173	151
72.	0,395	168	124	-

4.4 Mikrobiologické testy

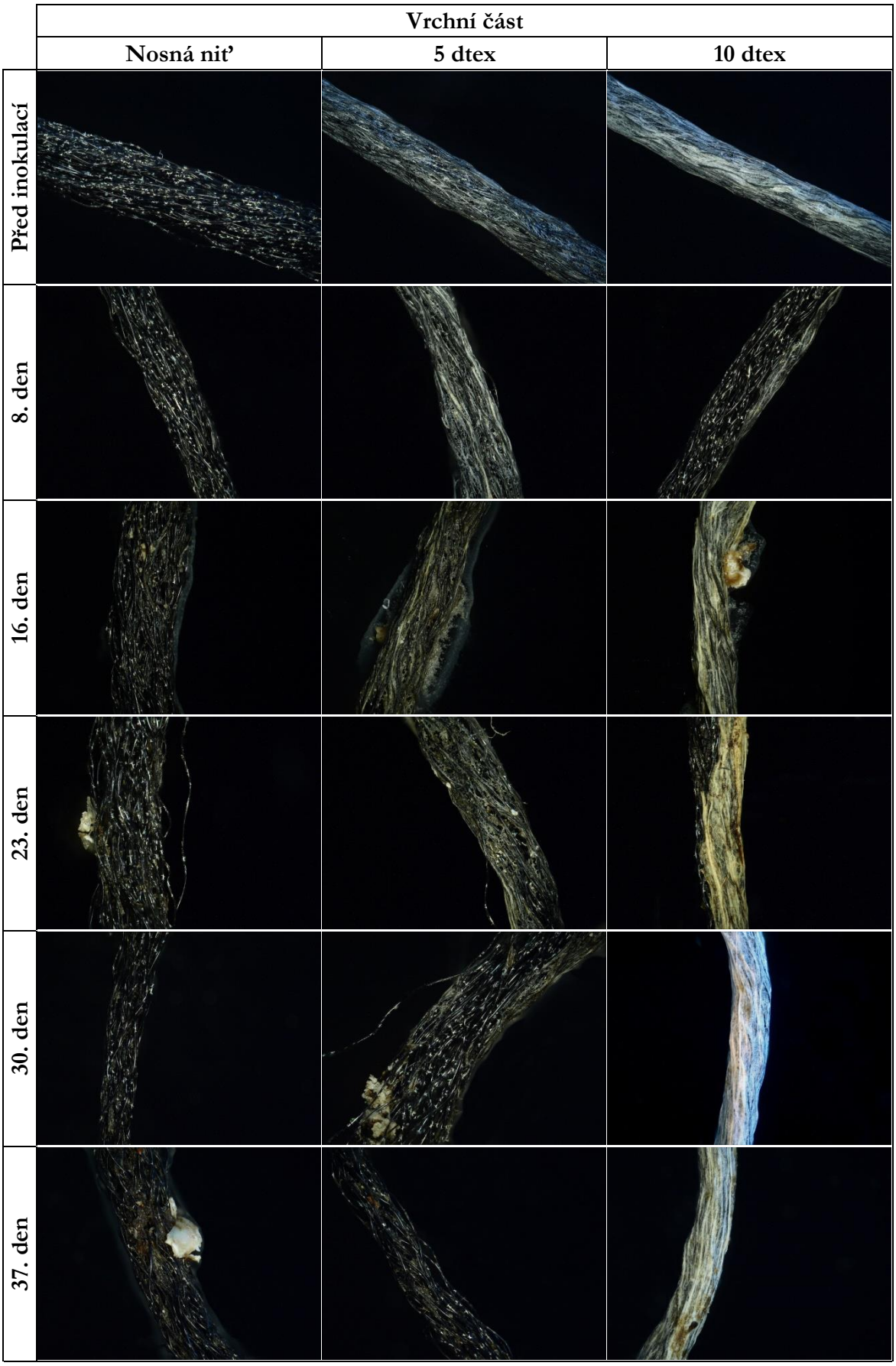
4.4.1 Nárůst biofilmu na nosičích

Nárůst biofilmu na nosičích byl pravidelně sledován prostřednictvím mikroskopických technik. Bylo prováděno snímkování všech tří druhů nosičů (různých hustot nánosů nanovláken

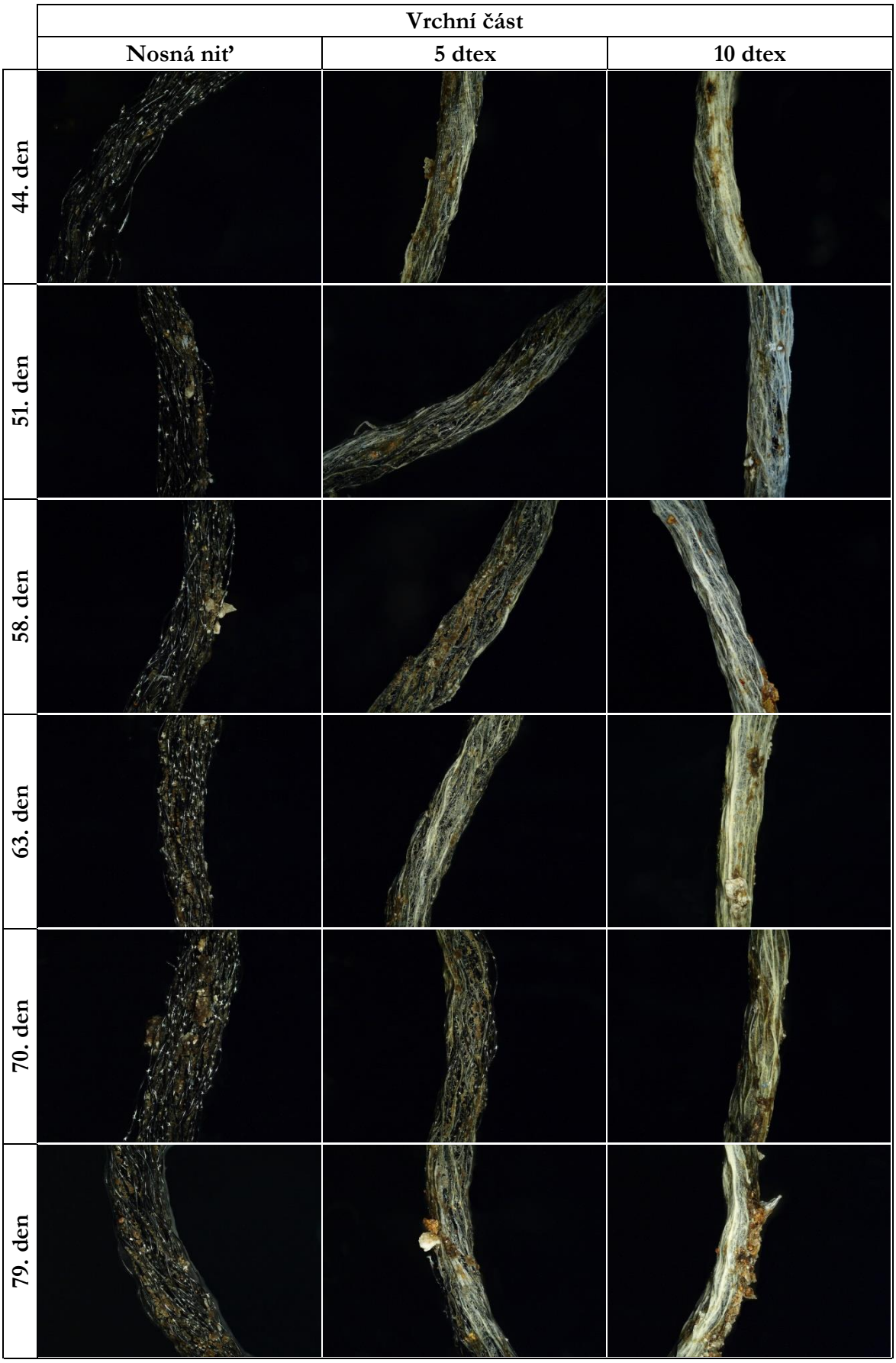
i nosné nitě bez nánosu nanovláken), a to jak z vrchní, tak ze spodní části kolony. Snímkování bylo prováděno na optickém mikroskopu Olympus BX51M při zvětšení 50×. Výsledky mikroskopického snímkování jsou uvedeny na obrázcích 16, 17 a 18.

Prvních pět týdnů po inokulaci bylo možné sledovat zřetelné přichycení mikroorganismů na vláknech nosičů. V případě nosiče vyrobeného jen z nosné nitě, tj. bez nánosu nanovláken, se mikroorganismy uchytily více uvnitř vlákna než na jeho povrchu, na rozdíl od ostatních nosičů. Na všech vláknech, tj. na vláknech s vyšším nánosem nanovláken (10 dtex), nižším nánosem nanovláken (5 dtex) a bez nánosu nanovláken, bylo 16. dne možné pozorovat vrstvu, která mohla být tvořena glukózou, látky přítomné v roztoku živin, a která se objevila pouze na snímcích tento den. Dále je patrné, že na nosičích ze spodní části kolony byly detekovány korozní částice. Ty zde byly pozorovány jako následek koroze drátu tvořícího nosnou síť nosičů biomasy v koloně. Od 37. dne bylo na nosičích pozorováno další rozrůstání biofilmu. Bylo zjevné, že u nosiče vyrobené pouze z nosné nitě a nosiče s nižším nánosem nanovláken, tj. 5 dtex, vykazovaly vyšší nárůst biofilmu v porovnání s nosiči vyrobenými z vyššího nánosu nanovláken, tj. 10 dtex – viz obrázek 17, 58. den. Vyšší nános nanovláken, jak je patrné na obrázku 13, již mohl v porovnání s nižším nánosem (obrázek 12) tvořit relativně hladký povrch, který následně zhoršoval fixaci mikroorganismů na povrch vlákna. Kdežto v případě nižšího nánosu nanovláken bylo na jeho povrchu stále dost vhodných míst umožňující jejich fixaci. Na snímcích ze 70. a 79. dne byl na vláknech všech nosičů již dobře pozorovatelný nárůst biofilmu bez výraznějších změn mezi jednotlivými typy nosičů. Nejvyšší nárůst byl pozorován na nosičích vyrobených pouze z nosné nitě. Na nosičích s nánosem nanovláken 5 dtex byl pozorován vyšší nárůst než na nosičích s nánosem nanovláken 10 dtex, ačkoliv nosiče s nánosem nanovláken 10 dtex již v tyto dny vykazovaly významně vyšší nárůst biofilmu, než v předchozím průběhu.

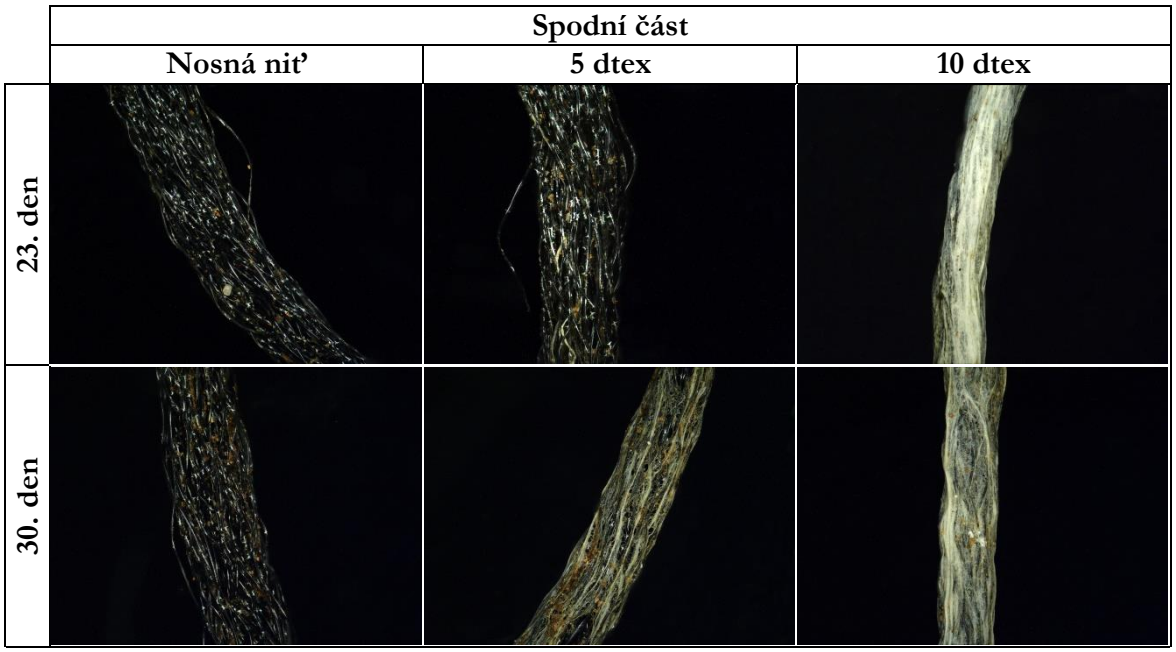
Jelikož nanovlákna přítomná na nosném vláknu nosičů nebyla mechanicky chráněna ovinem, tzn. dalším vláknem navinutým křížově okolo nosného vlákna, v některých případech došlo k poškození nánosu nanovláken, a to především mechanickými vlivy či manipulací s vláknem před jeho mikroskopickou analýzou.



Obrázek 16: Snímky nárůstu biofilmu na nosičích z vrchní části kolony (zvětšení 50×)



Obrázek 17: Snímky nárůstu biofilmu na nosičích z vrchní části kolony (zvětšení 50×)

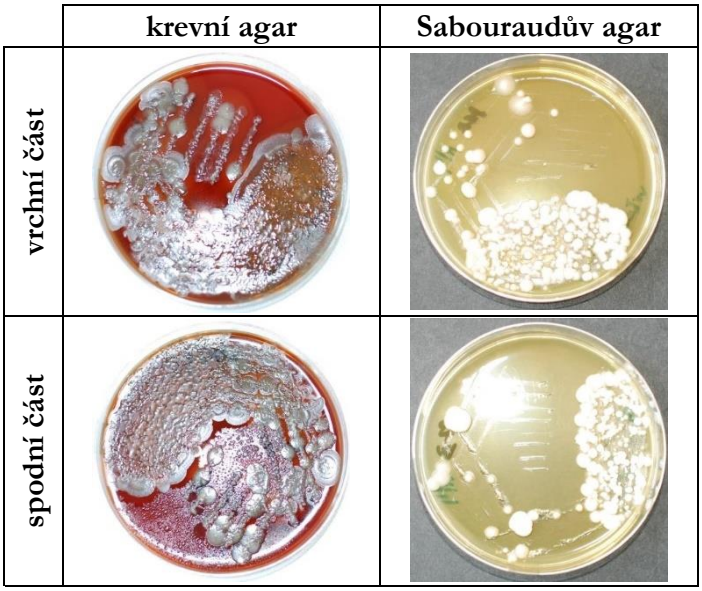


Obrázek 18: Snímky nárůstu biofilmu na nosičích ze spodní části kolony (zvětšení 50×)

4.4.2 Kultivační testy

Odběr vzorků biofilmu ze spodní a vrchní části biofiltrační kolony byl proveden 44. den od inokulace. Vzorky byly kultivovány na krevním agaru (Columbia agar) a na Sabouraudově agaru (Sabouraud chloramphenicol agar). Na krevním agaru u obou vzorků byla detekována směsná kultura sporulujících aerobních hemolytických i nehemolytických mikroorganismů (obrázek 19). Na Sabouraudově agaru u obou vzorků byla většina kultivační plotny porostlá kvasinkami, zatímco detekované plísně byly přítomny v menšině. Z provedeného mikroskopického obrazu vzorku byly dále detekovány sraženiny železa, krystaly solí, ale také byly přítomny zapouzdřené kulaté cysty. Sraženiny železa byly produkty koroze drátu, z kterého byla vyrobena nosná podpora nosičů biomasy v koloně. Krystaly solí byly z největší části pravděpodobně tvořeny chloridem sodným (NaCl), jelikož použité inokulační médium obsahovalo vysoké koncentrace právě chloridu sodného. Rovněž tyto krystaly mohly být tvořeny chloridem amonným (NH_4Cl), látky přítomné v roztoku živin, nebo z chloridu draselného (KCl), produktu reakce (rovnice 9) mezi hydrogenfosforečnanem draselným (K_2HPO_4), látky přítomné v roztoku živin, a kyselinou chlorovodíkovou (HCl), jako jednoho z produktů biodegradace NH_4Cl. Chemická analýza těchto krystalů však nebyla v rámci této práce provedena.

$$K_2HPO_4 + HCl \rightarrow KH_2PO_4 + KCl \qquad (9)$$



Obrázek 19: Kultivace vzorků konsorcia z kolony na krevním a Sabouraudově agaru

4.5 Provoz biofiltru

Před zahájením provozu, tj. zavedením toluenu do biofiltrační jednotky, byl 63. den od její inokulace přiveden do kolony pouze syntetický vzduch. Jeho průtok byl udržován na hodnotě 0,5 $l \cdot min^{-1}$ a zároveň bylo zkontrolováno celkové těsnění jednotky, respektive jednotlivých uzlů a spojů. Další den (64. den) byl zahájen provoz biofiltru, tedy do kolony byl přiveden plyn obsahující toluen. Regulací průtoků syntetického vzduchu a toluenu na poměr 1,5 $l \cdot min^{-1}$ vzduchu a 0,1 $l \cdot min^{-1}$ toluenu byla nastavena požadovaná nejnižší koncentrace toluenu, tedy 114,10 $mg \cdot m^{-3}$ (28,125 ppm). Ovšem již po 3 dnech kontinuálního provozu, tj. 67. den, byl z tlakových láhví vyčerpán veškerý syntetický vzduch i toluen a provoz jednotky musel být proto přerušen. Příčinou rychlého vyčerpání obsahu tlakové láhve obsahující toluen byl především nízký plnící tlak, a ačkoliv byl dodavatelem garantován tlak 10 bar, po spuštění dosahoval tlak v láhvi pouze necelé 3 bar. Nicméně i tak by se provoz prodloužil jen přibližně 3-4krát. Vyšší plnící tlak toluenu v láhvi, než bylo avizovaných 10 bar, však není možný, jelikož by to vedlo k nestabilitě plynu.

4.6 Provozní problémy a návrhy řešení

V průběhu konstrukce, inokulace, ale i samotného uvedení biofiltrační jednotky do provozu, nastalo několik problémů, které významným způsobem zpomalily nebo přímo znemožnily další postup plánovaných prací.

První překážky, které vedly ke zpomalení postupu plánu prací, nastaly při dodávkách některých komponentů biofiltrační jednotky. Hlavním problémem byly dodací lhůty některých komponent, které v několika případech dosahovaly až dvou měsíců, navíc je některé společnosti nedodržely. Doba dodání se prodloužila například z původně avizovaných tří týdnů až na šest. Další zdržení nastalo, když dodávka některých komponent neobsahovala všechny potřebné součásti nutné pro zprovoznění daného komponentu, např. balení hmotnostních regulátorů průtoku neobsahovalo adaptéry, které se musely doobjednat separátně.

Při samotném zahájení provozu, respektive v průběhu inokulace rovněž došlo k několika provozním problémům. Dvakrát například došlo k ucpání rozstřikovací hlavice v koloně. Následným natlakováním cirkulačního okruhu se uvolnila hadička u čerpadla a uniklo inokulační médium. Tento problém byl vyřešen přiočkováním nového konsorcia a dalším mechanickým utěsněním spoje mezi hadičkou a kapilárou.

Dalším problémem byla koroze drátu, ze které byla vyrobena síťka nesoucí lože nosičů biomasy v biofiltrační koloně, a to i přesto, že byl natřen barvou. Sraženiny železa byly následně detekovány i na nosičích odebraných ze spodní části kolony. Následně byl nevhodný drát vyměněn za nerezový a problém vyřešen.

Největší problém ovšem nastal po zahájení provozu, tedy po prvním přídavku toluenu do biofiltrační jednotky. Po pouhých třech dnech kontinuálního provozu byly vyčerpány oba dva plyny, syntetický vzduch i toluen. Provoz jednotky musel být proto zastaven. Důvodem byl nízký plnící tlak, a to především u tlakové láhve obsahující toluen. V další fázi je tedy nutné zabývat se jiným, vhodnějším způsobem dávkování toluenu do biofiltrační kolony. Jedno z možných řešení je nahradit tlakovou láhev syntetického vzduchu kompresorem vzduchu. Ovšem problém zůstává s dávkováním toluenu a regulací jeho koncentrací, které by měly dosahovat pokud možno standardních hodnot bez významnějších fluktuací, aby je bylo možné adekvátně ředit vzduchem a řídit tak provoz celé kolony. V úvahu přichází dávkování toluenu přes promývací baňku či jeho dávkování mikročerpadlem do vyhřívané expanzní nádoby s následným ředěním vzduchem v požadovaném poměru. Tyto varianty však budou muset být nejprve důkladně diskutovány otestovány.

5 Závěr

Cílem této práce bylo otestovat nanovlákna jako nosiče biomasy při biofiltraci vzduchu kontaminovaného toluenem. Pro jeho realizaci bylo na základě literární rešerše navrhnuto schéma biofiltrační jednotky, zvoleny její komponenty a sestavena laboratorní biofiltrační jednotka. Nosiče biomasy, jimiž byla biofiltrační jednotka naplněna, byly vyrobeny z nosných vláken převážně s nánosem polyuretanových nanovláken s jemností 10 dtex. Pro porovnání nárůstu biofilmu byly do kolony přidány také nosiče vyrobeny z nosných vláken s nižším nánosem polyuretanových nanovláken, tj. 5 dtex, a nosiče vyrobené pouze z nosné nitě, tedy bez nánosu nanovláken.

Biofiltrační jednotka byla prostřednictvím cirkulačního okruhu inokulována předem vybraným mikrobiálním konsorciem obsahující především bakterie rodu *Rhodococcus*. Nárůst biofilmu na nosičích byl pravidelně sledován prostřednictví mikroskopických technik. Bylo zjištěno, že nárůst biofilmu byl pomalejší na nosičích s vyšším nánosem nanovláken (10 dtex) než na nosičích s nižším nánosem nanovláken (5 dtex). Možné vysvětlení spočívá v rozdílném charakteru povrchu vláken. Vyšší nános nanovláken tvořil totiž relativně hladší povrch, který mohl být horší pro fixaci mikroorganismů na povrchu vlákna, než nižší nános nanovláken. I přes problémy se zanesením cirkulačního okruhu byl již 70. den od inokulace dobře pozorovatelný nárůst biofilmu na nosičích.

Po dostatečném nárůstu biofilmu byl zahájen provoz zavedením toluenu do biofiltrační jednotky. Po 3 dnech kontinuálního provozu byl z tlakových láhví vyčerpán veškerý syntetický vzduch i toluen a provoz musel být proto přerušen. Problém spočíval v nízkém plnícím tlaku, zejména u tlakové láhve obsahující toluen, u které po spuštění dosahoval tlak pouze necelé 3 bar, místo dodavatelem garantovaných 10 bar. Nicméně i tak by se provoz prodloužil jen přibližně 3-4krát. Z těchto výsledků vyplynulo, že využití tlakových láhví nebylo vhodné pro dlouhodobý provoz biofiltrační jednotky.

Z důvodu selhání části laboratorní jednotky navržené pro vytvoření kontaminovaného vzduchu nebyla otestována biofiltrační funkce této jednotky v plánovaném rozsahu. Po volbě a otestování vhodnějšího způsobu dávkování/ředění polutantu do biofiltrační jednotky bude v provozu jednotky pokračováno.

Použitá literatura

AALBORG, 2014. *GFC Mass Flow Controller Operating Manual* [online]. 2014. Dostupné z: http://www.aalborg.com/images/file_to_download/A_GFC%20Manual%20TD9709M%20Rev%20P.pdf.

AMBROŽOVÁ, Jana, 2004. *Mikrobiologie v technologii vod* [online]. 1. vyd. Praha: VŠCHT. ISBN 80-708-0534-X. Dostupné z: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-80-7080-534-X/pages-img/.

BAJI, Avinash, Yiu-Wing MAI, Shing-Chung WONG, Mojtaba ABTAHI a Pei CHEN, 2010. Electrospinning of polymer nanofibers: Effects on oriented morphology, structures and tensile properties. *Composites Science and Technology* [online]. 5., roč. 70, č. 5, s. 703–718 [vid. 15. únor 2015]. ISSN 0266-3538. Dostupné z: doi:10.1016/j.compscitech.2010.01.010.

BARHATE, R a S RAMAKRISHNA, 2007. Nanofibrous filtering media: Filtration problems and solutions from tiny materials. *Journal of Membrane Science* [online]. 15.6., roč. 296, č. 1-2, s. 1–8 [vid. 20. únor 2015]. ISSN 0376-7388. Dostupné z: doi:10.1016/j.memsci.2007.03.038.

BHARDWAJ, Nandana a Subhas C. KUNDU, 2010. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances* [online]. 5., roč. 28, č. 3, s. 325–347 [vid. 15. únor 2015]. ISSN 0734-9750. Dostupné z: doi:10.1016/j.biotechadv.2010.01.004.

COHEN, Yariv, 2001. Biofiltration – the treatment of fluids by microorganisms immobilized into the filter bedding material: a review. *Bioresource Technology* [online]. 5., roč. 77, č. 3, s. 257–274 [vid. 6. únor 2015]. ISSN 0960-8524. Dostupné z: doi:10.1016/S0960-8524(00)00074-2.

COX, Huub HJ a Marc A DESHUSSES, 1998. Biological waste air treatment in biotrickling filters. *Current Opinion in Biotechnology* [online]. 6., roč. 9, č. 3, s. 256–262 [vid. 9. listopad 2014]. ISSN 0958-1669. Dostupné z: doi:10.1016/S0958-1669(98)80056-6.

DE CARVALHO, Carla C.C.R., 2012. Adaptation of Rhodococcus erythropolis cells for growth and bioremediation under extreme conditions. *Research in Microbiology* [online]. 2., roč. 163, č. 2, s. 125–136 [vid. 14. listopad 2014]. ISSN 0923-2508. Dostupné z: doi:10.1016/j.resmic.2011.11.003.

DE CARVALHO, Carla C. C. R. a M. Manuela R. DA FONSECA, 2005b. Degradation of hydrocarbons and alcohols at different temperatures and salinities by Rhodococcus erythropolis DCL14. *FEMS Microbiology Ecology* [online]. 2., roč. 51, č. 3, s. 389–399 [vid. 14. listopad 2014]. ISSN 0168-6496, 1574-6941. Dostupné z: doi:10.1016/j.femsec.2004.09.010.

DE CARVALHO, Carla C. C. R. a M. Manuela R. DA FONSECA, 2005a. The remarkable Rhodococcus erythropolis. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 6., roč. 67, č. 6, s. 715–726 [vid. 28. listopad 2014]. ISSN 0175-7598, 1432-0614. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-005-1932-3.

DE CARVALHO, Carla C. C. R., Vanessa FATAL, Sebastião S. ALVES a M. Manuela R. DA FONSECA, 2007. Adaptation of Rhodococcus erythropolis cells to high concentrations of toluene. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 10., roč. 76, č. 6, s. 1423–1430 [vid. 9. listopad 2014]. ISSN 0175-7598, 1432-0614. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-007-1103-9.

DELHOMÉNIE, Marie-Caroline, Louise BIBEAU, Julie GENDRON, Ryszard BRZEZINSKI a Michèle HEITZ, 2003. A study of clogging in a biofilter treating toluene

vapors. *Chemical Engineering Journal* [online]. 8., roč. 94, č. 3, s. 211–222 [vid. 17. listopad 2014]. ISSN 1385-8947. Dostupné z: doi:10.1016/S1385-8947(03)00052-4.

DONLAN, Rodney M., 2002. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerging Infectious Diseases* [online]. 9., roč. 8, č. 9, s. 881–890 [vid. 10. únor 2015]. ISSN 1080-6040, 1080-6059. Dostupné z: doi:10.3201/eid0809.020063.

Evropská unie, 2010. Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2010/75/EU: o průmyslových emisích (integrované prevenci a omezování znečištění). In: *Úřední věstník Evropské unie.*

FOXALL, Kerry, 2014. *Toluene: general information, incident management and toxicology* [online]. 2014. B.m.: Public Health England. [Vid. 14. listopad 2014] Dostupné z: https://www.gov.uk/government/publications/toluene-properties-incident-management-and-toxicology.

HACH-LANGE, Company, 2013. *DR 6000* [online]. Dostupné z: http://www.hach.com/asset-get.download.jsa?id=12166310600.

CHAUDHARY, Anisha, Ashish GUPTA, Rakesh B MATHUR a Sanjay R DHAKATE, 2014. Effective antimicrobial filter from electrospun polyacrylonitrile-silver composite nanofibers membrane for conducive environment. *Adv Mater Lett* [online]. Roč. 5, č. 10, s. 562–568 [vid. 20. únor 2015]. ISSN 0976-3961. Dostupné z: doi:10.5185/amlett.2014.572.

CHEN, Hong, Chunping YANG, Guangming ZENG, Shenglian LUO a Guanlong YU, 2012. Tubular biofilter for toluene removal under various organic loading rates and gas empty bed residence times. *Bioresource Technology* [online]. 10., roč. 121, s. 199–204 [vid. 7. únor 2015]. ISSN 0960-8524. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2012.06.031.

JIRSÁK, Oldřich, Filip SANETRNÍK, David LUKÁŠ, Václav KOTEK, MARITNOVÁ a Jiří CHALOUPEK, 2009. Method of nanofibres production from a polymer solution using electrostatic spinning and a device for carrying out the method [online]. WO2005024101 A1. září 2009. Dostupné z: https://www.google.com/patents/US7585437.

KAZMAROVÁ, Helena, Bohumil KOTLÍK, Mirka MIKEŠOVÁ, Helena VELICKÁ a Věra VRBÍKOVÁ, 2014. Zdravotní důsledky a rizika znečištění ovzduší. In: *Systém monitorování zdravotního stavu obyvatelstva České republiky ve vztahu k životnímu prostředí* [online]. 1. vydání. Praha: Státní zdravotní ústav, s. 137. ISBN 978-80-7071-332-7. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/documents/chzp/odborne_zpravy/OZ_13/ovzdusi_2013.pdf.

KENNES, C. a M. C. VEIGA, ed., 2013. *Air pollution prevention and control: bioreactors and bioenergy*. Hoboken: WILEY, A John Wiley & Sons, Ltd., Publication. ISBN 978-1-1199-4331-0.

KHAN, Faisal I a Aloke KR. GHOSHAL, 2000. Removal of Volatile Organic Compounds from polluted air. *Journal of Loss Prevention in the Process Industries* [online]. 11., roč. 13, č. 6, s. 527-545 [vid. 17. říjen 2014]. ISSN 0950-4230. Dostupné z: doi:10.1016/S0950-4230(00)00007-3.

KINOVIČ, Filip, Rostislav KÁŇA a Karel KADLEC, 2003. Tepelné hmotnostní průtokoměry a regulátory [online]. Roč. 2003, č. 12. ISSN 1210-9592. Dostupné z: http://automa.cz/index.php?id_document=29006.

KROFTA, Jiří, 2001. *Návody pro laboratorní cvičení z analytické chemie II*. 6. přeprac. vyd. B.m.: VŠCHT. ISBN 80-7080-451-3.

LEDVINA, Miroslav, Alena STOKLASOVÁ a Jaroslav CERMAN, 2004. *Biochemie pro studující medicíny*. Praha: Karolinum. ISBN 80-246-0849-9.

LEWANDOWSKI, Zbigniew, 2014. *Fundamentals of biofilm research*. Second edition. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group. ISBN 978-1-4665-5959-2.

LIN, Tong a Xungai WANG, 2013. *Needleless Electrospinning of Nanofibers : Technology and Applications* [online]. Boca Raton: Pan Stanford. ISBN 978-9-8143-1635-4. Dostupné z: http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=nlebk&AN=661046&lang=cs&site=ehost-live.

LU, Chungsying, Min-Ray LIN a Chenghaw CHU, 2002. Effects of pH, moisture, and flow pattern on trickle-bed air biofilter performance for BTEX removal. *Advances in Environmental Research* [online]. 3., roč. 6, č. 2, s. 99–106 [vid. 6. únor 2015]. ISSN 1093-0191. Dostupné z: doi:10.1016/S1093-0191(00)00072-1.

MUDLIAR, Sandeep, Balendu GIRI, Kiran PADOLEY, Dewanand SATPUTE, Rashmi DIXIT, Praveena BHATT, Ram PANDEY, Asha JUWARKAR a Atul VAIDYA, 2010. Bioreactors for treatment of VOCs and odours – A review. *Journal of Environmental Management* [online]. 5., roč. 91, č. 5, s. 1039–1054 [vid. 1. prosinec 2014]. ISSN 0301-4797. Dostupné z: doi:10.1016/j.jenvman.2010.01.006.

OMEGA, 2000. *Electronic Mass Flowmeters* [online]. Dostupné z: http://www.omega.com/toc_asp/frameset.html?book=Green&file=MASS_FLOW_REF.

PETRÍK, Stanislav, 2011. Industrial Production Technology for Nanofibers. In: Tong LIN, ed. *Nanofibers - Production, Properties and Functional Applications* [online]. B.m.: InTech [vid. 20. prosinec 2014]. ISBN 978-953-307-420-7. Dostupné z: http://www.intechopen.com/books/nanofibers-production-properties-and-functional-applications/industrial-production-technology-for-nanofibers.

RENE, Eldon R., D.V.S. MURTHY a T. SWAMINATHAN, 2005. Performance evaluation of a compost biofilter treating toluene vapours. *Process Biochemistry* [online]. 7., roč. 40, č. 8, s. 2771–2779 [vid. 8. únor 2015]. ISSN 1359-5113. Dostupné z: doi:10.1016/j.procbio.2004.12.010.

SINICA, Alla, 2010. Spektrofotometrie ve viditelné oblasti spektra. *VŠCHT. Ústav analytické chemie* [online]. Dostupné z: http://old.vscht.cz/anl/lach1/5_Foto.pdf.

SON, Won Keun, Ji Ho YOUK, Taek Seung LEE a Won Ho PARK, 2004. Preparation of Antimicrobial Ultrafine Cellulose Acetate Fibers with Silver Nanoparticles. *Macromolecular Rapid Communications* [online]. 24.9., roč. 25, č. 18, s. 1632–1637 [vid. 20. únor 2015]. ISSN 1022-1336, 1521-3927. Dostupné z: doi:10.1002/marc.200400323.

VANDECASTEELE, Jean-Paul., 2008. *Petroleum microbiology: concepts, environmental implications, industrial applications*. Paris: Editions Technip. ISBN 978-27108-0906-7.

VERGARA-FERNÁNDEZ, Alberto, Lucia LARA MOLINA, Nelson Alarcón PULIDO a Germán AROCA, 2007. Effects of gas flow rate, inlet concentration and temperature on the biofiltration of toluene vapors. *Journal of Environmental Management* [online]. 7., roč. 84, č. 2, s. 115-122 [vid. 26. leden 2015]. ISSN 0301-4797. Dostupné z: doi:10.1016/j.jenvman.2006.04.009.

WANG, Xue Ping a Wei Dong LI, 2012. Fabrication and Applications of Nanofibers via Electrospinning. In: *Nanofibers : Synthesis, Properties, and Applications* [online]. [Hauppauge] New York]: Nova Science Publishers Inc, Nanotechology Science and Technology. ISBN 978-1-622-57085-0. Dostupné z: http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=nlebk&AN=541947&lang=cs&site=ehost-live.

WANG, Zhao, Rakesh GOVIND a Dolloff F. BISHOP, 1996. Review of biofiltration - Effect of support media on biofilter performance. J. Air Waste Manage. *Proceedings of the 89th Annual Meeting and Exhibition of the Air and Waste Manage. Assoc., Nashville, Tennessee.*

ZILLI, Mario, Emilio PALAZZI, Luciane SENE, Attilio CONVERTI a Marco Del BORGHI, 2001. Toluene and styrene removal from air in biofilters. *Process Biochemistry* [online]. 12., roč. 37, č. 4, s. 423–429 [vid. 28. leden 2015]. ISSN 1359-5113. Dostupné z: doi:10.1016/S0032-9592(01)00228-X.