

EVALUATION OF OPERATIONAL APPLICABILITY OF LENTIKATS BIOTECHNOLOGY FOR REMOVAL OF NITRATES FROM BRINES FROM ION-EXCHANGE REGENERATION

POSOUZENÍ PROVOZNÍ APLIKOVATELNOSTI BIOTECHNOLOGIE LENTIKATS PRO ODSTRAŇOVÁNÍ DUSIČNANŮ Z ELUÁTŮ Z REGENERACE IONTOMĚNIČOVÝCH KOLON

Josef Trögl¹⁾, Alžběta Boušková²⁾, Věra Pilařová¹⁾, Petra Dáňová¹⁾, Jan Mrákota²⁾, Jana Měchurová¹⁾, Jana Krudencová¹⁾, Radek Holíček¹⁾, Roman Fryčák¹⁾, Simona Bošková¹⁾, Radek Stloukal²⁾

1) Jan Evangelista Purkyně University in Ústí nad Labem, Faculty of the Environment, Králova Výšina 3132/7, 400 96 Ústí nad Labem, Czech Republic, e-mail: josef.trogl@ujep.cz
2) LentiKat's Inc., Evropská 423/178, 160 00 Praha 6, Czech Republic

Abstract:

This paper summarizes the results of a three-year project focused on the removal of high concentrations of nitrates (up to $10 \text{ g.L}^{-1} \text{ NO}_3^- \sim 2,3 \text{ g.L}^{-1} \text{ N-NO}_3^-$) from brines originating from the regeneration of ion-exchange columns ($20 \text{ g.L}^{-1} \text{ NaCl} + 2 \text{ g.L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$) using denitrifying bacteria encapsulated in polyvinylalcohol matrix (so called Lentikats Biocatalyst, LB). Upon adaptation, the Biocatalyst is capable of denitrification of brines both in continuous and batch setup with denitrification activities as high as $\sim 1000 \text{ mg N} \cdot \text{hr}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ LB}$, comparable to applications of this technology for denitrification of municipal wastewaters. Due to a lack of nutrients in brines regular cultivations of the Biocatalyst is necessary in order to maintain a high denitrification activity. A minimum of one year of Biocatalyst's life-time was confirmed during the experiments.

Keywords:

Lentikats Biotechnology, Lentikats Biocatalyst, polyvinylalcohol, denitrification, ion-exchange brines, high-salinity waters treatment

Abstrakt:

Příspěvek shrnuje výsledky tříletého projektu zaměřeného na odstraňování vysokých koncentrací dusičnanů (až $10 \text{ g/l NO}_3^- \sim 2,3 \text{ g/l N-NO}_3^-$) z eluátů po regeneraci iontoměničových kolon ($20 \text{ g/l NaCl} + 2 \text{ g/l Na}_2\text{SO}_4$) pomocí denitrifikačních bakterií imobilizovaných v polyvinylalkoholové matici (tzv. Biokatalyzátor lentikats). Po adaptaci je Biokatalyzátor schopen v eluátech dosáhnout denitrifikační aktivity srovnatelné s aplikací této technologie pro denitrifikace komunálních odpadních vod (až $\sim 1000 \text{ mg N/hod/kg Biokatalyzátoru}$) a to ve vsádkovém i kontinuálním uspořádání. Vzhledem k absenci živin v eluátech je pro dlouhodobé udržení aktivity nutné Biokatalyzátor pravidelně kultivovat. V průběhu testování byla ověřena minimální životnost Biokatalyzátoru jeden rok.

Klíčová slova:

Biotechnologie lentikats, Biokatalyzátor lentikats, polyvinylalkohol, denitrifikace, eluáty iontoměničových kolon, čištění slaných vod

Úvod

Biokatalyzátorem lentikats (BL) je označován biologický materiál imobilizovaný v polyvinylalkoholové matici technologií Lentikats dle německého patentu DE 198 27 552 (v ČR patent č. 294179). Použití BL přináší četné výhody pro biotechnologické aplikace. Imobilizace do PVA je vysoce biokompatibilní a zachovává většinu aktivity imobilizované biomasy. Matrice nebrání rozmnožování imobilizovaných mikroorganismů a umožňuje tak za vhodných podmínek dlouhodobé udržení vysoké aktivity BL. Díky hustotě matrice blízké hustotě vody je BL snadno udržován ve vznosu a v kombinaci s čočkovitým tvarem, omezujícím difúzní limitaci, tak umožňuje dosáhnout vysokých rychlostí biochemické konverze. Snadná je i separace po skončení procesu pomocí mechanického separátoru (Jekel et al., 1998; Jahnz et al., 2001; Schlieker and Vorlop, 2006).

Výroba BL je zvládnuta v průmyslovém měřítku společností LentiKat's a.s. a je tak možné získat velké množství homogenního Biokatalyzátoru. Biotechnologie Lentikats našla četné aplikace např. v lihovarnictví, farmacii a při čištění odpadních vod. V posledně jmenovaném oboru jsou výzkumné a provozně-aplikační aktivity soustředěné na odstraňování dusíkatého znečištění (Sievers et al., 2002; Kříženecká et al., 2009; Černík a kol., 2010), a to zejména z průmyslových či jinak problematicky čistitelných vod. Hlavními přednostmi jsou zde vysoké dosahované koncentrace nitrifikačních a denitrifikačních mikroorganismů v systému při současně silně redukované produkci odpadního kalu, vysoká účinnost odbourávání dusíkatého znečištění s dosahovanými prakticky nulovými odtokovými koncentracemi, možnost čistit i vysoké koncentrace znečištění (řádově g/l NH_4^+ , resp. NO_3^-) a vyšší odolnost imobilizovaných mikroorganismů umožňující odstraňovat dusíkaté polutanty i ze specificky znečištěné odpadní vody, např. toxické nebo zasolené (Boušková et al., in press; Černík a kol., 2010; Trögl et al., 2010, 2011a,b).

Na FŽP UJEP byl v minulých letech řešen projekt zaměřený na využití BL pro odstraňování vysokých koncentrací dusičnanů z eluátů vznikajících regenerací iontoměničových kolon. Iontoměniče jsou využívány zejména pro odstraňování dusičnanů z pitných, bazénových a podobných vod; jejich regenerace je prováděna koncentrovanými roztoky anorganických solí. Vznikající eluáty jsou pak charakteristické vysokou salinitou, vysokou koncentrací dusičnanů a absencí živin a jejich regenerace je problematická, popř. velmi nákladná (McAdam and Judd, 2008). Použitelnost BL pro denitrifikaci těchto eluátů byla demonstrována v předchozích příspěvcích věnovaných jak vsádkovému (Trögl et al., 2010, 2011b), tak kontinuálnímu uspořádání (Boušková et al., v tisku; Trögl et al., 2010). Bylo prokázáno, že po adaptaci BL je nejvýznamnějším faktorem ovlivňujícím denitrifikační aktivitu právě nedostatek živin, který způsobuje postupný úbytek životaschopné biomasy a tedy nutnost pravidelné regenerace BL. V zasolených vodách jsou pak adaptované Biokatalyzátory schopné dosahovat srovnatelných denitrifikačních aktivit jako v neinhibujícím prostředí (Trögl et al. 2011b, v řízení). Tato práce doplňuje předchozí výsledky o dlouhodobé (cca roční) pokusy a shrnuje výsledky zejména z aplikačního hlediska.

Experimentální část

V tomto testu byl použit denitrifikační Biokatalyzátor lentikats připravený na velkokapacitní lince LentiKat's a. s.

Simulované roztoky eluátů byly připravovány z destilované vody přidávkem chloridu sodného, síranu sodného (20 g/l NaCl + 2 g/l Na_2SO_4) a dusičnanu draselného (až 10 g/l $\text{NO}_3^- \sim 2,3$ g/l N- NO_3^-) o čistotě p.a. Jako zdroj organického substrátu pro denitrifikaci byl dávkován ethanol v cca 50% stechiometrickém přebytku 4,2 g CHSK (0,58 ml 100% ethanolu)/g N- NO_3^- .

Aktivita Biokatalyzátoru je vyjadřována v gramech odbouraného dusíku jedním kilogramem BL za jednu hodinu. U vsádkových pokusů je počítána z doby potřebné pro odbourání počátečního N- NO_3^- na nízké hodnoty, obvykle pod mez stanovitelnosti. U kontinuálních pokusů byla aktivita počítána z rozdílu mezi aktuálním nátokem a odtokem N v ustáleném stavu.

Experimenty byly prováděny ve skleněných reaktorech o objemu 15 litrů (pracovní objem 10 litrů) nebo v kádinkách o objemu 5 litrů (pracovní objem 3 litry), bez temperace a regulace pH. Bylo použito 10 % objemového plnění BL a ve vzhledu byl BL udržován lopatkovým míchadlem s varioátorem (v reaktoru), resp. magnetickým míchadlem (v kádince). Pomocí měřicích elektrod byly sledovány hodnoty pH, rozpuštěného kyslíku a teploty. Průtočného uspořádání bylo dosaženo pomocí sady dávkovacích a odtahových peristaltických čerpadel (včetně separátního čerpadla pro roztok organického substrátu) a síťovými separátory pro udržení BL v reaktoru. Průtoky systémem byly průběžně kontrolovány.

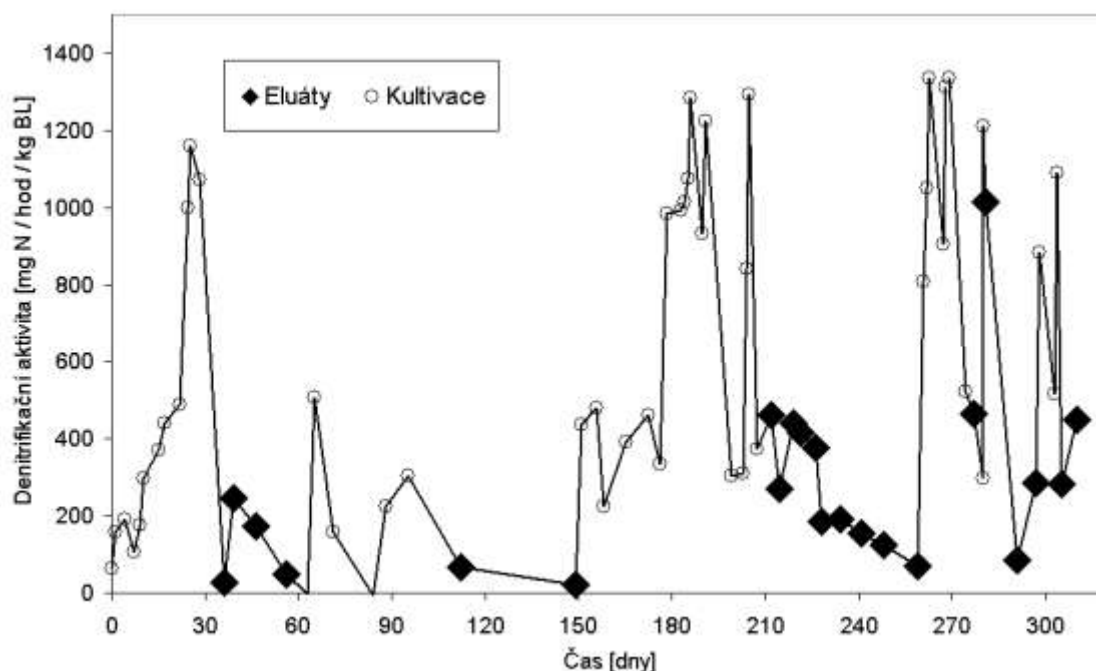
Kultivace imobilizovaných denitrifikačních mikroorganismů byla prováděna anoxicky pomocí minerálního denitrifikačního kultivačního média (MDM, Trögl et al., 2011b) s přidávkou dusičnanu draselného. Pro zajištění dostatečného zdroje C byl při kultivačních pokusech dávkován dvojnásobek ethanolu než při pokusech s eluáty, tj. 8,4 g CHSK/g N.

Pravidelně byla sledována koncentrace dusičnanů (iontovou chromatografií), dusitanů (spektrofotometricky), CHSK_{Cr} (filtrovaná a celková, spektrofotometricky) a zákal (optická densita, OD_{600}), vyjadřující koncentraci volné biomasy. V kontinuálních pokusech byl dále sledován i obsah rozpuštěných a nerozpuštěných látek a ztráty žiháním (ČSN 75 7346, ČSN 75 7347, ČSN EN 872, ČSN 75 7350). Podle potřeby byla rovněž sledována i koncentrace fosforečnanů a amonných iontů (spektrofotometricky). Detaily analytických metod i jejich validace na vzorky s vysokou salinitou jsou uvedeny v předchozích pracích (Trögl et al., 2011b; Pilařová et al., 2011).

Výsledky a diskuze

Dlouhodobé vsádkové denitrifikace eluátů s 10 g/l dusičnanů

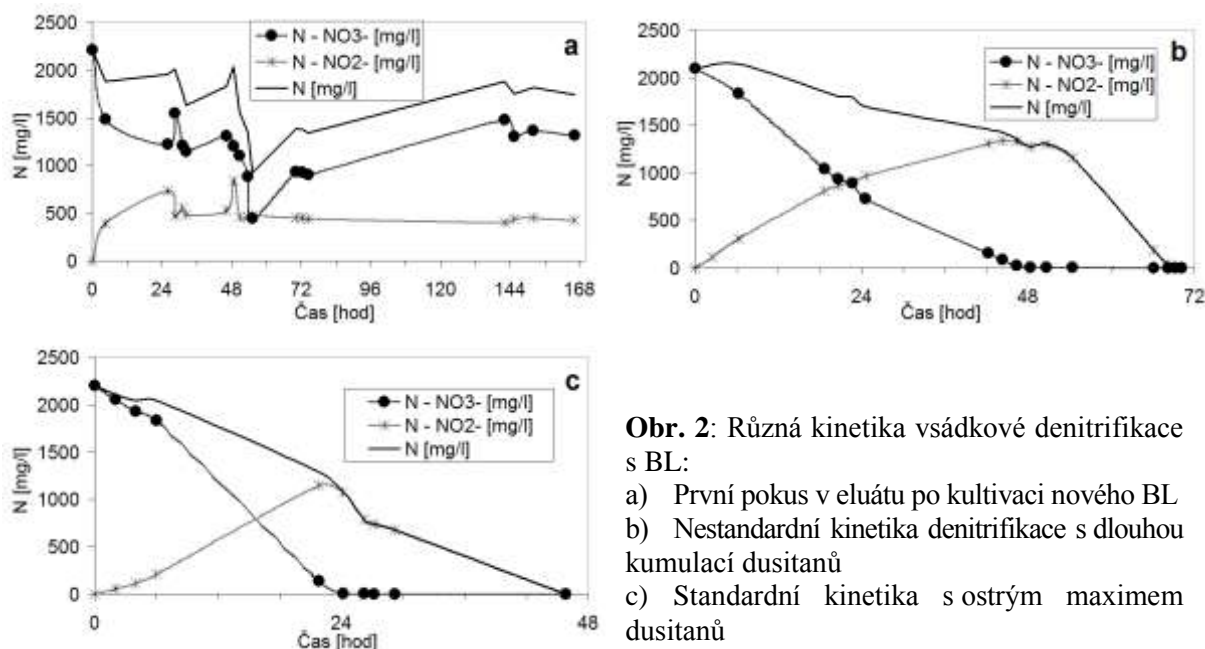
Předchozí práce (Trögl et al., 2010, 2011b) byly zaměřené na vsádkové denitrifikace při proměnlivé koncentraci dusičnanů a proměnlivé salinitě. Bylo prokázáno, že pro udržení vysokých denitrifikačních aktivit je nutné BL pravidelně kultivovat; naopak ředění eluátů vodou pro snížení salinity není nutné. V návaznosti na tyto poznatky byl proveden dlouhodobý experiment zaměřený na opakované vsádkové denitrifikace eluátů při nejvyšší koncentraci 10 g/l NO_3^- ($\sim 2,3 \text{ g/l N-NO}_3^-$), prokládané dle potřeby opakovanými rekultivačními kroky (v MDM + 10 g/l NO_3^- bez přídavku solí). Pro všechny experimenty byla použita stejná várka čerstvě vyrobeného denitrifikačního BL; úvodní fáze experimentů sloužila pro jeho kultivaci na výchozí aktivitu $\sim 1000 \text{ mg N / hod / kg BL}$.



Obr. 1: Chronologický vývoj denitrifikačních aktivit při opakovaných vsádkových denitrifikacích simulovaných eluátů, resp. kultivačních pokusech. Ve všech případech byla použita koncentrace dusičnanů 10 g/l ($\sim 2,3 \text{ g/l N-NO}_3^-$).

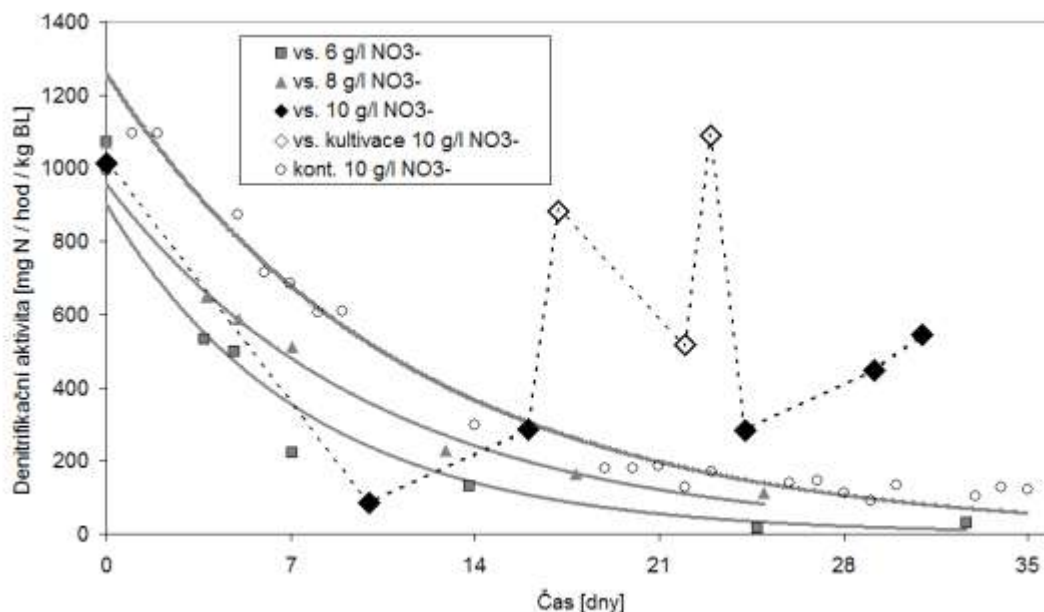
Dosažené denitrifikační aktivity v eluátech byly nižší než v neinhibujícím MDM, s opakovanými regeneracemi se ale postupně zvyšovaly. I přes zřejmé trendy poklesu denitrifikačních aktivit v eluátech, resp. vzestupu při kultivacích, byla zjištěna jejich nečekaně vysoká variabilita. Při hledání zdroje této variability bylo zjištěno, že statisticky nekoresponduje ani s teplotou ani s pH, jejichž variabilita byla podstatně nižší. Za pravděpodobnou příčinou byla určena vysoká kumulace dusitanů, které jsou meziproductem denitrifikace. Inhibice denitrifikace vyššími koncentracemi dusitanů (resp. kyseliny dusité, Glass and Silverstein, 1999) je známa a je i nepřímou příčinou inhibice denitrifikace vysokými koncentracemi dusičnanů. Z předchozích prací (Trögl et al., 2010, 2011) je známo, že denitrifikace s využitím BL probíhá obvykle podle kinetiky nultého řádu s ostrými maximy koncentrace dusitanů, které jsou důsledkem nižší rychlosti redukce dusitanů, než je rychlost redukce

dusičnanů (viz též Obr. 2c). Kinetika dosažená v prezentovaných pokusech byla podobná. Na rozdíl od předchozích testů dusitanová maxima nebyla stejně ostrá a vysoké koncentrace dusitanů se v systému často držely dlouhou dobu na přibližně konstantní koncentrační úrovni, než došlo k jejich rychlému odbourání. Časová prodleva mezi dosažením maxima dusitanů a jeho odbouráním byla značně proměnlivá a ovlivňovala pochopitelně dosažené denitrifikační aktivity. Tuto atypickou kinetiku dobře demonstruje Obr. 2b.



V předchozích pokusech byla dosahovaná kinetika standardní s ostrými maximy dusitanů, tyto pokusy byly nicméně prováděny při koncentracích dusičnanů převážně 5 g/l a nižších. Pro ověření hypotézy, že pozorovaná atypická kinetika denitrifikace je způsobena vyššími koncentracemi dusičnanů, byl v čase 284 dní od startu používaný BL (aktuálně po kultivaci o aktivitě ~1200 mg N / hod / kg BL) rozdělen na tři části, se kterými byly následně prováděny pokusy jak při 10 g/l NO_3^- , tak i při nižších koncentracích (8-6-5 g/l NO_3^-). Pro maximální eliminaci vnějších faktorů byly prováděny tři pokusy paralelně, dvojici vsádkových pokusů s různou koncentrací NO_3^- doplnil průtokový pokus s nátokovou koncentrací 10 g/l NO_3^- . Dosažené výsledky (Obr. 3) hypotézu potvrzují. Pokles denitrifikačních aktivit při vsádkových pokusech s 8, 6, i 5 g/l NO_3^- i paralelně v kontinuálním uspořádání byl srovnatelný a dobře vysvětlitelný kinetikou prvního řádu (R^2 0,85-0,99). Dosažená maxima dusitanů byla sice nadále vysoká (přes 50 % výchozí koncentrace NO_3^-), nicméně převážně standardně ostrá. Oproti tomu vsádkové pokusy při 10 g/l vyústily opět ve variabilní denitrifikační aktivity a delší periodu s maximem dusitanů. Nátokové koncentrace 10 g/l NO_3^- neměly naopak na denitrifikaci negativní vliv v průtokovém uspořádání, což lze přičíst podstatně nižší aktuální koncentraci N- NO_x^- v reaktoru. Tento poznatek lze považovat za hlavní výhodu průtokového uspořádání proti vsádkovému. Přestože i ve vsádkových pokusech s 10 g/l NO_3^- bylo dosaženo kompletního odbourávání dusičnanů, variabilita dosažených aktivit ukazuje, že účelnější bude vsádkově denitrifikovat pouze eluáty o koncentraci 8 g/l NO_3^- a nižší. Toho lze dosáhnout např. zkrácením doby kontaktu regeneračního roztoku s iontoměničím.

Nestandardní kinetika při vsádkových denitrifikacích s 10 g/l N- NO_3^- byla pozorována zejména při pokusech s eluáty, při kultivačních pokusech v MDM se objevovala v daleko menším rozsahu. To vede k hypotéze, že tato inhibice není způsobena jen samotnou vysokou koncentrací dusičnanů, ale spíše synergickým působením vysoké osmotické hladiny a vysoké koncentrace dusičnanů. Problém je nadále zkoumán.



Obr. 3: Porovnání poklesu denitrifikačních aktivit při vsádkových denitrifikacích eluátů s různou koncentrací dusičnanů a v průtočném uspořádání s 10 g/l NO₃⁻. vs. = vsádkový pokus, kont. = průtočný pokus. Z grafu jsou pro přehlednost vynechána data naměřené s 5 g/l NO₃⁻ srovnatelná s daty při 6 g/l a 8 g/l NO₃⁻.

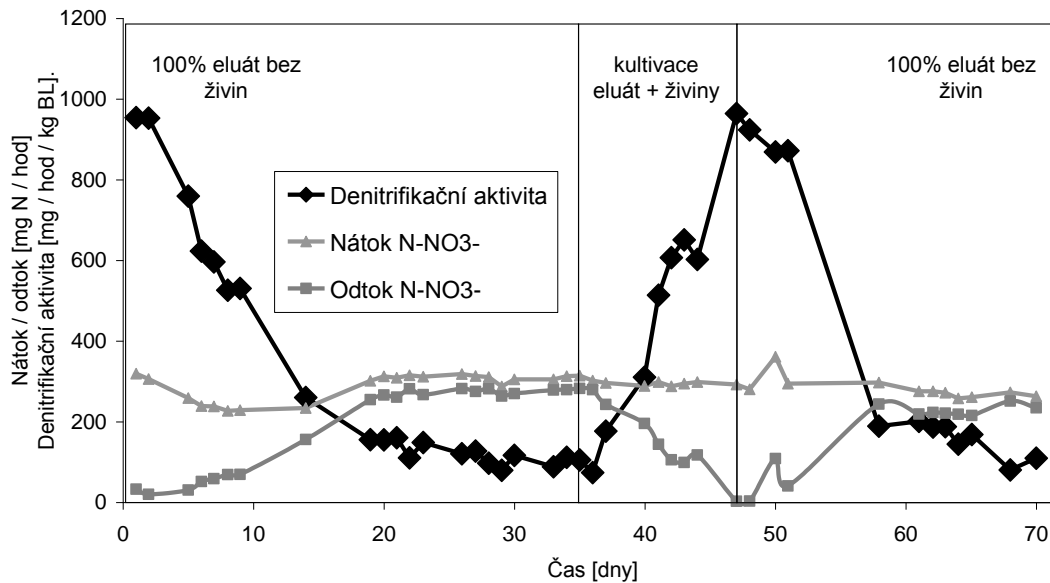
Adaptace imobilizovaných mikroorganismů

Předchozí práce ukázaly nutnost adaptace denitrifikantů na prostředí koncentrovaných eluátů pro dosažení maximálních denitrifikačních aktivit (Trögl et al., v řízení). Jedná se pravděpodobně o adaptaci fyziologickou, projevující se hlavně při prvním kontaktu imobilizovaných bakterií s eluát (osmotický šok), tak i adaptaci mikroevoluční, projevující se postupnou selekcí odolnější populace v důsledku cyklického střídání fází odumírání (při denitrifikacích eluátů bez živin) a kultivačních fází. Ve shodě s předchozími experimenty došlo v prvním pokusu s novým BL k nestandardnímu a silně inhibovanému průběhu denitrifikace (Obr. 2a), při kterém byl zaznamenán pokles pH, kumulace dusitanů i zpětný růst koncentrace dusičnanů. V druhém pokusu už byl tento jev velmi slabý a v dalších pokusech už k němu nedocházelo.

Mikroevoluční adaptaci pak naznačuje postupný růst maximálních denitrifikačních aktivit v eluátech s postupujícími cykly eluáty-regenerace (Obr. 1). V předchozích pokusech nicméně docházelo k významnému vzestupu denitrifikačních aktivit už po první regeneraci vyčerpaného BL. Je pravděpodobné, že rychlejší adaptaci brzdí opět vyšší koncentrace dusičnanů. I tento problém bude nadále zkoumán.

Kontinuální pokusy s adaptovaným BL

Předchozí kontinuální experimenty (Trögl et al., 2010; Boušková et al., v tisku) potvrdily dlouhodobou použitelnost Biotechnologie lentikats i v tomto uspořádání. Nejvyšší dosažené denitrifikační aktivity se pohybovaly okolo 400 mg N / hod / kg BL, jsou tedy srovnatelné s denitrifikačními aktivitami dosahovanými při intenzifikaci komunálních ČOV (Černík a kol., 2010), nicméně stále nižší, než je možné dosáhnout v denitrifikačním minerálním médiu. V návaznosti byl proveden pokus s plně adaptovaným BL (podíl ze vsádkových pokusů odebraný v čase 284 dní), nakultivovaným na aktivitu ~1200 mg N / hod / kg BL). Průběh pokusu ukazuje Obr. 4. S adaptovaným BL bylo v eluátech dosaženo denitrifikační aktivity blížící se 1000 mg N / hod / kg BL. Po očekávaném poklesu aktivity bylo možné enkapsulované denitrifikační mikroorganismy rekulivovat zpět na výchozí aktivitu, a to pouhým přidavkem živin do eluátu (3% roztok MDM) a následně dosáhnout opět výchozí denitrifikační aktivity ~1000 mg N / hod / kg BL.



Obř. 4: Opakované průtočné denitrifikace 100% eluátu (10 g/l NO₃⁻) s vloženým regeneračním (kultivačním) krokem. Použit byl adaptovaný denitrifikační BL.

Spotřeba CHSK na denitrifikace

Ve všech pokusech byl dávkován ~50% přebytek potřebné stechiometrické dávky CHSK, aby byla vyloučena limitace denitrifikace nedostatkem organického substrátu. Skutečná spotřeba se v dlouhodobých vsádkových pokusech pohybovala nad stechiometrickým poměrem (3,0±0,6 g CHSK / g N), při kultivacích pak výše (3,3±0,3). Ve vsádkových pokusech nebyla pozorována žádná závislost na čase ani na aktuální denitrifikační aktivitě BL. V kontinuálních pokusech se skutečná spotřeba CHSK pohybovala okolo stechiometrického poměru jen tehdy, odpovídal-li nátok N aktuální denitrifikační aktivitě a odtokové koncentrace N-NO_x⁻ byly blízké nule. Při poklesu denitrifikační aktivity a s tím souvisejícím zvyšování odtokových koncentrací N-NO_x⁻ docházelo ke kumulaci CHSK v systému a systematickému zvyšování odbouraného poměru CHSK:N až na několikanásobky, ať už v důsledku abiotických ztrát (odpar, sorpce) nebo kvůli ukládání zásobního C.

Aplikační souhrn

Dosažené výsledky ukazují použitelnost denitrifikačních Biokatalyzátorů lentikats pro odstraňování dusičnanů z eluátů iontoměničových kolon. I přes částečnou potřebu dalšího výzkumu lze technologii považovat za připravenou pro aplikace ve vodárenské praxi:

- Po nutné adaptaci je možné dosáhnout vysokých denitrifikačních aktivit BL (až 1000 mg odbouraného N / hod / kg BL) srovnatelných s aktivitami v neinhibujícím prostředí.
- S účinností více jak 98 % lze odbourávat koncentrace až 10 g/l NO₃⁻ (~2,3 g/l N-NO₃⁻) v kontinuálním a až 8 g/l NO₃⁻ (~1,8 g/l N-NO₃⁻) ve vsádkovém uspořádání.
- Dosažované denitrifikační aktivity i jejich pokles s časem jsou srovnatelné ve vsádkovém i průtočném uspořádání. Hlavními výhodami vsádkového uspořádání je lepší kontrola nad výsledným stupněm odstranění N-NO_x⁻ a spotřebovanou CHSK. Hlavní výhodou průtočného uspořádání je možnost denitrifikovat vyšší koncentrace až 10 g/l NO₃⁻ a nižší potřeba technologických zásahů (výměna média apod.) i retenčních nádrží.
- Denitrifikační aktivita BL v eluátech průběžně klesá v důsledku absence živin. Vyčerpaný Biokatalyzátor lze opakovaně re-kultivovat, a to jak odděleně v denitrifikačním médiu, tak přímo přidávkou minerálních živin do čistěných eluátů. Minimální životnost BL je 1 rok.

Závěr

Přispěvek shrnul aplikovatelnost denitrifikačních bakterií enkapsulovaných v polyvinylalkoholové matici (tzv. Biokatalyzátor lentikats) pro odstraňování vysokých koncentrací dusičnanů (až 10 g/l NO₃⁻ ~2,3 g/l N-NO₃⁻) z eluátů po regeneraci iontoměničových kolon (až 20 g/l NaCl + 2 g/l Na₂SO₄).

Spolu s úspěšnými testy zaměřenými na denitrifikaci zasolených odsiřovacích OV a důlních vod nebo nitrifikaci toxických OV z produkce difenylguanidinu (Boušková et al., v tisku; Trögl et al., 2011a) ukazují prezentované výsledky široký potenciál Biotechnologie lentikats při odstraňování dusíku z vod (typicky průmyslových OV), které jsou pro svou salinitu, toxicitu či nedostatek živin běžnými biologickými postupy obtížně čistitelné.

Poděkování

Výzkum byl spolufinancován firmou LentiKat's a.s., Výzkumným centrem „Pokročilé sanační technologie a procesy“ (projekt MŠMT 1M0554) a interní grantovou agenturou Univerzity Jana Evangelisty Purkyně v Ústí n. L.

Literatura:

Boušková A., Mrákota J., Stloukal R., Trögl J., Pilařová V., Křiklavová L., Lederer T. Three examples of nitrogen removal from industrial wastewater using Lentikats Biotechnology. *Desalination*. In press. DOI: 10.1016/j.desal.2011.07.001.

Černík M. a kol. 2010. Kapitola 6.1 v *Chemicky podporované in situ sanační technologie*. pp 244-255. Vydavatelství VŠCHT Praha ISBN 978-80-7080-767-5.

Glass C., Silverstein J. 1999. Denitrification of high-nitrate, high-salinity wastewater, *Water Res.* 33, pp 223-229.

Jahnz U., Wittlich P., Prüsse U., Vorlop K. D. 2001. New matrices and bioencapsulation processes. V Hofman M., Thonart P. (eds.), *Engineering and manufacturing for biotechnology*, pp 293-307. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands.

Jekel M., Buhr A., Wilke T., Vorlop K. D. 1998. Immobilization of biocatalysts in LentiKats. *Chem. Eng. Technol.* 21, pp 275-278.

Kříženecká S., Trögl J., Pilařová V., Buchtová H., Čechovská L. 2009. Čištění specifických odpadních vod pomocí imobilizovaných mikroorganismů. *Studia Oecol.* 1, pp 95-103.

McAdam, E. J., Judd S. J. 2008. Biological treatment of ion-exchange brine regenerant for re-use: A review, *Separ. Purific. Technol.* 62, pp 264-272.

Pilařová V., Trögl J., Synek V. 2011. Validace fotometrických stanovení dusitanů a CHSK-Cr pomocí setů Spectroquant® v zasolených vodách. *Chem. Listy* 105, pp s55-s57.

Schlieker M., Vorlop K. D. 2006. A novel immobilization method for entrapment LentiKats®. V Guisan J. M. (ed.), *Immobilization of enzymes and cells*, Second edition, pp 333-343. Humana Press Inc., Totowa, New Jersey, USA.

Sievers M., Schäfer S., Jahnz U., Schlieker M., Vorlop K. D. 2002. Significant reduction of energy consumption for sewage treatment by using LentiKat® encapsulated nitrifying bacteria. *Landbauforsch. Volk. SH 241*, pp 81-86.

Trögl J., Krhůtková O., Pilařová V., Dáňová P., Holíček R., Kohlová M., Hejda S., Smrčka J., Boušková A., Křiklavová L. 2011a. Removal of nitrates from high-salinity wastewaters from desulphurization process with denitrifying bacteria encapsulated in Lentikats Biocatalyst. Sborník konference IWA: Water and Industry Valladolid, Španělsko, 1.-4. května 2011.

Trögl J., Boušková A., Mrákota J., Pilařová V., Krudencová J., Měchurová J., Kříženecká S., Stloukal R. 2011b. Removal of nitrates from simulated ion-exchange brines with *Paracoccus denitrificans* encapsulated in Lentikats Biocatalyst. *Desalination* 275, pp 82-86.

Trögl J., Boušková A., Pilařová V., Mrákota J., Stloukal R.: Application of Lentikats Biotechnology for removal of nitrates from ion-exchange brines: Importance of adaptation of encapsulated denitrifiers. *Afr. J. Biotechnol.* V řízení.

Trögl J., Pilařová V., Dáňová P., Holíček R., Krudencová J., Měchurová J., Kohlová M., Krhůtková O., Boušková A., Mrákota J., Stloukal R. 2010. Odstraňování dusičnanů a dusitanů z vod s vysokým obsahem solí pomocí Biotechnologie lentikats. Chemagazín 5, pp 9-11.