

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
České Budějovice**

Diplomová práce

**Směsi kejdy a jiných pufračních materiálů
s biomasou a hodnocení jejich anaerobní
digesce prostřednictvím testů metanogenní
aktivity na aparatuře**

OxiTop® Control AN12

Jan Hodoval 5VZ

Katedra: agroekologie

Akademický rok: 2005/2006

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Jméno a příjmení: Jan H o d o v a l

Studijní program: 4101T Zemědělské inženýrství

Studijní obor: Všeobecně zemědělský obor – ekologie a alternativní systémy
hospodaření

Název tématu: Směsi kejdy a jiných pufracních materiálů s biomasou a hodnocení jejich
Zásady pro vypracování:
anaerobní digesce prostřednictvím testů metanogenní aktivity na aparatuře
OXI TOP CONTROL MERCK

(v zásadách pro vypracování uveďte cíl práce a metodický postup)

Cílem práce je studium optimálních poměrů směsi kejdy a jiných pufracních materiálů s biomasou prostřednictvím testů metanogenní aktivity (TMA) z pohledu maximální produkce bioplynu a jeho kvality při anaerobní digesti.

1. Proved'te literární rešerši: Bioplyn z rostlinné biomasy a) Anaerobní konverze organických substrátů – jednotlivé fáze procesu b) Technologické systémy pro anaerobní digesti fytomasy c) Fytomasa jako substrát pro anaerobní digesti d) Metody k hodnocení rozložitelnosti substrátu pro anaerobní digesti.
3. Proved'te pokusy k hodnocení rozložitelnosti substrátů prostřednictvím TMA na aparatuře OXI TOP CONTROL MERCK.
4. Vypracujte ekonomickou kalkulaci v případě optimalizace anaerobní digesce fytomasy.
5. Diplomovou práci vypracujte v souladu s materiálem „Obecné zásady pro vypracování diplomové práce“

Seznam odborné literatury:
Rozsah grafických prací: dle potřeby

Váňa J., Šlejška A. (1998): Bioplyn z rostlinné biomasy. Studijní informace ÚZPI, 40s.
Rozsah průvodní zprávy: cca 50 stran

- Straka F. a kol.(2003): Bioplyn. GAS s.r.o. Říčany, 523s.
- Petříková V.(2005): Pěstování rostlin pro energetické účely.31 s.
- Schulz H.m Eder B.(2004): Bioplyn v praxi. HEL, 168 s.
- Šurovský J. (2003): Mikroturbína.Instalace Praha, 228 s.
- Gráf W.(2001): Kraftwerk Wiese Strom und Wärme aus Gras.Walter Graf, 156 s.
- Kolář et al. (2005): Methods to evaluate substrate degradability in anaerobic digestion and biogas production. Plant Soil Environ, 51,(4), 173-178.
- Kužel S., Kolář L. (2005): Test metanogenní aktivity na zařízení OXI TOP CONTROL AN 12 MERCK. Coll of Sci Papers, Fac of Agric in Č.B. Crop Sciences, 22(1): 29-32

Vedoucí diplomové práce: Prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc.

Datum zadání diplomové práce: 8.3.2006
Konzultant: Ing. Pavel Štindl

Termín odevzdání diplomové práce: 30. 4. 2008
L.S.

Prof. Ing. Jan Moudrý, CSc.
Vedoucí katedry
V Českých Budějovicích dne 8. 3.

Prof. Ing, Magdaléna Hrabánková, CSc.
Děkan
2006

Prohlašuji, že jsem předloženou diplomovou práci vypracoval samostatně a použil jsem pramenů, které cituji a uvádím v seznamu použité literatury.

V Českých Budějovicích 20.dubna 2008

Jan Hodoval

Souhrn

V teoretické části diplomové práce je popsán mechanismus anaerobního procesu, faktory které ho ovlivňují a popis kvalitativního stanovení bioplynu.

Cílem praktické části bylo stanovení množství a kvality vyprodukovaného bioplynu. Prováděl jsem výzkum zaměřený na zkoumání vybraných druhů fytomasy a jejich vhodnosti pro produkci a kvalitu bioplynu. Na fermentačních lahvích jsem sledoval změnu pH, C_{ox} a úbytek organické hmoty v průběhu anaerobní digesce. Dále jsem stanovoval obsah ligninu a CHSK v jednotlivých vzorcích fytomasy. Na aparatuře OxiTop® Control AN12 jsem měřil maximální výtěžnost a rychlost vývoje metanu a bioplynu na jednotku hmotnosti substrátů.

Klíčová slova: bioplyn, metanogenní aktivita, substrát

Abstrakt

In theoretic parts diploma work is described mechanism anaerobic of the process, factors which him work and description qualitative determination biogas.

Objective practical parts was quantification and qualities produced biogas. Led I'm investigation intent on investigation choice type phytomass and their fitness for production and quality biogas. On fermentative sweetness I'm watched change pH, C_{ox} , decrease organic masses along anaerobic digestion. Further I'm establish entitlements content lignin and CHSK in single figures phytomass. On device OxiTop(control AN12 I'm measured maximum yield and speed development methane and biogas on hundredweight substrates

Key words: biogas, methanogenic activity, digestion of maize silage

Název diplomové práce:

Směsi kejdy a jiných pufracních materiálů s biomasou a hodnocení jejich anaerobní digesce prostřednictvím testů metanogenní aktivity na aparatuře OxiTop® Control AN12

Studijní obor:

Všeobecné zemědělství

Specializace:
hospodaření

Ekologie a alternativní způsoby

Diplomant:

Jan Hodoval

Vedoucí diplomové práce:

prof. Ing. Stanislav Kužel, Csc.

Odevzdáno dne:

20.dubna 2008

Děkuji vedoucímu mé diplomové práce panu prof. Ing. Stanislavu Kuželovi, Csc. za odborné vedení, odborné rady a všestrannou pomoc při řešení problémů spojených s touto prací. Dále chci poděkovat svému konzultantovi Ing. Pavlu Štindlovi pomoc při řešení metodiky. Děkuji také celému kolektivu Katedry Agroekologie, sekce agrochemie a pedologie za pomoc a příjemné pracovní prostředí.

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

Obsah

1. ÚVOD.....	12
2. ANAEROBNÍ DIGESCE.....	13
2.1. ANAEROBNÍ PROCES.....	13
2.1.1. <i>Hydrolýza</i>	13
2.1.2. <i>Acidogeneze</i>	14
2.1.3. <i>Acetogeneze</i>	14
2.1.4. <i>Metanogeneze</i>	15
2.2. DŮLEŽITÉ FAKTORY PROCESU.....	17
2.2.1. <i>Teplota</i>	17
2.2.2. <i>pH a alkalita</i>	18
2.2.3. <i>Nižší mastné kyseliny</i>	19
2.2.4. <i>Mikro- a makroelementy</i>	19
2.2.5. <i>Inhibiční látky</i>	20
2.2.6. <i>Optimální koncentrace acetátu</i>	21
2.2.7. <i>Inhibice vzdušným kyslíkem</i>	21
2.2.8. <i>Metabolismus a produkce CO₂</i>	22
2.2.9. <i>Sulfan</i>	22
2.2.10. <i>Amoniak</i>	23
2.2.11. <i>Lignoocelulózové materiály</i>	23
2.2.11.1. <i>Celulóza</i>	24
2.2.11.2. <i>Hemicelulózy</i>	25
2.2.11.3. <i>Lignin</i>	25
2.2.12. <i>Proteiny</i>	26
2.2.13. <i>Lipidy</i>	26
2.3. METODY K HODNOCENÍ ROZLOŽITELNOSTI SUBSTRÁTU PRO ANAEROBNÍ DIGESCI.....	26
2.4. METODY POSUZUJÍCÍ VÝTĚŽNOST BIOPLYNU.....	27
2.4.1. <i>Teoretické výpočty</i>	27
2.4.2. <i>Praktické metody</i>	30
3. ZDROJE BIOMASY PRO VÝROBU BIOPLYNU.....	34
4. TECHNOLOGIE A ZAŘÍZENÍ NA VÝROBU BIOPLYNU.....	35
4.1. ROZDĚLENÍ TECHNOLOGIÍ NA VÝROBU BIOPLYNU.....	35
4.2. SLOŽENÍ BIOPLYNOVÉ STANICE.....	36
4.2.1. <i>Příjem a úprava materiálu</i>	36
4.2.2. <i>Anaerobní reaktorové nádoby na tekutý materiál</i>	37
4.2.3. <i>Bioplynová koncovka</i>	37
4.2.4. <i>Kalová koncovka</i>	37
4.3. TECHNOLOGIE NA VÝROBU BIOPLYNU.....	37
4.3.1. <i>Technologie výroby bioplynu z tekutých materiálů</i>	37
4.3.2. <i>Technologie na výrobu bioplynu z tuhých materiálů</i>	38
4.4. SKLADOVÁNÍ A ZUŽITKOVÁNÍ BIOPLYNU.....	39
4.4.1. <i>Skladování bioplynu</i>	39
4.4.1.1. <i>Úprava bioplynu</i>	40
4.4.2. <i>Zužitkování bioplynu</i>	41
5. METODIKA TESTŮ ANAEROBNÍ BIOLOGICKÉ ROZLOŽITELNOSTI.....	42

5.1. POPIS PRINCIPU MĚŘENÍ APARATURY OxiTOP®-CONTROL AN 12.....	42
5.1.1. Příprava materiálu.....	42
5.1.2. Nastavení parametrů 22 denního testu.....	42
5.1.3. Průběh testů.....	43
5.1.4. Stanovení maximální produkce metanu při 22 denním testu.....	44
6. METODIKA KINETICKÉHO HODNOCENÍ BIODEGRADABILITY ORGANICKÉ HMOTY.....	49
6.1.1. Popis principu měření.....	49
6.1.2. Příprava substrátu.....	50
6.1.2.1. Měření průběhu pH.....	50
6.1.2.2. Stanovení obsahu organických látek.....	51
6.1.2.3. Stanovení obsahu Cox a CHSK.....	52
6.1.2.4. Stanovení ligninu.....	54
7. BILANCE MECHANIZACE VÝPOČTU MAXIMÁLNÍ VÝTĚŽNOSTI BIOPLYNU.....	56
7.1. BILANCE PODLE CHSK.....	56
8. EKONOMICKÁ KALKULACE VYUŽITÍ SUBSTRÁTŮ PRO PRODUKCI BIOPLYNU.....	60
9. STATISTIKA.....	62
10. VÝSLEDKY.....	64
11. ZÁVĚR A DISKUSE.....	65
SEZNAM LITERATURY.....	67
PŘÍLOHY.....	74

1. Úvod

Zatížení životního prostředí skleníkovými plyny, způsobené velkou měrou spalováním fosilních paliv, se v posledních padesáti letech exponenciálně zvyšuje a způsobuje nárůst průměrných teplot na Zemi se všemi jeho negativními dopady. Česká republika je vázána ratifikovanými mezinárodními smlouvami jež jí zavazují dodržování ekologických pravidel. V Kyotském protokolu se zavázala k zajištění minimálního objemu produkce energie z obnovitelných zdrojů, mezi které bioplyn z fytomasy nesporně patří. Kromě produkce energie jsou současně vytvářeny pro zemědělství důležité a někdy i nedostatkové vedlejších produkty. Při anaerobní fermentaci mohou být likvidovány odpady ze zemědělských a potravinářských podniků, které mohou v surovém nezpracovaném stavu představovat zátěž pro životní prostředí nebo způsobit vznik nakažové situace, nebezpečné pro hospodářská zvířata i člověka.

Anaerobní fermentace a kofermentace rostlinných materiálů se vzhledem k rostoucí potřebě „čisté“ energie, klesajícím zásobám tuhých paliv a ne soběstačnosti ve fosilních palivech stává jednou z výhodných možností jak s těmito materiály nakládat. Oproti dosavadním způsobům zacházení s rostlinnými materiály má řadu výhod. Energie obsažená v biomase je efektivně převedena do vznikajícího bioplynu, stabilizovaný kal po fermentaci je dobrým hnojivem se zvýšenou dostupností minerálů. Digestát příznivě ovlivňuje půdní strukturu má vliv na zvyšující se půdní úrodnost. V průběhu anaerobní fermentace dochází k snížení obsahu patogenních organismů a plevelných semen ve fytomase. Akumulace a spalování bioplynu zabraňuje únikům metanu z hnojišť a snižuje množství tohoto skleníkového plynu v atmosféře. Negativem anaerobní digesce je nízká účinnost procesu daná nízkou rozložitelností rostlinného materiálu vzhledem k vysokému obsahu těžko hydrolyzovatelných látek, jako jsou celulózy, hemicelulózy a lignin.

2. Anaerobní digesce

Anaerobní digesce je komplexní biochemický proces probíhající v několika fázích a uskutečňovaný několika typy mikroorganismů za absence vzdušného kyslíku. Je to přirozený proces, probíhající v přírodě za určitých podmínek samovolně (Garcia et al., 2000).

Hlavní konečné produkty digesce organických sloučenin v anaerobních prostředích jsou metan a oxid uhličitý (Baresi et al., 1978). Organické odpady mohou být touto cestou využity k získání energie a organického hnojiva (Lettinga et al., 2004; Štindl, 2008).

2.1. Anaerobní proces

Anaerobní digesce probíhá v několika nezávislých a paralelních biochemických reakcích, během nichž produkty jedné skupiny mikroorganismů slouží jako substrát pro další. Produktem digesce organické hmoty je směs metanu, oxidu uhličitého a dalších plynů, jejichž obsah je zanedbatelný. Dnes je uznáván tzv. čtyřfázový systém: hydrolýza, acidogeneze, acetogeneze a metanogeneze (Gujer a Zehnder, 1983; Štindl, 2008). Při přirozeném průběhu digesce je důležité, že procesy biochemické konverze jsou navzájem provázané, a nedochází k akumulaci přechodných produktů v systému (Kaseng et al., 1992; Štindl, 2008). Proces probíhá za anaerobních podmínek, hlavními činiteli procesu jsou mikroorganismy dvou biologických říší, a to *Bacteria* a *Archaea* (Štindl, 2008).

Je třeba konstatovat, že biochemické a mikrobiologické procesy anaerobní digesce organických substrátů nejsou zcela plně pochopeny (Lettinga et al., 1991; Štindl, 2008)

2.1.1. Hydrolýza

V hydrolytické fázi dochází k rozkladu makromolekulárních látek, především polysacharidů, lipidů a proteinů. Tyto děje probíhají jak v aerobním, tak i v anaerobním prostředí. Hydrolytická činnost je zajištěna fakultativně anaerobními mikroorganismy. Primární štěpení substrátu poskytuje zejména jednoduché cukry a alifatické karbonové kyseliny (Straka, 2006).

Hydrolytické mikroorganismy pocházejí ze skupin obligátních nebo fakultativních anaerobů. Převažující skupina odpovídá limitnímu množství vzdušného kyslíku v prostředí fermentačního procesu. Kmeny *Clostridia* a *Micrococci* se zdají být hlavními producenty

extracelulárních lipáz. Producenty proteázy jsou kmeny *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Selenomonas* (McInerney et al, 1988; Štindl, 2008).

2.1.2. Acidogeneze

Při acidogenezi jsou produkty hydrolýzy zpracovávány na kyseliny s kratším řetězcí, nižšími alkoholy a plyny, zastoupené hlavně oxidem uhličitým a vodíkem. Při nízkém parciálním tlaku vodíku jsou ve větší míře produkovány kyselina octová, H₂ a CO₂ (substrát pro tvorbu metanu), (Straka, 2006) při nasycení jsou produkovány složitější organické látky jako jsou vyšší organické kyseliny, kyselina mléčná, valerová, máselná, etanol apod.

Aminokyseliny zde slouží jako zdroj energie a uhlíku pro striktně anaerobní nebo fakultativně anaerobní bakterie. Nižší mastné kyseliny (C₂ – C₅) jsou tvořeny zejména deaminizací alifatických aminokyselin – specifickou fermentací nebo oxidačně-redukční reakcí mezi páry aminokyselin známou jako Sticklandova reakce (Pavlostathis et al., 1991; Štindl, 2008).

2.1.3. Acetogeneze

V další fázi - acetogenezi - probíhá oxidace vyšších organických kyselin na CO₂, H₂ a kyselinu octovou. Ta je také tvořena acetogenní respirací H₂ a CO₂ homoacetogenními mikroorganismy. Vodík je produkován acetogenními mikroorganismy, kteří štěpí kyselinu propionovou a ostatní organické kyseliny vyšší než kyselina octová, alkoholy a některé aromatické sloučeniny (Straka, 2006).

Protože předchozí fáze jsou uskutečňovány fakultativně anaerobními mikrobiálními společenstvy (hydrolytické, acidogenních a tzv. syntrofní společenstva), probíhá acetogeneze po vyčerpání kyslíku v anaerobním prostředí. Tím se vytváří podmínky pro rovnovážný rozvoj symbiotických metanogenních mikroorganismů (Straka, 2006).

Degradaci kyseliny valerové a máselné napomáhá acetotrofní kmen *Syntrophomonas wolfeii*. Kyselinu propionovou degraduje acetotrofní kmen *Syntrophobacter wolinii*. Homoacetogenní kmeny jsou zodpovědné za přeměnu zbývajících produktů acidogeneze na kyselinu octovou, vodík a oxid uhličitý (Straka, 2006).

V tabulce č. 1 jsou popsány základní reakce acetogenní a metanogenní fázi.

Tab.1 Základní reakce v acetogenní a metanogenní fázi

Acetogenní reakce	ΔG°
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + \text{CO}_2 + 3\text{H}_2$	+76.1
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2$	+48.1
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2$	+9.6
$\text{CH}_3\text{CHOHC(O)OH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + \text{CO}_2 + 2\text{H}_2 + \text{H}_2\text{O}$	-4.2

* Garcia et al. 2000

2.1.4. Metanogeneze

Metanogenní bakterie využívají pro tvorbu metanu H_2 , CO_2 a kyselinů octovou. Bakterie rodu *Methanosarcina barkeri* a *Methanosaeta soehngeni* (Wiegant a Lettinga, 1985), mohou v omezené míře využít také ostatní organické látky, jako jsou metanol, metylaminy, formiát. (Kalyuzhnyi et al., 2000). Kyselina octová je nejdůležitější přímý substrát metanogeneze. Při anaerobním rozkladu organických sloučenin se z ní může tvořit až 65 – 96% veškeré produkce metanu (Archer, 1983). Velmi málo ze známých druhů metanogenů je schopno produkovat metan z H_2 a CO_2 (Hawkes, 1987; Štindl, 2008).

Přibližně dvě třetiny metanu jsou tvořeny z metylové skupiny acetátu, zatímco jedna třetina je produkována z redukce oxidu uhličitého s elektrony pocházejícími z oxidace vodíku nebo formiátu. Metan je produkován z acetátu prostřednictvím fermentace, ve které je molekula acetátu rozštěpena a metylová skupina je redukována na metan elektrony pocházejícími z oxidace karbonylové skupiny na oxid uhličitý (Ferry, 1992; Štindl, 2008).



Anaerobní bakterie produkující kyselinu octovou jsou *Acetobacterium woodii*, *Butyribacterium methylotrophicum*, *Clostridium thermoaceticum*, *Eubacterium limosum*, *Peptostreptococcus productus*, *Rhodospirillum rubrum* a *Rhodospirillum rubrum*. Mechanismy, kterými tyto organismy produkují etanol a kyselinu octovou, jsou uvedeny níže (Ferry, 1992; Štindl, 2008).



Pro srovnání: stechiometrické vyjádření ($4\text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$) ukazuje biochemickou cestu pro přeměnu vodíku a oxidu uhličitého na metan. V procesu metanogeneze je oxid uhličitý nejprve redukován koenzymem M za přijetí 4 elektronů pocházejících z vodíku. Enzym F_{420} poté katalyzuje tvorbu metylkoenzymu M. V posledním stupni je metylová skupina uvolňována metylreduktázou jako metan (Drake, 1994; Štindl, 2008).

Metanogenní organismy jsou citlivé na změnu prostředí. Citlivost je způsobena pomalým růstem. Generační doba rodu *Methanosarcina sp.* je 2-12 dní, přírůstek činí pouze 1,4g sušiny na 1 mol acetátu (0,024g/g). *Methanosarcinia sp.* roste mnohem rychleji, generační doba je asi 1 den a přírůstky jsou vyšší - 2g sušiny na mol acetátu (0,034g/g) (Jetten et al., 1992). Tab.2 udává generační dobu anaerobních mikroorganismů přítomných během anaerobní fermentace.

Tab.2 Generační doby anaerobních mikroorganismů

Generační doby anaerobních mikroorganismů	
Acidogenní mikroorganismy	
<i>Bakteria</i>	< 24h
<i>Clostridia</i>	24 - 36h
Acetogenní mikroorganismy	
	80-90h
Metanogenní bakterie	
<i>Methanosarcina bakterie</i>	5 - 15 dní
<i>Methanococcus</i>	10 dní

2.2. Důležité faktory procesu

Pro efektivní využití procesu anaerobní digesce v bioplynových technologiích je velice důležité sledovat stěžejní parametry procesu (teplotní optimum, pH a pufrční kapacitu, dobu zdržení, vyváženost nutričních hodnot, výskyt inhibičních látek) (Björnsson et al., 2000; Štindl, 2008).

Obsah organických kyselin, pH a alkalita jsou spojené parametry, radikálně ovlivňující proces anaerobní digesce (McCarty, 1964; Štindl, 2008). Za podmínek přetížení a přítomnosti inhibitorů nemohou metanogenní organismy odbourávat vodík a organické kyseliny tak rychle, jak jsou tvořeny. Výsledkem je hromadění organických kyselin, vyčerpání pufrční kapacity a pokles pH. Pokud nedochází ke kontrolám pH a jeho korekce i korekce plnění (organického zatížení), pH klesá na úroveň inhibující fermentaci. Extrémně vysoké hodnoty těkavých mastných kyselin ($> 10\ 000\text{mg/l}$) inhibují proces fermentace nezávisle na pH prostředí. Parametrem vypovídajícím o procesu je poměr těkavých mastných kyselin ke kyselině octové (Štindl, 2008).

2.2.1. Teplota

Anaerobní fermentační proces je velmi ovlivňován teplotou. Visser et al., 1996 uvádí zvýšení aktivity mikroorganismů o jednu polovinu při teplotní změně 10°C . Teplotní optima pro jednotlivá společenstva anaerobů obecně uvádí literatura: psychofilní ($0\text{-}20^\circ\text{C}$), mezofilní ($20\text{-}42^\circ\text{C}$) a termofilní ($42\text{-}75^\circ\text{C}$). Nejvíce ovlivnitelné teplotou jsou společenstva acetogenních a methanogenních mikroorganismů, jejichž teplotní optimum je v malém rozmezí (Štindl, 2008).

Metanogenní bakterie využívající kyselinu octovou jsou primárně mezofilními bakteriemi. Většina zástupců rodu *Methanosaeta* jsou mezofilní a mají své tepelné optimum pro produkci metanu mezi 35 a 40°C . Velmi malá produkce metanu je při inkubaci v 10°C . Při teplotě nad 45°C nebyl u této skupiny zaznamenán žádný růst a produkce metanu (Štindl, 2008).

Methanosarcina sp. má podobné teplotní optimum pohybující se od 35 do 37°C (Yang a Okos, 1987). V současné době je v praxi nejčastěji používané teplotní rozmezí $40\text{-}45^\circ\text{C}$. Méně často je používána teplota $50\text{-}55^\circ\text{C}$, při této teplotě může být porušena metanogeneze.

Termofilní metanogenní bakterie jsou zastoupeny především druhem *Methanobacterium thermoautotrophicum*, *Methanosaeta thermoacetophila* a také určitými specifickými druhy *Methanosarcina TM-1* (Jetten et al., 1992; Štindl, 2008). Druh *Methanosarcina TM-1* by izolován na anaerobním kalu z termofilní digesce za 55°C (Murray et al., 1985). *Methanobacterium thermoautotrophicum* je nejznámějším termofilním metanogenem využívající pro svůj růst vodík a oxid uhličitý. Jak uvádí Uemera a Harada (1995), je optimální teplotou pro tento druh rozmezí 65-70°C.

Mezofilní procesy se oproti termofilním procesům vyznačují delší dobou zdržení a neefektivností v likvidaci případných patogenních mikroorganismů. Termofilní procesy mají větší aktivitu na jednotku substrátu, větší produkci plynu za jednotku času (Zábranská et. al., 2003; Štindl, 2008).

Pozornost je věnována využití termofilních procesů pro zpracování specifických typů organických odpadů, zejména odpadů, které by bylo jinak potřeba zchlazovat (výpalky, oleje, atd.) nebo které je třeba termofilně ošetřit či dosáhnout většího stupně rozkladu jako je např. odpad z jatek. Rebac et al. (1997) uvádí u psychrofilních procesů nejmenší aktivitu mikroorganismů s optimálním organickým zatížením do 1kg COD/m³.

Většina bioplynových technologií využívá teplotní optimum především v mezofilní a termofilní oblasti. Ta je neoptimálnější pro tvorbu metanu a nízkou produkci nežádoucího sulfanu (Štindl, 2008).

2.2.2.pH a alkalita

Koncentrace vodíkových iontů (přesněji iontů H₃O⁺) ovlivňuje mikrobiální procesy. Vliv pH je přímý i nepřímý, na mikroorganismy působí volné anorganické i organické ionty, přítomné ve vodném prostředí. Pro procesy metanogeneze jsou zvláště významné rovnováhy CO₂, H₂S, NH₃ a kyselin octové a propionové (Štindl, 2008). Důvody vysoké citlivosti některých druhů bakterií na změny pH spočívají v potřebné koncentraci iontových sloučenin v substrátu (jako substrát popřípadě inhibitor reakce). Metanogenní mikroorganismy mají optimum nejčastěji v oblasti pH 6,2-7,8 (Bryant 1974).

Některé metanogeny vyžadují úzká rozmezí pH, např. *Methanospirillum* (pH 6,5-7,5), jiné např. *Methanobacterium* žijí v podstatně širším rozpětí pH 5,0-8,1 (Dohányos 1998). Obecně je však pokles pH pod 6,0 doprovázen inhibicí díky vzniku neionizovaných kyselin a nárůst pH nad 7,6 inhibuje procesy nárůstem volného amoniaku (Štindl, 2008).

2.2.3. Nižší mastné kyseliny

Koncentrace nižších mastných kyselin patří k hlavním monitorovaným parametrům anaerobního procesu. Jejich zvýšená koncentrace a akumulace v systému má za následek nestabilitu a inhibici procesu (Björnsson et al., 1997). Arhing et al. (1992) uvádí snížení pH se zvýšenou akumulací nižších mastných kyselin jako hlavní důvod toxicity a inhibice anaerobního procesu (Štindl, 2008).

Zvláště sledovanými kyselinami jsou kyselina octová, propionová a máselná. Indikují metabolickou aktivitu dvou nejcitlivějších skupin mikroorganismů, vodík produkujících acetogenů a acetotrofních metanogenů (Powell et Archer, 1989; Štindl, 2008).

Björnsson et al., (1997) uvádí že koncentrace kyseliny octové vyšší než 13 mmol/l indikuje nestabilitu procesu. Lepším indikátorem se ukazuje koncentrace kyseliny propionové nebo její poměr ke kyselině octové. Pro stabilní proces by měl tento poměr odpovídat hodnotě menší než 1,4. Někteří autoři navrhují jako indikátor nestability používat mastné kyseliny s delším řetězcem (C_4 až C_6) či jejich iso-formy. Uvádějí nestabilitu procesu při koncentraci vyšší než 0,006 a 0,017 mmol/l (Straka et al., 2006; Štindl, 2008). Weiland (2001) uvádí mezní hodnotu obsahu volných mastných kyselin (kys. octová, propionová, máselná) při pH 7 2000 mg/l.

2.2.4. Mikro- a makroelementy

Pro správný průběh anaerobní digesce je důležitý vyvážený poměr organického uhlíku a makro- a mikroelementů. Z bilance produkce biomasy vyplývá poměr CHSK : N: P v období zapracování reaktoru v rozmezí od 300:6,7:1 do 500:6,7:1, později je doporučován poměr 100:1:0,2. Vedle těchto prvků je také nezbytná přítomnost řady mikroelementů jako jsou Na, K, Ca, Mg, Fe, S, Ni, Co, Mo, Se a W. V tab.3 jsou uvedeny nejčastější organismy v anaerobní fermentaci a jejich živné substráty. Mikroelementy jsou součástí některých enzymových systémů zejména acetogenních a metanogenních bakterií (Straka et al., 2006).

Tab.3 Specifické požadavky na živiny (Speece 1996)

Organismus	substrát
Methanosarcina	
<i>acetivorans C2A</i>	acetát, methanol, methylaminy
<i>barkeri MS</i>	CO ₂ /H ₂ , acetát, methanol, methylaminy
<i>barkeri 227</i>	CO ₂ /H ₂ , acetát, methanol, methylaminy
<i>barkeri DM</i>	CO ₂ /H ₂ , acetát, methanol, methylaminy
<i>barkeri CHT1</i>	acetát, methanol, methylaminy
<i>barkeri FR-1</i>	CO ₂ /H ₂ , acetát, methanol, methylaminy
<i>barkeri Fusaro</i>	CO ₂ /H ₂ , acetát/H ₂ , methanol, methylaminy
<i>mazei MC3</i>	CO ₂ /H ₂ , acetát, methanol, methylaminy
<i>mazei LYC</i>	CO ₂ /H ₂ , acetát, methanol, methylaminy
<i>mazei S-6</i>	CO ₂ /H ₂ , acetát, methanol, methylaminy
<i>thermophila TM1</i>	CO ₂ /H ₂ , acetát, methanol, methylaminy
<i>vacuolata Z-761</i>	CO ₂ /H ₂ , acetát, methanol, methylaminy
<i>strain MP</i>	acetát, methanol, methylaminy
Methanosaeta	
<i>concilii</i>	acetát/CO ₂
<i>soehngeni VNBf</i>	Acetát
<i>soehngeni opfikon</i>	acetát
<i>soehngeni</i>	Acetát
<i>soehngeni FE</i>	Acetát
<i>CALS-1</i>	Acetát

2.2.5. Inhibiční látky

Za toxické nebo inhibující látky jsou považovány takové látky, které nepříznivě ovlivňují biologický proces. Vzhledem k tomu, že každá látka se stává toxickou v jiném množství, hovoříme o toxických koncentracích.

Toxická koncentrace závisí na druhu látky, způsobu dávkování, přítomnosti detoxikantu a na fyziologickém stavu biomasy. Rozhodujícím faktorem je stáří biomasy, zejména způsob její adaptace na danou toxickou látku. Vhodnou kultivací biomasy můžeme dosáhnout prosperity mikroorganismů v neoptimálních podmínkách. Nepříznivě působí na mikroorganismy vyšší koncentrace těžkých kovů (Cu, Pb, Cr, Zn, aj.), přítomnost oxidantů jako např. kyslíku, peroxidu vodíku aj., pesticidů, tenzidů a rozpouštědel (Straka et al., 2006; Štindl, 2008).

2.2.6. Optimální koncentrace acetátu

Vysoké koncentrace acetátu mohou působit na činnost metanogenů inhibičně. Práce Yanga a Okose (1987) uvádí, že koncentrace acetátu neovlivňují růst metanogenů mimo rodu *Methanosarcina*, ale ovlivňují produkci metanu. Jejich studie uvádí optimální koncentraci acetátu pro růst *Methanosarcina* 0,1 M (6,0g/l), při koncentraci vyšší než 0,24 M (14,4g/l) je růst plně inhibován. Metanogeny v závislosti na druhovém zastoupení mohou vyžadovat delší adaptační dobu nebo mohou být zcela inhibovány vysokými koncentracemi acetátu. Pro *Methanosaeta soehngeni* nebyla prokázána inhibice acetátem i při koncentraci 2,5 g/l (Huser et al., 1982). Stejně závěry vyvozuje i van den Berg (1976) ve své práci s obohacenou kulturou metanogenů, kdy zjistil, že rychlost konverze kyseliny octové nebyla ovlivněná koncentracemi v rozmezí 0,012 až 6,0 g acetátu na litr (Štindl, 2008).

2.2.7. Inhibice vzdušným kyslíkem

Nejčastějším inhibitorem metanogenní reakce je kyslík. Koncentrace vzdušného kyslíku v prostředí vyšší než 0,5% inhibuje produkci metanu bakteriemi *Methanosarcina barkeri*.

K inhibici dochází po 0,5 až 2 hodinách po přidavku kyslíku v koncentraci mezi 0,05 až 0,1%. Pokud byl aplikován kyslík v koncentraci 0,005%, k inhibici produkce metanu nedošlo. Byl zkoumán také vliv redoxního potenciálu na metanogenezi, neboť tento parametr je dobrým indikátorem množství přítomného kyslíku. Kladný redoxní potenciál nižší než +400mV neinhiboval produkci metanu. Bylo dokázáno, že bakterie byly schopné snížit kladný redoxní potenciál samy a začít produkovat metan, jakmile redoxní potenciál klesl pod kritickou hodnotu +50mV. Rápidní vzrůst redoxního potenciálu na hodnotu vyšší než kritickou vysvětluje inhibiční efekt koncentrace kyslíku vyšší než 0,5% (Fetzer et Conrad, 1993; Štindl, 2008).

V provozních podmínkách se osvědčilo, že malé množství kyslíku může metanogenezi pozitivně ovlivnit. Fetzer et Conrad (1993) ve své práci poukazují na výzkum, kdy stopové množství kyslíku mělo za následek téměř zdvojnásobenou rychlost produkce metanu (Štindl, 2008).

Bakterie vytvářející agregáty (např. *Methanosarcinia sp.*) vykazují větší životaschopnost z důvodu ochrany agregátu před celkovým vlivem kyslíku. Pro bakterie

netvořící agregáty je vliv kyslíku více zničující (Patel et al., 1984). Fetzer et al. (1993) předkládá podobná zjištění. Relativně krátké vystavení (menší než 30 hodin) mikroorganismů vzdušnému kyslíku mělo za následek pouze 10% úmrtnost některých metanogenních druhů (např. *Methanosarcina barkeri*). Dodává, že toto vystavení vzduchu nezpůsobilo pokles v rychlosti produkce metanu, jestliže bakterie byly následně inkubovány v anaerobních podmínkách (Štindl, 2008).

2.2.8. Metabolismus a produkce CO₂

Ve fázi metanogeneze je společně s metanem produkován také oxid uhličitý. V případě dekarboxylace kyseliny octové by, teoreticky, měl být produkován metan a oxid uhličitý ve stejném množství. Oxid uhličitý je ale využíván pro tvorbu metanu. Tato skutečnost vysvětluje menší obsah (30-38%) oxidu uhličitého v bioplynu (Weber et al., 1984; Štindl, 2008).

Bylo testováno chování metanogenů v anaerobním prostředí obsahujícím N₂ a CO₂. Koncentrace CO₂ v bioplynu se v těchto případech pohybuje od 15% až do více než 50%. Studie prokázaly, že metanogeneze probíhá i v atmosféře obsahující pouze N₂ (Yang and Okos; 1987; Štindl, 2008).

2.2.9. Sulfan

Sulfan je pro mikroorganismy toxický již ve velmi nízkých koncentracích (méně než 1 ppm). Za nepřítomnosti kyslíku je sulfan zpočátku tvořen proteolytickými bakteriemi. Většina redukované síry je uvolňována do prostředí jako sulfanové ionty, množství volného sulfanu závisí na pH prostředí (Boon, 1992). Poměry H₂S, HS⁻, S²⁻ jsou významně ovlivněny pH prostředí, jeho teplotou a iontovou vazbou. Poměr rozpuštěného sulfanu přítomného v nedisociované formě (H₂S) se může pohybovat od 75% (za pH 6,5), 50% (za pH 7,0) do 10% (za pH 8). Mezi hodnotami pH 9 – 10 rozpuštěný byl sulfan přítomen ve formě HS⁻ (Boon, 1992; Štindl, 2008). Produkce sulfanu není ve většině případů prvním krokem anaerobní biodegradace.

Sulfan vznikající během procesu anaerobní digesce je přeměňován na síru aerobními bakteriemi *Thiobacilli bacteria*, *Beggiatoa sp.*, *Thiotrix sp.*, *Chromatium sp.*, a *Corobium sp.*, (Heuer et Kaskens, 2000). Straka et al. (2006) popisuje proces biooxidace sulfanu resp. sulfidů jako proces probíhající v oxických mikronikách za účasti chemolithotrofních

bezbarvých bakterií rodů *Thiobacillus*, *Beggiatoa* a *Thiotrix*. V anoxickém prostředí uvádí druhy *Thiobacillus denitrificans* a *Thiomicrospira denitrificans*, které využívají přítomnosti dusičnanů k oxidaci sulfidu na síru (Štindl, 2008).

2.2.10.Amoniak

Amoniak je ve vodě velmi snadno disociuje. Disociované ionty působí inhibičně na anaerobní fermentaci a může být toxický pro metanogenní bakterie (Angelidaki et Ahrin, 1993). Poměr nedisociovaného amoniaku je funkcí pH a teploty (Basaglia et al., 1992). Čím vyšší je pH prostředí, se snižuje disociace amoniaku. Amoniak je tvořen během anaerobního rozkladu moči nebo bílkovin. Prasečí a drůbeží hnůj obsahuje přibližně 4g N/l (Angelidaki et Ahring, 1991), hovězí hnůj 1,5g N/l (Angelidaki et Ahring, 1993; Štindl, 2008).

Inhibiční koncentrace NH_3 za mezofilních podmínek při pH 7,5 dosahuje hodnoty 80 až 150 mg N /l (Koster et Lettinga, 1984), za termofilních podmínek při pH 7,2 – 7,3 byla zjištěna inhibiční koncentrace pro acetát využívající metanogeny 3,5g $\text{NH}_4\text{-N}$ /l (250 mg $\text{NH}_3\text{-N/l}$) a pro vodík využívající metanogeny 7g $\text{NH}_4\text{-N/l}$ (500mg $\text{NH}_3\text{-N/l}$) (Angelidaki et Ahring ,1993; Borja et al., 1996; Štindl, 2008). Také Zeeman et al. (1983) popisuje inhibiční účinky zvýšené koncentrace amoniaku od 3,0 g/l. Kompletní potlačení aktivity uvádějí Humer a Lechner (2000) při koncentraci amoniaku 13g/l.

2.2.11.Lignocelulózové materiály

Lignocelulóza je společný termín pro tři hlavní složky rostlinného pletiva: celulózu, hemicelulózu a lignin.

Celulóza a hemicelulóza jsou biologicky degradabilní. Tvořící až 90% biochemického methanového potenciálu substrátů. Ne všechny hemicelulózy a celulózy jsou využitelné pro anaerobní digesci (Wang et al. 1997). Je to primárně způsobeno strukturou buněčných stěn rostlin (Tsao 1984). Hemicelulóza je anaerobními mikroby snadněji rozkládána než celulóza.

Lignin je svou strukturou a biochemickou charakterizací odolný vůči mikrobiálnímu rozkladu. Pouze houbové organismy (říše Fungi) si vyvinuly specifické enzymy k odbourávání ligninu (Kirk et Farrell, 1987; Štindl, 2008).

Celulóza je obsažena v buněčných stěnách a její okolí tvoří lignifikovaný materiál nazývaný se střední lamela. Střední lamela obsahuje lignin a hemicelulózu v poměru přibližně 70 na 30%. Celulóza je lineární homopolymer o několika tisících d-glukózových jednotek spojených β -1,4 glykosidickými vazbami. Tyto vazby je snadné hydrolyzovat. Stíženou rozložitelnost způsobují sekundární a terciární struktury lignocelulóзовých materiálů. Protože enzymatická hydrolyza glykosidických vazeb je přenášena po adsorpci enzymů celulózu, střední lamela představuje bariéru pohybu enzymů. Proto je difuze a penetrace enzymy velmi obtížná a pomalá. Literatura poukazuje na fakt, že fenolické skupiny obsažené ligninem mohou působit vůči enzymům inhibičně (Štindl, 2008).

2.2.11.1. Celulóza

Hydrolázy rozkládají celulózu za vzniku rozpustné celobiózy, která je hydrolyzována na d-glukózu. Byly izolovány a zkoumány enzymy hydrolyzující celulózu různých mikrobiálních druhů. Mezi anaerobní bakterie rozkládající celulózu patří: *Bacteriodes succinogenes*, *Clostridium lochhadii*, *Clostridium cellobioporos*, *Ruminococcus flavecians*, *Ruminococcus albus*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Clostridium thermocellum*, *Clostridium stercorarium*, *Micromonospora bispora* (Gilkes et al., 1991; Linden et Shiang, 1991; Štindl, 2008).

Vlastnosti celuláz jsou velmi podobné, ačkoliv jsou produkovány různými organismy. Celulotický enzymatický systém se skládá z endo-glykanáz, exo-glykanáz a glykosidáz (Eriksson et al., 1990). Endoglykanázy náhodně štěpí glykosidické vazby, exoglykanázy odštěpují buď celobiózu nebo glukózu z neredukujícího konce celulózy a glykosidázy hydrolyzují celobiózu a jiné ve vodě rozpustné celodextriny na glukózu (Eriksson et al., 1990). Syntéza enzymů je potlačována přítomností glukózy nebo metabolizovanými sacharidy.

Na rozkladu celulózy fosforylázy, produkované některými bakteriálními druhy které? (Ljungdahl et Eriksson, 1985). Byly rozpoznány dva typy fosforyláz, specifické pro celobiózu a pro vyšší celodextriny (Béguin et Aubert, 1994; Štindl, 2008).

Nejpodrobněji byl prostudován celulázní systém anaerobní bakterie *Clostridium thermocellum* (Ljungdahl et al, 1983). *Clostridium thermocellum* produkuje ve vodě rozpustnou, žlutě zbarvenou nízkomolekulární látku, která podporuje vazby celulolitických enzymů na celulózu (Ljungdahl et al, 1983). U anaerobních bakterií byla prokázána vlastnost produkovat celulolitický systém jako agregát - celulozom. Celulolitické agregáty jsou produkovány bakteriemi *Clostridium thermocellum*, *Bacteriodes succinogenes*,

Ruminococcus albus (Eriksson et al., 1990; Štindl, 2008). Agregáty pomáhají vazbě buňky na substrát a hydrolyzují celulózu.

Většina znalostí o anaerobních celulólytických bakteriích pochází z vědeckých prací zabývajících se bachorovými mikroorganismy.

2.2.11.2.Hemicelulózy

Hemicelulózy jsou složeny z lineárních a větvených heteropolymerů d-xylózy, l-arabinózy, d-manózy, d-glukózy, d-galaktózy a d-kyseliny glukuronové (Martinez et al., 2005). Tyto sacharidy jsou ve většině případů vázány 1,4- β vazbou. Hemicelulózy založené na galaktóze jsou vázány vazbami typu 1,3- β . Hemicelulózy spojují svazky celulózových vláken do mikrofibril. Mikrofibrily tvoří vazby s ligninem a vytváří komplexní síť poskytující zpevnění struktury lignocelulózové matrice, zvyšující stabilitu buněčných stěn (Ladisich et al., 1983; Štindl, 2008).

Ačkoli je hydrolýza hemicelulózy jednoduchý proces, komplexnost hemicelulólytických enzymatických systémů překonává komplexnost celulólytických enzymů, protože hemicelulóza je složena z více druhů monomerů (Tsao 1984). Bakterie hydrolyzující hemicelulózy jsou *Bacteriodes ruminicola*, *B. Fibrisolvens*, *R. Flavofaciens* a *R. Albus*.

2.2.11.3.Lignin

Lignin je vysoce rozvětvený, konstitučně nedefinovaný polymer, složený z podjednotek fenylypropanu náhodně spojených různými druhy uhlíkatých a jiných vazeb. Lignin je svou strukturou a biochemickou charakterizací odolný vůči mikrobiálnímu rozkladu, pouze některé houbové organismy si vyvinuly specifické enzymy k odbourávání ligninu (Kirk et Farrell, 1987). Aktinomycety mohou rozkládat lignin v malém procentu – méně než 20% (Crawford, 1986). Biologický rozklad ligninu je primárně aerobní proces, v anaerobním prostředí může lignin rozkladu odolávat po velmi dlouhou dobu (Van Soest, 1994; Štindl, 2008).

Ačkoli jsou anaerobní bakterie schopny rozkladu monomerických jednotek tvořících molekulu ligninu, je nejasné, zda-li může být lignin depolymerizován na tyto polymery za podmínek převažujících v anaerobních technologiích (Odier et Artaud 1992). Anaerobní bakterie mohou být zahrnuty v transformacích lignifikovaných rostlinných pletivech v bachoru (Colberg 1988; Štindl, 2008).

2.2.12. Proteiny

Proteiny jsou hydrolyzovány proteolytickými enzymy na peptidy, aminokyseliny, amoniak a oxid uhličitý. V anaerobních procesech slouží proteiny jako zdroj uhlíku a energie pro bakteriální růst. Amoniak uvolňovaný během hydrolyzy slouží jako hlavní zdroj dusíku pro anabolické reakce. Bylo prokázáno, že specializované anaerobní bakterie, proteolytická clostridia (*Clostridium prefringens*, *C. Bifermentans*, *C. Histolyticum*, a *C. Sporogenes*), jsou zodpovědné za rozklad proteinů při anaerobní digesci (McInerney, 1988; Štindl, 2008).

2.2.13. Lipidy

Mastné kyseliny jsou hlavní složkou lipidových frakcí odpadů. Tato skupina obsahuje jednak vysoce hydrofobní, jednak vysoce hydrofilní vazná místa. Rostlinná pletiva obsahují mezi 1 - 25% lipidů v sušině (Senior et Balba 1990). Tuky a oleje jsou velmi rozšířeny v rostlinných buňkách a jsou obsaženy v pletivech semen, kde slouží jako substráty výživové rezervy. Oleje jsou často rozptýleny v cytoplasmě. Enzymatickou hydrolyzou lipidů uvolňuje satureované a nesatureované dlouhořetězové mastné kyseliny a glycerol. Glycerol je snadno asimilován a metabolizován bakteriemi. Dlouhořetězové mastné kyseliny podstupují intracelulární β -oxidaci zprostředkovanou mnoha enzymy. Produkty β -oxidace jsou organické kyseliny (kyselina octová a propionová) a vodík. Některé z lipolytických anaerobních bakterií jsou *Anaerovibrio lypolytica* a *Syntrophomonas wolfei* (Cecchi et Mata-Alvarez et al., 1993; Štindl, 2008).

2.3. Metody k hodnocení rozložitelnosti substrátu pro anaerobní digesci.

Anaerobní kal je z technologického hlediska zatím většinou posuzován jen jako materiál, sleduje se jeho množství, koncentrace, organický podíl a fyzikální vlastnosti, při hodnocení se uplatňují provozní a ekonomické dopady. Tento materiál je však oživen a právě mikroorganismy jsou hlavní akční silou celého procesu likvidace organického zečištění (Straka, 2006).

Uplatnění technologických metod testování anaerobní biomasy je velmi široké, nejenom při kontrole funkčních provozních zařízení, ale i při charakterizaci kalů, výběru vhodného inokula, při sledování adaptace a aklimatizace kalů, při posouzení vlivů různých podmínek procesu, při rozhodování pro použití anaerobní technologie (Straka, 2006).

Mezi nejpoživačnější metody patří: Metoda testů anaerobní biologické a Metoda kinetického hodnocení biodegradability organické hmoty. Tyto metody jsou podrobně popsány v praktické části.

2.4. Metody posuzující výtěžnost bioplynu

K procesnímu řízení technologií anaerobních fermentačních procesů a projektování bioplynových technologií je potřeba znát parametry produkce metanu a vlastnosti zpracovávaného substrátu (Straka et al., 2006; Linke, 1997; Štindl, 2008).

2.4.1. Teoretické výpočty

Pro teoretické výpočty produkce a koncentrace metanu existuje několik postupů. Většina těchto výpočtů je platná pouze pro ideální podmínky a vypočítané výtěžky jsou větší než je ve skutečnosti možné.

Teoretickou produkci metanu lze snadno vypočítat při znalosti průměrného oxidačního čísla uhlíku (POXČ) nebo hemické spotřeby kyslíku (CHSK) výchozího substrátu.

Výpočet vychází z předpokladu, že k úplné oxidaci metanu vzniklého z daného substrátu se spotřebuje stejné množství kyslíku jako k oxidaci původního substrátu. Výtěžnost methanu pak závisí na oxidačním stupni substrátu. Měřítkem oxidačního stupně organické hmoty je také průměrné oxidační číslo uhlíkového atomu (POXČ). POXČ je nepřímoúměrné výtěžnosti methanu. POXČ je úměrné teoretické spotřebě kyslíku (CHSK) dané látky vztažené na množství organického uhlíku (C_{org}) (Dohányos et al., 1988; Dohányos et al., 1998; Zábranská, 1994 ; Štindl, 2008).

$$POXČ = 4 - 1,5 * CHSK / C_{org}$$

Teoretickou výtěžnost metanu lze pak spočítat dle vztahu

$$Y_{CH_4,meor} = 0,35[l/g] \cdot (CH_4^*, CHSK_{substrátu})$$

(* - platí pro standardní podmínky, teplota 0°C, tlak 101,3 kPa.)

Teoretickou výtěžnost metanu pak spočítáme dle vztahu

$$\%CH_4 = 18,75 \cdot CHSK / C_{org} \quad \text{nebo} \quad \%CH_4 = \frac{4 - POX\check{C}}{8} \cdot 100$$

Přítomnost akceptorů volných elektronů v oxidačně-redukčních reakcích v molekule substrátu snižuje množství elektronů pro tvorbu metanu. To vede k snížení výtěžnosti methanu. Jako akceptor působí zejména dusík a síra a jejich sloučeniny, míra jejich ovlivnění závisí na oxidačním stupni daného prvku, pro korekci výtěžnosti metanu je třeba od celkové CHSK odečíst CHSK substrátu spotřebovaného na redukci dusíku a síry (Dohányos et al., 1998; Štindl, 2008).

$$Y_{CH_4, \text{teor}} = 0,35 [l/g] \cdot (CHSK - N - S) [lig] (CH_4^*, CHSK_{\text{substrátu}})$$

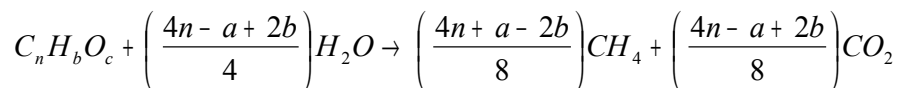
kde N je kyslíkový ekvivalent dusičnanového a dusitanového dusíku a S je kyslíkový ekvivalent síry:

$$N = 2,86 (NO_2 - N + NO_3 - N) [g] (O_2, CHSK)$$

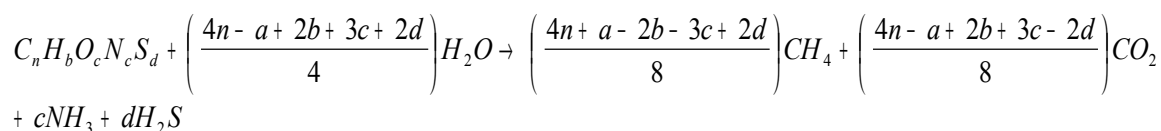
$$S = 2 (S_{\text{celková}}) [g] (O_2, CHSK)$$

Skutečný výtěžek je nižší než teoretický. Výpočet vychází z hodnoty CHSK substrátu, která v sobě obsahuje frakci, která je biologicky nerozložitelná. Proto takto vypočítaná produkce metanu platí při 100% rozkladu testované organické látky za standardních podmínek (Zábranská, 1994 ; Štindl, 2008).

K výpočtu teoretické produkce metanu z empirického vzorce substrátu (resp. z jeho elementární analýzy) lze využít vztahu, který již v roce 1930 odvodil ve své práci A.M. Buswell. Tzv. Buswellova rovnice vychází ze základního vztahu (Horbaj, 2004; Gallert et Winter, 1997; Štindl, 2008).



Rozšířená rovnice zahrnuje rozklad složitějších chemických sloučenin, jejím výstupem nejsou pouze produkty CO₂ a CH₄, ale také NH₃ a H₂S.



Chandler et al. (1980) formuloval matematické vyjádření biologické rozložitelnosti organického substrátu založené na obsahu ligninu. K této formulaci využil data sebraná z pokusů s anaerobním rozkladem mnoha lignocelulózových substrátů (s 40 denní dobou zdržení) a vytvořil lineární vztah k popisu tohoto faktu (Štindl, 2008).

$$BF_{SUBSTRÁTU} = 0,83 - (0,028 \cdot lignin_{\%VS})$$

Lignin_{%VS} = obsah ligninu v organické sušině

Lignin_% = obsah ligninu v celkové sušině

VS_% = organická sušina substrátu

Kayhanian et al. (1996) srovnává výsledky Chandlera (1980) ve svých dlouhodobých fermentačních vsádkových testech (doba zdržení 75 dní). Jeho práce prokázala rozložitelnost lignocelulózového materiálu (obsah ligninu 4-6%) ve fermentačních testech ze 68%.

Van Soest (1996) rozšířil tento vztah

$$BF_{BS} = 100 - 5,41 \left(lignin_{\%CELLWALL} \right)^{0,76}$$

Cell wall = obsah hemicelulózy, celulózy, ligninu (Neutral Detergent Fiber)

Lignin% cell wall = obsah ligninu v cell wall

Cell wall% = obsah v celkové sušině

$$C_{BIODEG.} = C_{TOT} \left(\frac{CELLWALL_{\%}}{100} \right) \left\{ 1 - 0,0541 \left(lignin_{\%CELLWALL} \right)^{0,76} \right\} + C_{TOT} \left(1 - \frac{CELLWALL_{\%}}{100} \right)$$

Proces anaerobní digesce je obvykle popisován kinetikou reakcí prvního řádu:

$$Y = Y_{\max} (1 - e^{-k_1 t})$$

Y = výtěžek metanu [CH₄/g VS] k_1 = rychlostní koeficient reakce 1. řádu

Y_{\max} = maximální výtěžek metanu [CH₄/g VS]

Složitější metody výpočtů zohledňující více proměnných, například biodegradabilitu výchozího substrátu, růstovou rychlost mikroorganismů, enzymovou kinetiku, atd. Více proměnných zohledňuje například Chen a Hashimotův model pro výpočet teoretického výtěžku metanu (Chen et Hashimoto, 1980; Štindl, 2008)

$$Y = Y_{\max} \left(1 - \frac{k}{HRT \mu_{\max} + k - 1} \right)$$

HRT = čas hydraulického zdržení [dny] μ_{\max} = maximální růstová rychlost

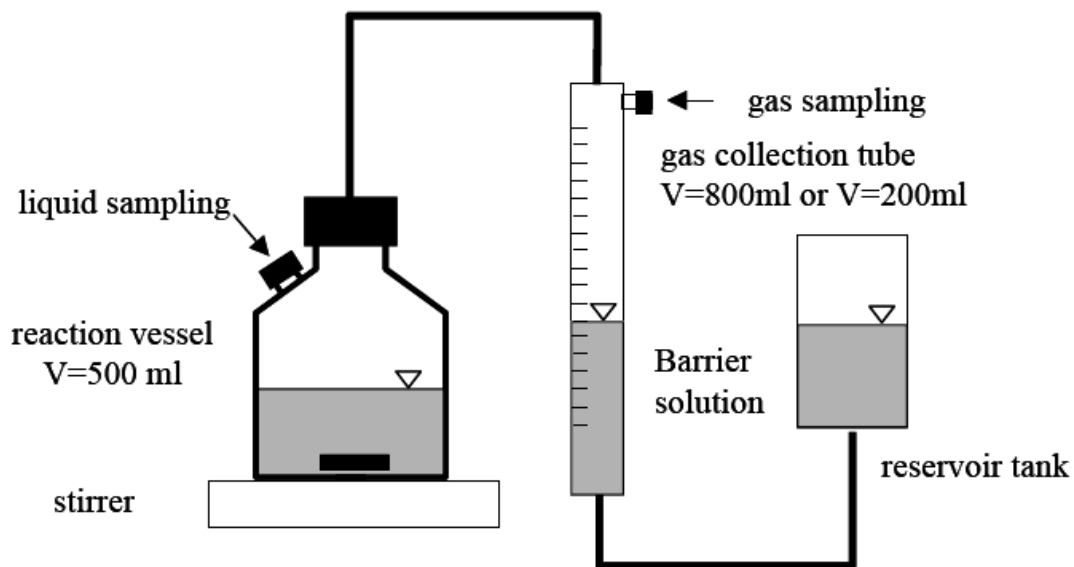
k = Chen a Hashimotova kinetická konstanta

2.4.2. Praktické metody

Praktickými testy stanovení výtěžku bioplynu a koncentrace metanu se zabývá řada vědeckých pracovišť. Většina těchto vědeckých prací se od sebe odlišuje nejen zvolenými metodami měření, ale také podmínkami prováděných testů. Tato skutečnost nezřídka vede k značné rozdílnosti a z toho plynoucí neporovnatelnosti získaných hodnot (Müller, 2002; Heerenklage et Stegmann, 2001; Štindl, 2008).

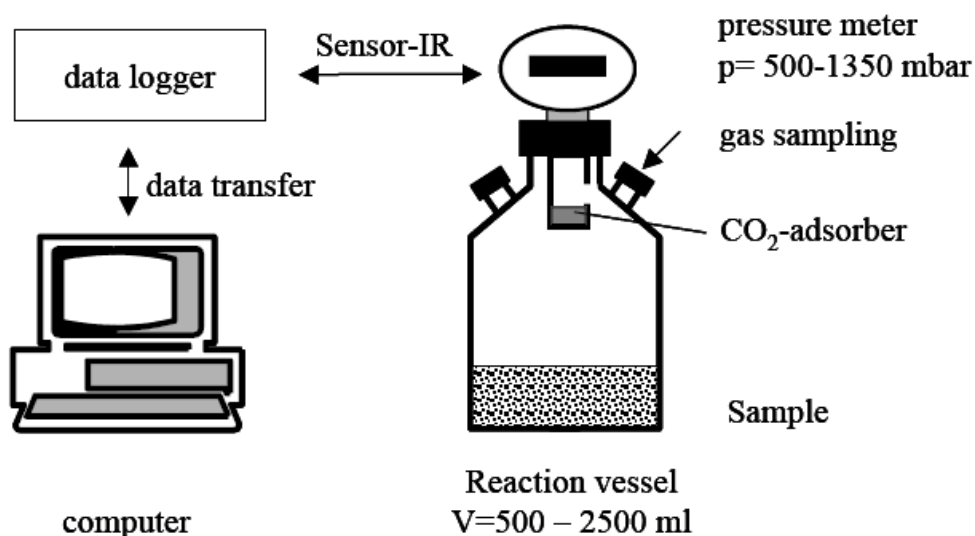
Většina evropských vědeckých pracovišť využívá metod volumetrické analýzy (obr.1) vycházející z německé státní normy DIN 38 414-S8 z roku 1985 (Binner et al., 1997; Heerenklage et Stegmann, 2005; Linke, 1997). Ta využívá ke kvantitativní analýze produkce bioplynu eudiometrické trubice a popisuje přesný postup měření. Tato metoda se vyznačuje jednoduchostí a nenáročností jak v případě měření, tak i investičními náklady. Jiná pracoviště využívají princip volumetrického měření, ale používají vlastní nestandardní aparaturu a metodické postupy (Dohányos et al., 1988; Hrnčířik et al., 1997; Holm-Nielsen et al., 2006; Štindl, 2008)

Obr. 1 Schéma volumetrické aparatury (Heerenklage te Stegmann, 2005)



Další možností je metoda využívající manometrického měření (obr.2), kterou popisuje mezinárodní norma ISO CD 11734. Princip spočívá v měření rozdílu tlaku plynu, který vzniká mikrobiální aktivitou anaerobních mikroorganismů v uzavřeném systému fermentační nádoby. Po provedení příslušných výpočtů lze získat hodnoty produkce bioplynu, koncentrace methanu a hodnoty biologické rozložitelnosti. Značnou nevýhodou této metody je práce s vzorky o navážce v řádech miligramů (30-250mg) a také vyšší investiční náročnost této aparatury (Kolář et al., 2004; Kolář et al., 2005; Dohányos et al., 1998; Štindl, 2008)

Obr. 2 Schéma manometrické aparatury – zařízení OxiTop (Heerenklage et Stegmann, 2005; Štindl, 2008)



Uvedené metody vycházejí z předpokladu, že celkový rozklad organické hmoty anaerobní digescí je nejlépe měřen rychlostí produkce metanu (Chynoweth et al., 2001). Rychlost produkce metanu a jeho obsah v plynu jsou porovnatelná měřítka průběhu procesu.

Kvalitativní analýzy bioplynu byly využity také k hodnocení mikrobiální aktivity a možné kontroly průběhu procesu, včetně vodíku a oxidu uhličitého. Předpokládalo se, že obsahu plynného vodíku nemá větší spojitost s regulací metanové fermentace. Mosey a Fernandes (1989) prokázali, že obsah vodíku v plynné fázi rychle reaguje na disturbance procesu. Laboratorní měření plynného vodíku jsou obtížná vzhledem k jeho nízkým koncentracím (< 50 ppm za běžných provozních podmínek). Hickey et al. (1987) uvádí přítomnost oxidu uhličitého v plynné fázi v anaerobní digesci. Zjistil, že oxid uhličitý se vyvinul z acetátu v průběhu methanogeneze, a prokázal silnou korelaci na koncentraci acetátu v kapalně fázi (Štindl, 2008). Hodnoty obsahu oxidu uhličitého jsou jednoduše měřitelné a mohou být využity k aktuálnímu měření procesu (Switzenbaum et al., 1990).

Výtěžkové parametry jsou nejčastěji uváděny jako objem plynu na hmotnost organické sušiny nebo CHSK přidávaného substrátu za daných podmínek. Parametr metanového výtěžku je upřednostňován nad výtěžky bioplynu, neboť změny pH ve fermentoru mohou způsobit změny v uvolňování oxidu uhličitého, který se neúčastní metanogeneze (Štindl, 2008).

Další možností, jak určit metanogenní aktivitu mikroorganismů v anaerobním procesu přímo, je stanovení koncentrace fluorescenčního koenzymu F_{420} . Tato metoda je poměrně přesná, ale je náročnější, a proto se v praxi příliš nepoužívá (Zábranská et al., 1985; Straka et al., 2006; Štindl, 2008).

3. Zdroje biomasy pro výrobu bioplynu

Produkovanou biomasu lze z hlediska jejího získávání rozdělit na dvě základní skupiny – odpadní a záměrně pěstovanou (Bericht, 2004; Morar, 2003; Schulz et al., 2004; Weger, 2003). Biomasou záměrně pěstovanou v produkci bioplynu jsou energetické plodiny (šřovík, tritikale, čirok, chrastice rákosovitá, křídlatka, vrby, topoly, olše, akáty a podobně), olejnin (nejznámější je řepka olejná), cukrovka, obilí, brambory. Biomasou odpadní jsou rostlinné zbytky ze zemědělské prvovýroby a údržby krajiny (sláma kukuřice a obilovin, řepková sláma, zbytky z lučních porostů a nedopasky, zbytky po likvidaci náletových dřevin a odpady ze sadů a vinic)(Michal, 2005).

Jako substrát pro anaerobní fermentaci mohou být použity i odpady z živočišné výroby (exkrementy z chovů hospodářských zvířat, zbytky krmiv, odpady z mléčnic a přidružených zpracovatelských provozů), biologicky rozložitelné komunální odpady (separovaný sběrový papír, kuchyňské odpady, organické zbytky z údržby zeleně a podobně), organické odpady z průmyslových a potravinářských provozů (odpady z provozů na zpracování a skladování produktů rostlinné výroby, jateční a mlékárenské odpady, odpady z lihovarů a konzerváren, vinařských a dřevařských provozoven). Z lesních odpadů to je především dřevní hmota z probírek, kůra, větve, pařezy, kořeny po těžbě dřeva, palivové dřevo, klestí, odřezky atd.(Michal, 2005).

Fermentace a tvorba bioplynu probíhá ve vlhkém prostředí, proto jsou pro anaerobní zpracování vhodné kapalné nebo mokré materiály, jako jsou kejda, hnůj, zbytky jídla, tuky a podobně. Pro produkci bioplynu ve stávajících technologických zařízeních je optimální obsah sušiny v rozmezí 5 až 15 %. V případě překročení horní hranice optimálního obsahu sušiny, substrát nelze čerpat. Důležitý je poměr uhlíku a dusíku (C : N), který by se měl pohybovat v rozmezí 20:1 až 40:1 (Michal, 2005).

Výroba bioplynu je důležitým diverzifikačním prostředkem zemědělství, většina substrátů je produkty zemědělského nebo potravinářského odvětví výroby. Důležité je také, že při výrobě bioplynu lze rovněž využívat kofermentaci, kdy se s materiálem z živočišné výroby současně zpracovávají další materiály. V zemědělství přicházejí jako kofermenty v úvahu zbytky z rostlinné výroby, odpady ze zpracování a rostliny pěstované jako kofermenty, tedy obnovitelné druhy surovin, jejichž pěstování je výhodné na plochách nevyužívaných k zemědělské výrobě. Lze rovněž pěstovat materiály vhodné ke kofermentaci na ladem ležící zemědělské půdě (Mohamed Anděl-Hadi, 2003).

Využívání kofermentů je zajímavé i pro likvidaci kafilerních a jatečních odpadů (i masokostní moučky), pokusy naznačují, že dochází k likvidaci nebezpečných prionů (Michal, 2005).

4. Technologie a zařízení na výrobu bioplynu

4.1. Rozdělení technologií na výrobu bioplynu

Podle způsobu přívodu o materiálu lze rozlišovat následující technologie plnění fermentoru:

Diskontinuální plnění (s přerušovaným provozem) může být cyklické, dávkové a t.p. Doba jednoho pracovního cyklu je shodná s dobou zdržení ve fermentoru. Způsob je náročný na obsluhu. Používá především k suché fermentaci tuhých materiálů organického původu

Při semikontinuálním plnění je doba mezi jednotlivými dávkami kratší než doba zdržení materiálu ve fermentoru. Tento způsob plnění patří k nejvíce používaným při zpracovávání tekutých materiálů organického původu. Výhodou tohoto postupu je automatizace technologického procesu.

Kontinuální plnění se používá při plnění fermentorů, které zpracovávají organický materiál s velmi malým obsahem sušiny.

Podle podílu vlhkosti materiálu lze technologie rozlišovat jako (Pastorek et al., 2004):

technologie na zpracování tuhých materiálů (podíl sušiny 18 až 30 %, ve výjimečných případech i 50 %), jde o tzv. suchou fermentaci

technologie na zpracování tekutých materiálů s nízkým podílem sušiny 0,5 až 3 % , jde o tzv. mokrou fermentaci

technologie na výrobu bioplynu kombinované se zápornou energetickou bilancí anebo s vyšším podílem sušiny 3 až 14 % a kladnou energetickou bilancí,

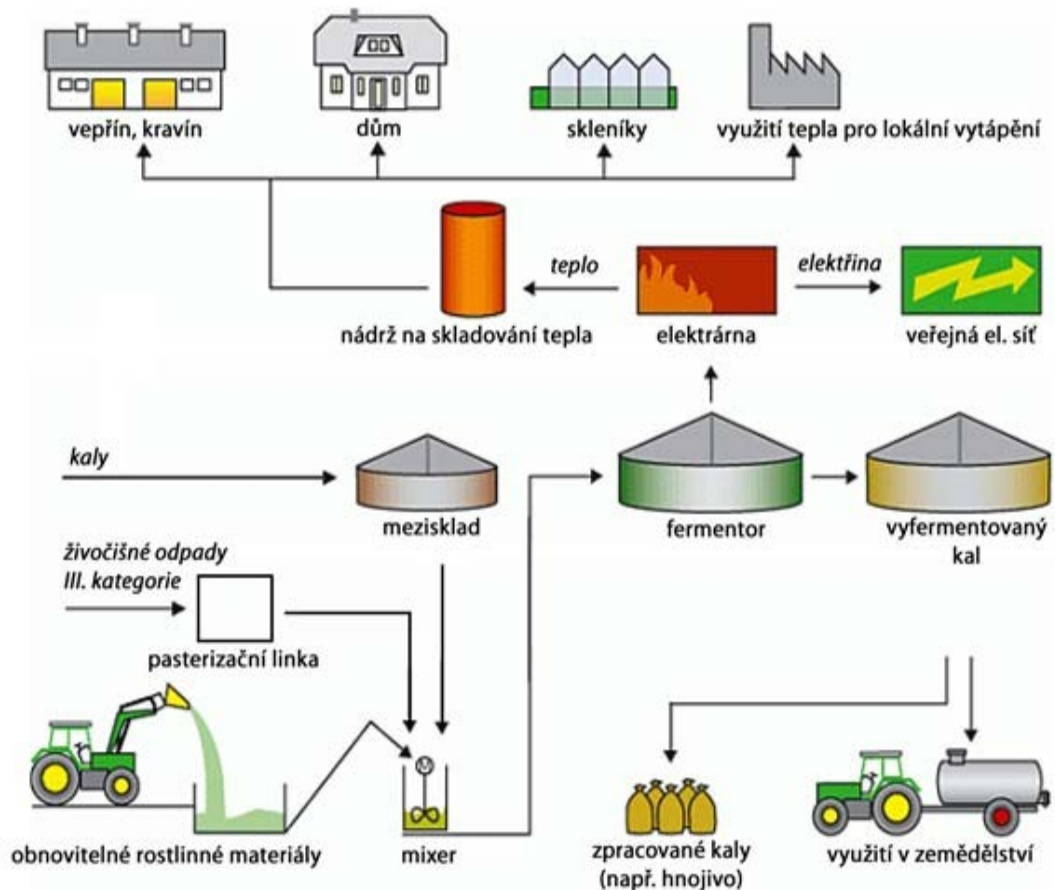
Schéma na následující stránce uvádí jednotlivé možnosti technologických zařízení na výrobu bioplynu (Michal, 2005).

Technologická linka pro anaerobní fermentaci organických materiálů může mít podle druhu a úpravy zpracovávaného materiálu před přesunem do fermentoru mnoho variant. Struktura hlavních prvků technologické linky na výrobu bioplynu je v současné době následující (Gruber, 2005; Pastorek et al., 2004):

4.2. Složení bioplynové stanice

Současný rozvoj bioplynových technologií nám nabízí nepřehledné množství kombinací bioplynových stanic. Nejčastější technologií je nadzemní bioplynová stanice viz. obr. 3. Jedná se o klasické uspořádání dílčích částí. Její předností je nízká pořizovací cena, jež snižuje náklady na provoz stanice.

Obr.3 Schéma klasické bioplynové stanice s nadzemními fermentory



4.2.1. Příjem a úprava materiálu

Nádrže a prostory lze podle potřeby a povahy zpracovávaného materiálu vybavit zařízením na jeho úpravu (separace příměsí, ředění, zahušťování, inokulace, předehřívání, homogenizace, automatizace dávkování do fermentoru atd.) (Michal, 2005).

4.2.2. Anaerobní reaktorové nádoby na tekutý materiál

Rozdělení fermentorů podle jejich charakteristických vlastností (laguna, pravoúhlé fermentory, válcové fermentory, kulové fermentory). Nejjednodušším zařízením je laguna následovaná zakrytým zásobníkem na tekutý materiál. Nejvíce se v současné době používá válcový reaktor s tvarem komolého kužele ve spodní nebo i horní části. Kulovité reaktory se používají sporadicky (Michal, 2005).

4.2.3. Bioplynová koncovka

Tento soubor technologických zařízení zahrnuje potrubí pro přepravu bioplynu, soubor bezpečnostních zařízení pro zabránění požáru a výbuchu, dmychadla, plynojem a regulační a kontrolní prvky, zařízení na úpravu a čištění bioplynu (Michal, 2005).

4.2.4. Kalová koncovka

Tento soubor zahrnuje podle charakteristických vlastností materiálu po fermentaci potřebné armatury, čerpadla, sklady, separační zařízení a podobně (Michal, 2005).

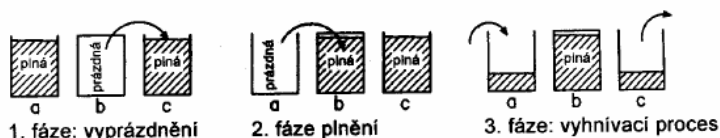
4.3. Technologie na výrobu bioplynu

4.3.1. Technologie výroby bioplynu z tekutých materiálů

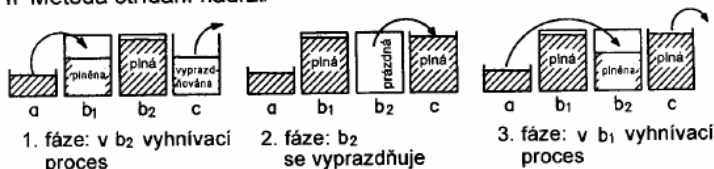
Tento technologický postup výroby bioplynu je nejrozšířenějším způsobem a jak již bylo uvedeno dříve, technologická linka má velké množství možných modifikací. K fermentaci se převážně používají válcové fermentory v sestavách s různými doplňkovými technologickými zařízeními, jejichž konfiguraci určují charakteristické fyzikální a chemické vlastnosti zpracovávaného materiálu. V literatuře lze vyhledat i postupy pro výpočty základních parametrů fermentorů na tekutý materiál (Pastorek et al., 2004; Straka, 2006).

Obr:4 Schéma možností plnění fermentoru

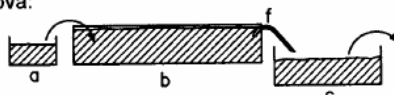
I Dávková metoda:



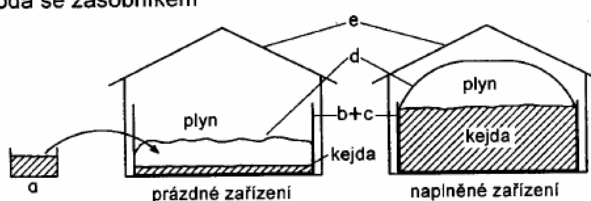
II Metoda střídání nádrží:



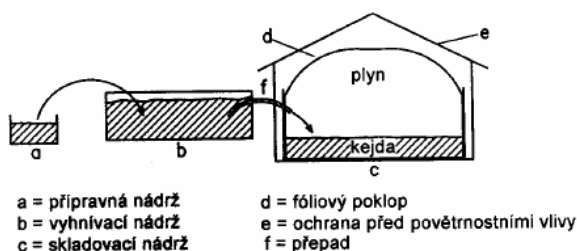
III Metoda průtoková:



IV Metoda se zásobníkem



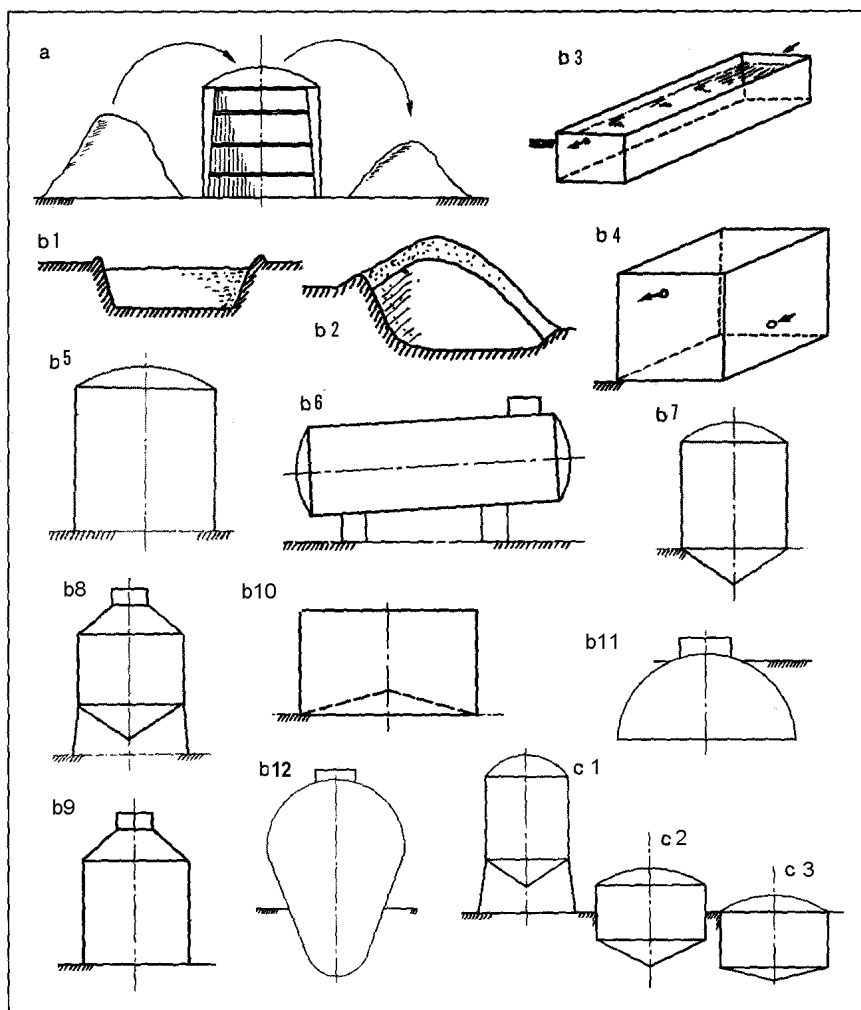
V Metoda průtoková se zásobníkem na konci



4.3.2. Technologie na výrobu bioplynu z tuhých materiálů

V poslední době se realizovaly také technologie na výrobu bioplynu z tuhých materiálů s obsahem sušiny nad 20 %. Z těchto technologií se nejvíce osvědčil postup VÚZT Praha navržený jako dávkový systém s válcovými fermentory typu "koš a zvon". Na obr.5 jsou znázorněny nejběžnější typy fermentorů. V Německu v roce 2001 tento postup fermentace tuhých materiálů realizovala firma BioFerm GmbH (Straka, 2006) se sídlem v Moosdorf/Waldmünchen, která postavila bioplynovou stanici s fermentory, do kterých lze při plnění a vyprazdňování zajíždět manipulátory.

Obr. 5 Nejznámější tvary a typy fermentorů



a) třífázový systém (1. aerobní fáze 2 – 7 dní, anaerobní fáze 28 – 32 dní, 2. aerobní fáze stabilizace do doby aplikace), b) základní typy fermentorů (1 – laguna, 2 – reaktivní skládka, 3 – žlabový fermentor, 4 – hranolovitý fermentor, 5 – válcový fermentor s horizontální osou, 6 - válcový fermentor s vertikální osou, 7 - válcový fermentor s kuželovým dnem, 8 - válcový fermentor s kuželovým dnem i vrchní částí, 9 - válcový fermentor s kuželovou vrchní částí, 10 - válcový fermentor s negativním kuželovým dnem, 11 – polokulový fermentor, 12 – vejčitý fermentor) c) umístění fermentoru v terénu (1 – nadzemní, 2 – polozapuštěný, 3 – podzemní)

4.4.SKLADOVÁNÍ A ZUŽITKOVÁNÍ BIOPLYNU

4.4.1.Skladování bioplynu

Velkou výhodou bioplynu oproti jiným nosičům energie je ta skutečnost, že ho lze skladovat a podle potřeby využívat v době, kdy potřeba zapojit špičkové zdroje pro výrobu elektrické energie nebo tepla. Při jeho skladování nedochází na rozdíl od "skladování" solární elektrické a tepelné energie nebo tepla a energie z větru ke ztrátám (tepelné ztráty, vybíjení akumulátorů). Nevýhodou bioplynu je poměrně malá hustota energie v poměru k objemu,

kdy 1m³ bioplynu obsahuje takové množství energie, jako 0,6 až 0,7 l topného oleje (TechAgro, 2004). Pro beztlakové skladování jsou proto potřeba větší objemy zásobníkových plynojemů. Velikosti plynojemů je potřeba dimenzovat s patřičnou rezervou podle projektované předpokládané produkce bioplynu a podle způsobu využívání vyprodukovaného bioplynu. Bude-li se bioplyn využívat ve k výrobě elektrické energie, je dle literatury potřeba zásobník o objemu 20 % až 50 % denní produkce plynu za předpokladu, že agregát na výrobu elektrické energie je v provozu nepřetržitě při plném zatížení (Schulz, 2004; Michal, 2005).

Bioplynové zásobníky lze rozdělit podle typu konstrukce a velikosti na (Michal, 2005):

nízkotlaké zásobníky - nejvíce rozšířený druh zásobníků plynu, zastoupený především ocelovými zásobníky s vodním uzávěrem, který je výhodný také tím, že ve skladovaném plynu udržuje relativně stálý tlak, který je dostatečný pro přímé spalování v kotlích s atmosférickými hořáky a pohon plynových motorů. V poslední době se vzhledem k úspoře nákladů začínají prosazovat foliové plynojemy, jejichž pořizovací náklady jsou nižší a i jejich realizace je z hlediska pracnosti a náročnosti na provedení podstatně výhodnější.

středotlaké a vysokotlaké zásobníky - ocelové zásobníky s tlakem 5 až 20 bar. Používají-li se ke stlačení jednostupňové kompresory, lze na rozdíl od nízkotlakých zásobníků při tlaku 10 bar dosáhnout desetinásobku skladovaného množství. Toto technické řešení ale již vyžaduje regulaci tlaku. Vysokotlaké zásobníky se v zemědělství pro své vysoké náklady nepoužívají.

4.4.1.1. Úprava bioplynu

Plyn produkovaný ve fermentoru obsahuje při svém výstupu do plynojemu asi 100 % vodní páry a velké množství sirovodíku. Aby se zabránilo korozi potrubí, případně plynojemu, plynového motoru a jiných spotřebičů, musí být v celé soustavě řešeno odstraňování kondenzátu po kondenzaci vodní páry a odsiřování bioplynu. V některých případech se provádí i čištění bioplynu (Michal, 2005).

4.4.2. Zúžitkování bioplynu

Spalování

Přímé spalování v hořácích například při vaření nebo v infračervených zářičích se u nás v současné době již nepoužívá.

Vytápění bioplynem

K vytápění bioplynem se používají kotle s atmosférickými hořáky do výkonu přibližně 30 kW nebo dmýchadlové kotle pro větší výkony.

Kogenerace tepla a elektrické energie

V těchto případech se bioplyn využívá ke spalování jako palivo pro pohon spalovacích motorů, které pohánějí generátory na výrobu elektrického proudu. Odpadní teplo z chladicích okruhů těchto motorů a výfukové plyny se pomocí výměníků využívají k teplovodnímu vytápění budov nebo ohřev vyžadujících technologických zařízení. Otázky úhrady za elektrickou energii řeší Zákon 180 Sb., Sbirka zákonů ČR, částka 66 ze dne 5.5.2005 o podpoře výroby elektřiny z obnovitelných zdrojů energie (Michal, 2005).

Zásobování rozvodných plynovodních sítí

Do budoucna se uvažuje rovněž s možností dodávání bioplynu do rozvodných plynovodních sítí. Vzhledem k malým kapacitám výrobních jednotek, doposud malému rozšíření bioplynových stanic a nerovnoměrnosti produkce si tento způsob využití bioplynu ještě vyžádá podrobné zpracování celého koncepčního řešení. Ve všech zařízeních, ve kterých se skladuje a zužitkovává bioplyn, musí být instalována odpovídající bezpečnostní zařízení (pojistky, hlídače plamene, regulační ventily a podobně). Problematika zužitkování bioplynu není vzhledem ke svému rozsahu, významu a rychle pokračujícímu vývoji v tomto materiálu rozpracována do větší šíře, protože by si zasloužila samostatnou studii (Michal, 2005).

5. Metodika testů anaerobní biologické rozložitelnosti

5.1. Popis principu měření aparatury OxiTop®-Control AN 12

Měřicí systém Oxi Top tvoří snímací tlakové hlavice, řídicí jednotka obr.11 a 12, skleněné nádoby a třepací plato umístěné v termostatu (Kolář et al. 2005). Tlakové hlavice s tlakovým čidlem na piezoelektrickém principu kontinuálně měří tlakové změny uvnitř fermentační lahve. Naměřené údaje jsou ukládány do vlastní paměti měřicí hlavice. Nashromážděná data se bezdrátově pomocí infračerveného paprsku transportují do operační paměti řídicí jednotky Oxi Top OC 110, která umožňuje jejich archivaci a předběžné vyhodnocení. Komunikace mezi řídicí jednotkou a PC může probíhat dvěma způsoby – pomocí IR přenosu nebo přes komunikační rozhraní RS 232. práce s naměřenými hodnotami v PC probíhá v 32 bitovém programu ACHAT OC, který je funkční pod operačním systémem MS Windows. Výstup dat je možný ve formátu *xls* souborů (MS Excel).

5.1.1. Příprava materiálu

Jako substrát pro anaerobní digesci byla použita nekvalitní kukuřičná siláž. Substrát obsahoval 40% sušiny a byl naočkován v poměrech 1:4 a 1:2 očkovacím kalem z ČOV Třeboň. U každého testu byla použita vzdystejná siláž o stejné navážce a poměru. Cílem práce bylo prokázání závislosti výtěžnosti bioplynu na poměru směsi kalu se siláží. Vzorky siláže byly rozděleny do igelitových sáčků o hmotnosti cca 100g a uchovávány v mrazícím boxu při -6°C. Každí vzorek siláže byl před použitím rozmrazen ve vlažné vodě.

Očkovací kal byl odebrán v ČOV Třeboň a uschováván v chladícím boxu +2°C. Před použitím byl barel s kalem vyjmut z boxu a samovolně ohřát na teplotu okolního prostředí.

Očkovací kal byl odebrán z ČOV Třeboň a uschováván též v mrazícím boxu. Před použitím jsem barel vyjmul z boxu a kal nechal ohřát na teplotu okolního prostředí.

5.1.2. Nastavení parametrů 22 denního testu

Test trval 22 dní a parametry byly u všech vzorků shodné. Inkubace probíhala v klimaboxu při teplotě 35°C. Tlakové rozmezí snímacích hlavic bylo 500 až 1350 hPa s přesností určení tlaku +/- 1%, časový interval snímání hodnot ze všech hlavic byl 4,5 minuty.

5.1.3. Průběh testů

Celkový test se skládá ze tří dílčích testů (P_1 , P_2 , P_3) graf. 1

Test P_1 (fermentační) vychází z délky anaerobní fermentace 21 dní (Štindl et al. 2005). Během testu byl substrát fermentován anaerobními mikroorganismy při teplotě 35°C. Změny tlaku plynů vzniklých rozkladem substrátu byly automaticky zaznamenávány v intervalu 4,5 min.

Test P_2 trval 4 hodiny (Štindl et al. 2005). Anaerobní fermentace byla ukončena přidáním **1ml 19% HCl** injekční stříkačkou přes gumový uzávěr lahve do substrátu. Okyselením došlo k vytěsnění oxidu uhličitého z kapalně fáze substrátu.

Byl vypočítán počet molů CO_2 z kapalně fáze: (popisky vzorce)

$$n_{CO_2,l} = \left[\frac{p_2 \cdot (V_g - V_{HCL}) - p_1 \cdot V_g}{R \cdot T} \right] \cdot 10^{-4}$$

Test P_3 trval 24hodin (Štindl et al. 2005).. Následuje po testu P_2 . Do pryžového zásobníku ve fermentační láhvi je injekční stříkačkou vstříknut **1ml 30% KOH**, který na sebe naváže veškerý oxid uhličitý z plynné fáze ($KOH + CO_2 \Rightarrow KHCO_3$). Vyvážením CO_2 z plynné fáze zůstane v celém objemu fermentační láhve pouze methan se zanedbatelným množstvím příměsí.

$$n_{CO_2,l / CO_2,g} = \left[\frac{p_2 \cdot (V_g - V_{HCL} - V_{KOH}) - p_2 \cdot (V_g - V_{HCL})}{R \cdot T} \right] \cdot 10^{-4}$$

kde: Δp = rozdíl tlaku [hPa] (koncový tlak – počáteční tlak)

V_g = objem fermentační láhve – objem fermentované kapaliny [ml]

p_1 = absolutní tlak plynu [hPa] před aplikací 19% HCL

p_2 = absolutní tlak plynu [hPa] před aplikací roztoku KOH

p_3 = absolutní tlak plynu [hPa] po aplikaci roztoku KOH

R = plynová konstanta [$8,314 J / (mol \cdot K)$]

T = teplota při inkubaci [K] (použitá teplota 35°C)

V_{HCL} = objem HCL [ml]

V_{KOH} = objem KOH [ml]

Lze vypočítat počet molů CO₂ v plynné fázi a odečtením od

$$n_{\text{CO}_2, \text{CO}_2\text{g}}$$

Počet molů vyprodukovaného metanu:

$$n_{\text{CH}_4} = (n_{\text{CO}_2, \text{CH}_4} + n_{\text{CO}_2\text{l}}) - n_{\text{CO}_2, \text{CO}_2\text{g}}$$

Celkový počet molů plynů transportovaného uhlíku:

$$n_{\text{CO}_2, \text{CH}_4} + n_{\text{CO}_2\text{l}} = n_c$$

Zjistíme-li některou z klasických metod obsah uhlíku v původním organickém materiálu a v materiálu po skončené fermentaci, lze ze zjištěného n_c vypočítat stupeň rozložení substrátu a sestavením látkové bilance C celý proces zkontrolovat. Pokusným organickým materiálem byla kukuřičná siláž.

Závěrem této metodické části je nutno upozornit, že veškeré práce popisované v této práci jsou srovnávací a proto je třeba dát na přísnou standartizaci podmínek z hlediska pH, obsahu makro- i mikroživin.

5.1.4. Stanovení maximální produkce metanu při 22 denním testu

Kvantitativní a kvalitativní stanovení maximální produkce metanu vychází z výsledků všech 3 dílčích testů (P_1 , P_2 , P_3) znázorněná v grafu č. 1. Pro výpočet je použito třech vzorců, vycházejících z principu stavové rovnice pro výpočet molárního množství plynu.

Při výpočtu jsem vycházel ze stavové rovnice

$$n = \frac{p \cdot V}{R \cdot T}$$

kde n = počet molů plynu

V = objem plynu [m^3]

P = tlak plynu [hPa]

T = teplota při inkubaci [K] (použitá teplota 35°C)

a provedeme výpočet molů CO₂ a CH₄ v plynné fázi fermentačních lahví:

$$n_{\text{CO}_2, \text{g} / \text{CH}_4} = \left[\frac{\Delta p \cdot V_g}{R \cdot T} \right] \cdot 10^{-4}$$

Fermentace při 35°C a nepřetržitým mícháním lahví v termostatu probíhá 21 dnů, tlakové rozmezí snímacích hlavic 500-1350 hPa a časový interval snímání tlakových změn 4,5 min.

Výpočet čisté produkce uhlíku se stanoví ze vztahu: 1 mol CO₂ → CH₄ . (1 mol C je vždy 12g = molární hmotnost C je 12 g/mol) Obsahují vždy 12g uhlíku. Rovnice pro výpočet čisté produkce uhlíku v plyném prostoru (C_H) je dána rovnicí

$$C_H = \left[\frac{12 \cdot 10^3 \cdot \Delta p \cdot V}{R \cdot T} \right]$$

kde: C_H = čistá produkce uhlíku v plyném prostoru [mg]

Závěrem této metodické části je nutno upozornit, že veškeré práce popisované v této práci stanoveny v laboratorních podmínkách.

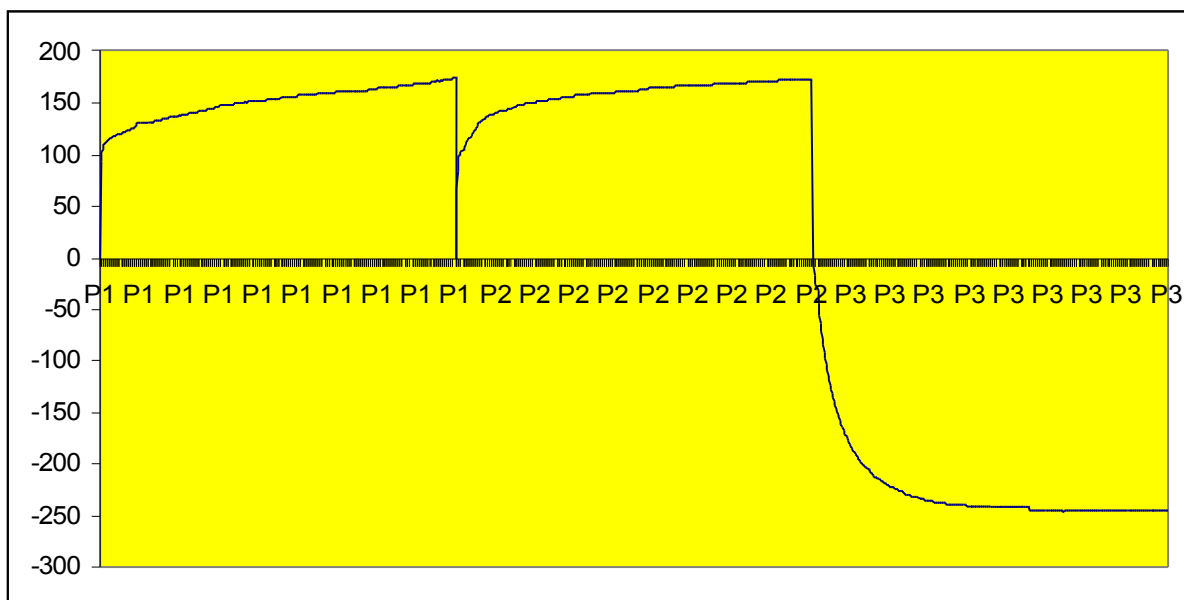
Použité chemikálie

- Titrační roztok 2N NaOH
- Titrační roztok 2N HCL
- Roztok 0,4N kyseliny chromsírové
- Roztok 0,4N Mohrovy soli
- 30%KOH
- 19%HCl
- Destilovaná voda
- Vyhnílý aktivovaný kal
- Rozdrcená směs kukuřičné siláže

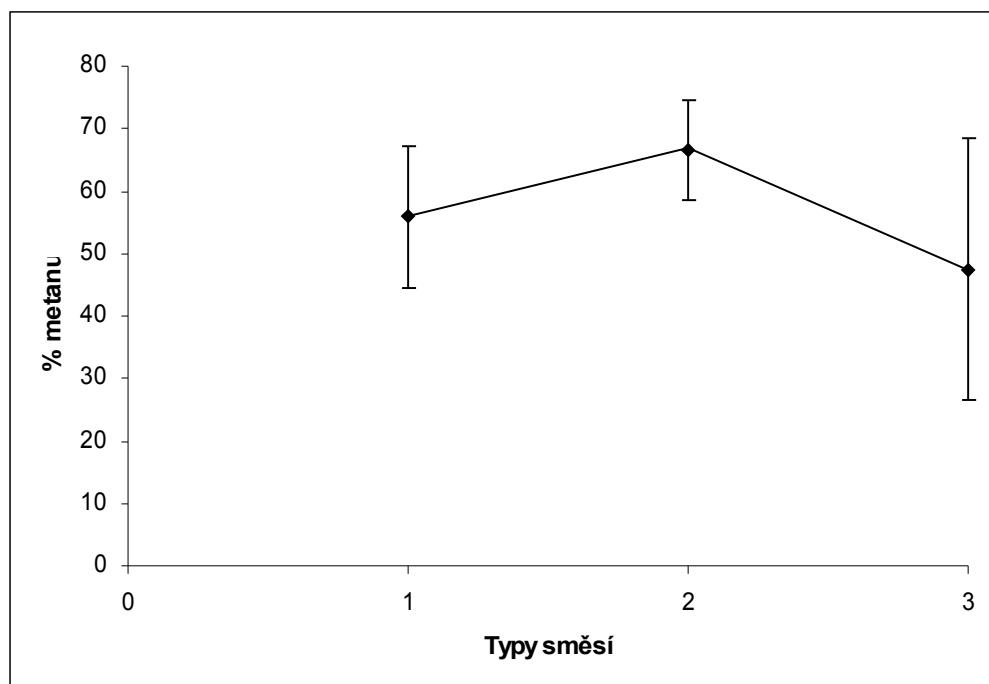
Použité přístroje

- kombinovaná pH elektroda WTW Sen Tix 41
- dvě poloautomatické 250ml birety
- software Achat OC
- systém WTW OxiTop® Control-AN12
- řídicí jednotka WTW OxiTop® C110
- míchadlo WTW OxiTop® - Stirres IS6-VAR
- klimatizovaný box
- mrazicí box

Graf.1 Graf průběhu anaerobní fermentace u fází P1, P2, P3.



Graf.2 Graf závislosti skladby směsi kalu se siláží na výtěžnosti bioplynu.



Tab.3 Tabulka s výsledky z pokusu číslo 1

Pokus číslo 1-láhve						Pokus číslo 1-slepý vzorek		
	Číslo lahve	Směs	%CH ₄	Průměrná navážka v g	Průměry skupin % oxido.uhliku	%CH ₄	Průměrná navážka v g	Průměry skupin % oxido.uhliku
samotný kal	1	50ml kal	53,86	0,0511	23,2	0	0,0532	24,02
samotný kal	2	50ml kal	60,62	0,0513	23,5	0	0,0545	23,73
kal:siláž 2:1	3	33ml kal+17ml siláž	73,9	0,0515	23,6	0	0,0556	23,94
kal:siláž 2:1	4	33ml kal+17ml siláž	77,7	0,0513	22,1	0	0,0539	22,05
kal:siláž 4:1	5	40ml kal+10ml siláž	60,1	0,0514	22,2	0	0,0516	22,45
kal:siláž 4:1	6	40ml kal+10ml siláž	62	0,0512	26,2	0	0,0323	23,1

Tab.4 Tabulka s výsledky z pokusu číslo 2

Pokus číslo 2-láhve						Pokus číslo 2-slepý vzorek		
	Číslo lahve	Směs	%CH ₄	Průměrná navážka v g	Průměry skupin % oxido.uhlíku	%CH ₄	Průměrná navážka v g	Průměry skupin % oxido.uhlíku
samotný kal	1	50ml kal	66,6	0,0507	24,02	0	0,0506	29,54
samotný kal	2	50ml kal	66,5	0,0513	24	0	0,0502	30,95
kal:siláž 2:1	3	33ml kal+17ml siláž	64,5	0,0517	32,13	0	0,0517	27,15
kal:siláž 2:1	4	33ml kal+17ml siláž	61,6	0,0514	30,07	0	0,0517	30,3
kal:siláž 4:1	5	40ml kal+10ml siláž	58,9	0,0514	26,69	0	0,0518	30,14
kal:siláž 4:1	6	40ml kal+10ml siláž	57,4	0,0512	35	0	0,0551	28,8

Tab.5 Tabulka s výsledky z pokusu číslo 3

Pokus číslo 3-láhve						Pokus číslo 3-slepý vzorek		
	Č.lahve	Směs	%CH ₄	Průměrná navážka v g	Průměry skupin % oxido.uhlíku	%CH ₄	Průměrná navážka v g	Průměry skupin % oxido.uhlíku
samotný kal	1	50ml kal	45,3	0,0506	28,02	0	0,0524	28,94
samotný kal	2	50ml kal	42,6	0,0506	25,64	0	0,0504	27,66
kal:siláž 2:1	3	33ml kal+17ml siláž	59,16	0,054	33,78	0	0,0505	30,78
kal:siláž 2:1	4	33ml kal+17ml siláž	63,09	0,0547	32,13	0	0,0511	34,66
kal:siláž 4:1	5	40ml kal+10ml siláž	23,34	0,0531	27,85	0	0,0507	34,4
kal:siláž 4:1	6	40ml kal+10ml siláž	23,19	0,0501	32,43	0	0,0507	32,25

6. Metodika kinetického hodnocení biodegradability organické hmoty

Pro použití metody kinetického hodnocení biodegradability organické hmoty vychází z metodiky od (M. NEUREITER A KOL. 2004) jež tuto metodiku používali na testování kukuřičné siláže.

6.1.1. Popis principu měření

Pro hodnocení biodegradability organické hmoty bylo využito fermentační aparatury. Fermentační láhev se skládá ze skleněné lahve (reakční láhev) o celkovém objemu 600ml, dále gumového těsnění a fermentační zátky. Zátka je komerčně prodávána jako kvasná zátka pro kvašení vína. Fermentační zátka se skládá z vlastního trubicového těla z umělé hmoty a těsnící kapaliny (byl použit nasycený roztok NaCl, který byl pro zjednodušení kontroly obarven) svou funkcí zabraňuje k narušení anaerobního prostředí okolní atmosférou.

Celková doba testu byla 49 dní. Měření biodegradability se provádělo v týdenních intervalech v přesně stanovenou dobu.

K testování substrátu se použije sada 7 ks fermentačních lahví s koncovkami a v trojím opakování. Do připravené lahve se přesně na dvě desetinná místa odváží testovaný substrát a očkovací inokulum (poslouží kejda nebo anaerobní kal). V těchto testech byl použit anaerobní kal z ČOV Třeboň. Vzhledem k lepšímu průběhu anaerobního procesu mokré fermentace se doporučuje doplnit lahev destilovanou vodou do 400ml celkového objemu. Lahev se uzavře fermentační zátkou a umístí se do termoboxu při konstantní teplotě 35°C. Celková doba testu je 49dní. Měření biodegradability se provádí každý týden a to přesně 7 dní od předchozího odběru. Lahev se vyjme z termoboxu a provede odejmutí fermentační zátky a měřením jednotlivých sledovaných parametrů. Při měření je nutné postupovat chronologicky. Jako první se doporučuje měření pH. Následuje stanovení zůstaku sušiny a to kvalitativním převedením celého objemu lahve do keramické misky a sušení při 105 °C. Po vysušení se stanoví úbytek organické hmoty rozdílem hmotnosti před fermentací a po ní. Dále následuje stanovení C_{ox} na titrátoru a výpočet spotřebovaného C za dobu fermentace.

6.1.2.Příprava substrátu

Vzorky byly odebírány v zemědělských provozech s živočišnou i rostlinou výrobou. Všechny substráty byly usušeny při 105 °C do konstantní hmotnosti a homogenizovány na velikost částic 0,5mm. Vysušené vzorky byly po celou dobu skladovány v suchu, aby nedošlo k jejich znehodnocení. Do všech testů byly použity vzorky stejného původu. z důvodu minimální odchylky při měření. Kal z ČOV Třeboň byl uchováván v klimaboxu. Jako kontrola jeho aktivity na něm bylo průběžně měřeno pH a obsah metanu.

Během anaerobní fermentace substrátu při konstantní teplotě 35°C a byl v týdenních intervalech sledován úbytek organické hmoty, změna pH, obsah ligninu a úbytek uhlíku.

Do připravené lahve se s přesností na dvě desetinná místa odvážil testovaný substrát a očkovací inokulum. V těchto testech bylo použito 10g substrátu a 80 ml kalu. Vzhledem k lepšímu průběhu anaerobního procesu při mokré fermentaci byly láhve doplněny destilovanou vodou do objemu 400ml. Jako pufrací činidlo byl přidán CaCO₃ v dávce okolo 5g s přesností navážky na 2 desetinné čísla. Láhve byly hermeticky uzavřeny fermentační zátkou a umístěny do termoboxu při konstantní teplotě 35°C. Láhve byly v týdenních intervalech vyjímány z termoboxu a byly zjišťovány testované parametry. Jako první bylo měřeno pH. Poté byl vzorek kvantitativně převeden a sušen při teplotě 105°C do konstantní sušiny. Byl stanoven zůstatek sušiny. Z rozdílu sušiny před a po fermentaci byl vypočítán úbytek organické hmoty. Následovalo stanovení C_{ox} na titrátoru a výpočet rozloženého C za dobu fermentace.

6.1.2.1.Měření průběhu pH

pH bylo stanoveno vždy před započítáním testů a bylo stanovováno jako první parametr u každé vyjmuté fermentační lahve. K tomuto účelu bylo použito pH-metru WTW InoLaB ls. Změny pH mají zásadní vliv na průběh celého procesu, dojde-li k poklesu pod pH 5 , celý proces anaerobní fermentace se spomalí až zastaví. Bylo nutné provést dvě varianty testu, s přidáním pufru i bez pufru (CaCO₃). Jak je uvedeno tabulkách č.16 až 35 a v grafech 3 a 4, bez přidání pufru by se řada procesů vůbec nerozběhla.

6.1.2.2. Stanovení obsahu organických látek

Vysušený vzorek homogenizován na velikost 0,5 mm. Do vyžíhané, zvážené, porcelánové misky se naváželo naváženoží 10g vzorku (sušeného po rozemletí při 105° C po 2hodiny). Vzorek byl žihán v mufové peci při 550° C do ustálené hmotnosti, po dobu 12hodin. Po vychladnutí v exsikátoru byl zjištěn úbytek hmotnosti.

Výpočet

Obsah organických látek (x) v % ve vysušeném vzorku se vypočítá podle vzorce:

$$X = 10 * m_2$$

kde m_2 je úbytek hmotnosti při žihání, vyjádřený v g vzorku.

Pomůcky

- misky na sušení
- sušárna
- laboratorní váhy M. Toledo PB 3002
- muflová pec
- třídící síta
- laboratorní sklo

Tab. 6 Tabulka obsahu organických látek a obsahu popelovin

substrát	% obsah popelovin	% obsah organiky
řepková sláma	15,35	84,65
pšeničná sláma	6,6	93,4
ječná sláma	5,8	94,2
odpadní brambory	4,39	95,61
cukrovarnické řízky	7,77	92,23
jetelová senáž	5,18	94,82
vojtěšková senáž	9,34	90,66
spadané listí	19,52	80,48
pivovarské mláto	4,37	95,63
kukuřičná siláž	4,4	95,6

6.1.2.3. Stanovení obsahu C_{ox} a CHSK

Obsah C_{ox} se stanovil na automatickém titrátoru Mettler Toledo DL 50. Pro analýzu vzorku bylo navažováno 0.05g substrátu s přesností na 2 desetinná místa. Ke vzorku se přidalo 20 ml chromsírové směsi. Oxidace probíhala v sušárně po dobu 45 minut při 125 °C. Každý vzorek byl stanoven v trojím opakování.

Chemická spotřeba kyslíku (CHSK) substrátů byla stanovena na spektrofotometru Spectroquant NOVA 60. Substrát o navážce 1g s přesností vážení na 3 desetinná místa byl rozmíchán pomocí magnetického míchadla ve 200 ml destilované vody. Za stálého míchání byl ze středové hloubky odpipetován 1 ml roztoku do kyvety s oxidačním činidlem. Oxidace probíhala po dobu 120 minut při 148° C. Po následném ochlazení se změřila CHSK.

Průběh reakce a výpočet C_{ox}

V reakci I.řádu je reakční rychlost v každém okamžiku úměrná koncentracím reagující látky:

$$-\frac{dc}{dt} = k \cdot c$$

k = konstanta při dané teplotě. Její hodnota odpovídá okamžité rychlosti jednotlivé koncentrace reagující látky a proto se nazývá specifická reakční rychlost nebo také „ rychlostní konstanta“

Hodnota konstanty k odpovídá okamžité rychlosti jednotlivé koncentrace reagující látky a proto se nazývá specifická reakční rychlost nebo také „ rychlostní konstanta“.

Skutečná rychlost reakce, která se stále mění je rovna součinu rychlostní konstanty a okamžité koncentrace.

Pro rychlostní konstantu reakce + acider platí:

$$k = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$$

celý vzorec převedeme na dekadické logaritmy:

$$k = \frac{2,303}{t} \lg \frac{a}{a-x}$$

a = počáteční koncentrace reagující látky

x = počet molů v objemové jednotce, které se chemicky přeměnily za dobu t

$(a-x)$ = je tedy proměnná koncentrace reagující látky po čase t

Závislost koncentrace reagující látky $(a-x)$ nebo reakční zplodiny na čase t je vyjádřena funkcemi:

$$(a - x) = a \cdot e^{-kt}$$

$$x = a(1 - e^{-kt})$$

Naneseme-li do grafu na osu y okamžitou koncentraci v logaritmickém měřítku proti času t , pak podle vztahu:

$$\log(a - x) = \log a - \frac{k}{2,303} t$$

dostaneme přímku, jejíž směrnice odpovídá hodnotě

$$-\frac{k}{2,303}$$

$$\text{Poměr } \frac{a}{b} - \frac{k}{2,303} \quad k \text{ má tak rozměr } \text{den}^{-1}$$

$$\text{čili } k = a/b \cdot 2,303 \quad \text{ale musí být rozměr } \text{sek}^{-1}$$

$$1 \text{ den} = 24 \cdot 3600 \text{ sek} \cdot 86400 \text{---} \rightarrow \text{den}^{-1}$$

Tím jsou k v rozmezí sek^{-1} asi o 5 řádků menší, než při rozměru den^{-1} .

Pomůcky

- dvě poloautomatické 50ml birety
- automatický titrátor Mettler Toledo DL 50
- klimatizovaný box
- mrazicí box
- fermentační láhve o objemu 600ml
- kvasné zátky
- laboratorní váhy M. Toledo PB 3002

Chemikálie

- destilovaná voda
- inokulum o sušině <1%
- modrá potravinářská barva
- kyselina chromsírová
- 0,2M roztok NaOH
- 0,2M roztok HCl

Tab.7 Rychlostní konstanty a CHSK

Substrát	k	CHSK [g×g ⁻¹]
Cukrovarnické řízky	1,18	1047,12
Pivovarské mláto	1,19	934,39
Vojtěšková senáž	0,93	1123,63
Spadané listí	0,62	914,21
Jetelové senáž	1,46	1378,55
Odpadní brambory	2,97	1036,64
Kukuřičná siláž	0,37	914,90
Ječná sláma	0,63	443,57
Řepková sláma	1,368	918,86
Pšeničná sláma	0,38	641,75

6.1.2.4.Stanovení ligninu

Metodika

Materiál byl homogenizován na částice o velikosti 0,5-1mm. Homogenizace byla provedena na dvou sítích. Vzorek byl extrahován v soxhletu (obr.9). Prvním extrakčním činidlem byl 95% etanol působící po dobu 4 hodin, jako druhé směs benzenu s etanolem (2:1) působící po dobu 6 – 8 hodin. Vzorek byl promyt destilovanou vodou a zahříván s 400ml destilované vody ve varné baňce po dobu 4 hodin. Získaný extrakt byl promyt destilovanou vodou a sušen při teplotě 80 °C do 100% sušiny.

Pro stanovení ligninu byl navážen z vysušeného vzorku 1g, bylo přidáno 25ml 64% H₂SO₄ a ponecháno za občasného promíchání při 20°C 24hodin. Vzorek byl kvantitativně převeden do kádinky, doplněn do 200ml destilovanou vodou a 3minuty vařen. Pro filtraci byl použit filtrační kelímek S2. Vyextrahovaný lignin byl sušen při 105°C do do 100% sušiny. Z rozdílu hmotnosti kelímku bylo vypočítáno % ligninu viz tab.8.

Výpočet

Výpočet obsahu ligninu se stanoví na základě rozdílu zůstatku ligninu ku počáteční navážce před extrakcí. Výsledná hodnota je v %.

Pomůcky

- Soxhlet
- Sušárna
- Laboratorní sklo
- Elektrický vaříč
- Filtrační kelímek S2
- Vývěva
- Laboratorní váhy M. Toledo PB 3002

Tab. 8 V tabulce jsou uvedeny naměřené hodnoty obsahu % ligninu jež slouží pozdějšímu výpočtu vhodnosti pro anaerobní fermentaci

substrát	% ligninu
Cukrovarnické řízky	14,47
Pivovarské mláto	16,92
Vojtěšková senáž	17,35
Spadané listí	9,35
Jetelové senáž	7,44
Odpadní brambory	13,88
Kukuřičná siláž	14,72
Ječná sláma	15,09
Řepková sláma	11,14
Pšeničná sláma	10,32

7. Bilance mechanizace výpočtu maximální výtěžnosti bioplynu

Na základě hmotově energetické bilance mechanizace je možné vypočítat maximální produkci bioplynu a odhadnout produkci bioplynu ze substrátu.

7.1. Bilance podle CHSK

Obecná stechiometrická rovnice vzniku metanu (Buswell, 1933):

$$\%CH_4 = \frac{\left(\frac{x}{2} + \frac{y}{8} - \frac{z}{4}\right)}{x} = \frac{4 + \frac{y}{x} - \frac{2z}{x}}{8} \times 100 = \frac{y}{8} \times 100 = \frac{1,5 \times COD}{TOC}$$

Množství vzniklého metanu závisí na počtu volných elektronů, kterou má molekula dané organické látky k dispozici.

Při metalizaci veškerá energetická zásoba výchozí látky (neuvažujeme-li spotřebu energie k růstu) zůstává zachován ve vzniklém metanu. Výtěžnost metanu závisí na druhu substrátu, zejména na jeho oxidačním stupni tj. na množství dostupných elektronů, které má

molekula substrátu k dispozici. Tyto veličiny jsou definovány jako POXČ (udávající stupeň oxidace uhlíkového a atomu v molekule) nebo γ (stupeň redukovatelnosti substrátu) jak je uvedeno v tabulce č.9.

Tab.9 Představitelé mezních hodnot

	POXČ	γ
CO ₂	+4	0
CH ₄	-4	8

V praxi se však málo kdy setkáváme se substrátem s přesně definovaným složením. Většinou se jedná o komplexní substrát s proměnlivým počtem i poměrem složek. Nelze proto určit koeficienty x , y , z a jsme tedy nuceni pracovat s jinými, lépe dostupnými veličinami. Pro výpočet maximální teoretické výtěžnosti používáme vztah:

$$\text{CHSK}_{\text{substrátu}} = \text{CHSK}_{\text{metanu}}$$

Skutečná výtěžnost metanu je nižší, protože: CHSK zahrnuje i část CHSK biologicky nerozložitelnou a část CHSK se spotřebuje na růst biomasy

Přesnější je bilance odstraněné CHSK:

$$\text{CHSK}_{\text{substrátu}} = \text{CHSK}_{\text{metanu}} + \text{CHSK}_{\text{biomasy}}$$

Výpočet

Teoretický výpočet metanu podle Buswella

$$\%CH_4 = \frac{\left(\frac{x}{2} + \frac{y}{8} - \frac{z}{4}\right)}{x} = \frac{4 + \frac{y}{x} - \frac{2z}{x}}{8} \times 100 = \frac{\gamma}{8} \times 100 = \frac{1,5 \times \text{COD}}{\text{TOC}}$$

Teoretický výpočet výtěžku metanu

$$Y_{CH_4} [Nm^3 CH_4] = 0,349 \times COD_{substrátu}$$

Testy maximální rychlosti produkce metanu nebo bioplynu

$$r_{V,BP,max} = \frac{\Delta V_{BP} c}{\Delta t \times V_L} \quad [l/l.h]$$

$$r_{X,BP,max} = \frac{r_{V,BP,max}}{X} \quad [l/g.h] (BP, CH_4, NLog)$$

Testy maximální výtěžnosti metanu nebo bioplynu

$$Y_{BP} = \frac{(V_{BP} c - V_{BP} e)}{S} = \frac{V_{BP} s}{S} \quad [l/g, m^3/kg]$$

$$Y_{CH_4, g} = \frac{(V_{CH_4} c - V_{CH_4} e)}{S} = \frac{V_{CH_4} s}{S} \quad [l/g, m^3/kg]$$

Tab. 10 Teoretický výpočet maximálního
výnosu metanu

Teoretický výpočet maximálního výnosu metanu z 1kg substrátu	
substrát	Nm³CH₄
Cukrovarnické řízky	366
Pivovarské mláto	326
Vojtěšková senáž	392
Spadané listí	319
Jetelové senáž	377
Odpadní brambory	362
Kukuřičná siláž	320
Ječná sláma	156
Řepková sláma	322
Pšeničná sláma	224

Tab.11 Teoretický výpočet
objemu metanu

Teoretický výpočet objemu metanu	
substrát	% CH₄
Cukrovarnické řízky	49,13
Pivovarské mláto	35,75
Vojtěšková senáž	48,54
Spadané listí	45,47
Jetelové senáž	49,18
Odpadní brambory	49,38
Kukuřičná siláž	39,28
Ječná sláma	20,04
Řepková sláma	44,42
Pšeničná sláma	29,28

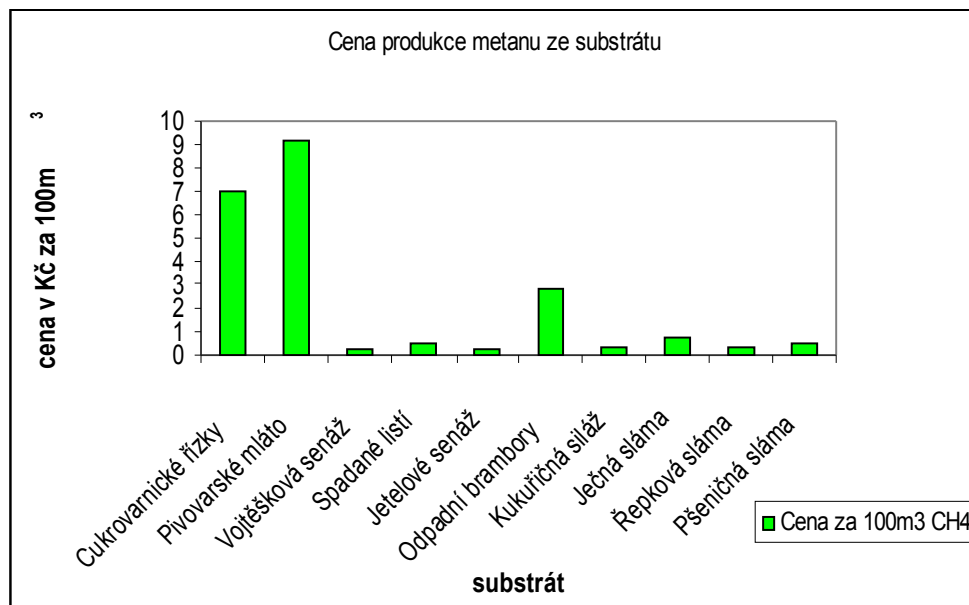
8. Ekonomická kalkulace využití substrátů pro produkci bioplynu.

Při ekonomickém výpočtu nákladů na 100m³ 100% CH₄ bylo nutné zohlednit několik faktorů. Hlavním kritériem byla produkce metanu (rozložitelnost substrátu), skladovatelnost substrátu, obsah sušiny, celoroční dostupnost substrátu a trvanlivost. Výpočet byl prováděn podle vzorce k tomuto účelu sestavenému viz. níže. Náklady na substrát (tabulka č.12) byly u konzervované píce (vojtěšková senáž, kukuřičná siláž a jetelová senáž) vypočteny na základě nákladů na 1t produkce při standardní sušině tabulky č.36-38. Cena spadaneho listí byla vyčíslena implicitními náklady tj. náklady na jejich uložení na komunální skládku. Cena za 1t substrátu je závislá na nabídce a poptávce na trhu. Nerentabilní substráty jako jsou cukrovarnické řízky, odpadní brambory a pivovarské mláto se mohou stát rentabilními, jestliže hlavní odběratelé (chovatelé skotu) o ně ztratí zájem.

Tab. 12 Náklady na 100m³ CH₄

substrát	sušina v %	m ³ CH ₄ v 100% sušině	% CH ₄	Náklady na 1kg substrátu v nativním vzorku	Cena 100% CH ₄ 100m ³ /Kč
Cukrovarnické řízky	24,91	366	49,13	6,4	7,02
Pivovarské mláto	21,36	326	35,75	6,4	9,19
Vojtěšková senáž	39,01	392	48,54	0,4	0,26
Spadané listí	32,24	319	45,47	0,5	0,49
Jetelové senáž	46,45	377	49,18	0,495	0,28
Opadní brambory	19,45	362	49,38	2	2,84
Kukuřičná siláž	31,94	320	39,28	0,32	0,31
Ječná sláma	90,42	156	20,04	1	0,71
Řepková sláma	85,01	322	44,42	1	0,37
Pšeničná sláma	85,27	224	29,28	1	0,52

Graf. 2 Náklady na 100m³ CH₄



9. Statistika

Hodnotil jsem změnu měřených proměných u jednotlivých substrátů v závislosti na čase pomocí lineární regrese. Při regresní analýze se snažím najít neznámé parametry α a β tak, aby výsledný model $y = a + bx$ co nejlépe vystihoval námi pozorovaná data. Interpretace regresního koeficientu (R) plyne především z toho, že odhadnutý regresní koeficient b je formálně směricí regresní přímky. Udává tedy jak velká bude změna závislosti y , změní-li se nezávisle proměná x o jednotku. Kladná hodnota regresního koeficientu ($b > 0$) znamená, že s růstem nezávisle proměné poroste i hodnota závisle proměné. Záporná hodnota pak vyjadřuje pokles závisle proměné při růstu hodnot nezávisle proměné.

Korelační koeficient (p) je druhá odmocnina indexu determinace. Používá se pro posouzení vhodnosti regresní funkce a těsnosti závislosti vysvětlované proměnné y .

Sklon lineární regrese (sklon) nám udává rychlost reakce. Čím je sklon vyšší (hodnota zápornější) tím probíhá daná reakce rychleji. Sklon se stanovuje jen u substrátů u kterých bylo průkazně zjištěn regresní koeficient a korelační koeficient viz. tabulky 13-15.

Tab. 13 Statistické vyjádření úbytku C_{ox} a C_{ox} s pufrům za použití lineární regrese

substrát	R	p	sklon
pšeničná sláma	-0,97	0,00009	-0,2
pšeničná sláma+ pufr	-0,91	0,001	-0,19
řepková sláma	-0,96	0,0001	-0,21
řepková sláma+pufr	-0,9	0,002	-0,17
ječná sláma	-0,98	0,00002	-0,15
ječná sláma+pufr	-0,97	0,00009	-0,22
přívovarské mláto	-0,85	0,006	-0,3
přívovarské mláto+pufr	-0,86	0,005	-0,24
jetelová senáž	-0,82	0,012	-0,19
jetelová senáž+pufr	-0,77	0,02	-0,21
vojtěšková senáž	-0,81	0,01	-0,38
vojtěšková senáž+pufr	-0,78	0,02	-0,27
kukuřičná siláž	-0,9	0,002	-0,14
kukuřičná siláž+pufr	-0,78	0,02	-0,22
cukrovarnické řízky	-0,87	0,004	-0,2
cukrovarnické řízky+pufr	-0,85	0,007	-0,31
spadané listí	-0,96	0,0002	-0,13
spadané listí+pufr	-0,79	0,018	-0,35
odpadní brambory	-0,79	0,018	-0,26
odpadní brambory+pufr	-0,64	0,08	-0,24

Tab. 14 Statistické vyjádření úbytku organické hmoty a organické hmoty s pufrem za použití lineární regrese

substrát	R	p	sklon
pšeničná sláma	-0,94	0,0003	-0,43
pšeničná sláma+ pufř	-0,89	0,002	-0,38
řepková sláma	-0,97	0,00006	-0,53
řepková sláma+pufř	-0,92	0,001	-0,41
ječná sláma	-0,99	0,000005	-0,35
ječná sláma+pufř	-0,99	0,000004	-0,49
pivovarské mláto	-0,98	0,000014	-0,53
pivovarské mláto+pufř	-0,98	0,00003	-0,6
jetelová senáž	-0,89	0,002	-0,41
jetelová senáž+pufř	-0,84	0,007	-0,47
vojtěšková senáž	-0,95	0,0003	-0,38
vojtěšková senáž+pufř	-0,92	0,001	-0,54
kukuřičná siláž	-0,96	0,0002	-0,26
kukuřičná siláž+pufř	-0,87	0,005	-0,44
cukrovarnické řízky	-0,94	0,0005	-0,46
cukrovarnické řízky+pufř	-0,94	0,0004	-0,77
spadané listí	-0,98	0,00004	-0,33
spadané listí+pufř	-0,82	0,013	-0,95
odpadní brambory	-0,85	0,007	-0,63
odpadní brambory+pufř	-0,67	0,066	-0,54

Tab. 15 Statistické vyjádření změny pH a pH s pufrem za použití lineární regrese

substrát	R	p	sklon
pšeničná sláma	-0,86	0,005	-0,31
pšeničná sláma+ pufř	-0,1	0,79	
řepková sláma	0,64	0,08	
řepková sláma+pufř	0,59	0,11	
ječná sláma	-0,97	0,00006	-0,24
ječná sláma+pufř	0,02	0,95	
pivovarské mláto	-0,97	0,00008	-0,18
pivovarské mláto+pufř	0,49	0,21	
jetelová senáž	-0,51	0,18	
jetelová senáž+pufř	-0,48	0,22	
vojtěšková senáž	-0,97	0,00003	-0,13
vojtěšková senáž+pufř	-0,38	0,34	
kukuřičná siláž	-0,59	0,059	-0,12
kukuřičná siláž+pufř	0,24	0,55	
cukrovarnické řízky	-0,26	0,52	-0,02
cukrovarnické řízky+pufř	0,54	0,16	
spadané listí	-0,93	0,0006	-0,23
spadané listí+pufř	0,84	0,0008	0,35
odpadní brambory	-0,78	0,02	-0,3
odpadní brambory+pufř	-0,54	0,16	

10. Výsledky

Na lahvích OxiTop® Control AN 12 se mi podařilo prokázat závislosti skladby směsi kalu se siláží na výtěžnosti bioplynu. Jak je zřejmé z grafu č.2 je prokazatelně nelepší výtěžnost bioplynu při směsi 2:1 (2 díly kalu a 1 díl kuk.siláže), na druhém místě je nejlepší výtěžnost bioplynu při anaerobní fermentaci samotného kalu. Z neprokazatelných důvodů je nejhorší varianta číslo 3 kde jsem používal směs 4:1 (4 díly kalu a 1 díl kuk.siláže). U všech pokusů jsem dodržoval celkový objem směsi. Celkový objem směsi byl 50ml. Stejný objem směsi jsem zvolil za účelem vyvarování se nepřesností vlivem rozdílného objemu a následkem toho i zkreslených hodnot měření. Na grafu č.2 je jasně vidět, že existuje závislost skladby směsi kalu se siláží na výtěžnosti bioplynu i při velké směrodatné odchylce u vzorku číslo 3. Číslo jedna na ose x znázorňuje průměrné % metanu při 100% zastoupení kalu ve směsi. Číslo dvě znázorňuje průměrné % metanu při 66% zastoupení kalu ve směsi. Číslo tři znázorňuje průměrné % metanu při 80% zastoupení kalu ve směsi.

Pro stanovení obsahu organických látek bylo použito celkem deset substrátů viz. tabulka č.6. Při žihání substrátů se stanovil celkový obsah popelovin jako obsah anorganických živin jež při anaerobní fermentaci zůstává v digestátu. Jak již z tabulky č.6 vyplývá nejvíce organických látek obsahovaly pivovarské mláto, kukuřičná siláž a odpadní brambory. Nejméně organických látek obsahovalo spadané listí.

V tabulce č. 8 jsou uvedeny % ligninu všech extrahovaných substrátů. Obsah ligninu je důležitý z hlediska nerozložitelného zůstatku substrátu po skončení anaerobní fermentace. Tyto hodnoty se můžou v provozu lišit z důvodu použití různých metodik na jejich stanovení. Je vždy důležité používat stejnou metodiku u všech testovaných substrátů z důvodu jejich srovnávání.

V tabulkách č.10 a 11 jsou uvedeny teoretické výpočty % obsahu metanu a maximálního výnosu metanu. Je nutné si uvědomit, že tyto hodnoty jsou pouze teoretické, naměřené v laboratorních podmínkách na slepém vzorku a vyjadřují maximální výtěžek z daného substrátu. V provozních podmínkách se tyto hodnoty výrazně liší z důvodu nedodržení všech podmínek (stálá teplota fermentoru, pH a osídlení vhodnými metanogenními bakteriemi). Tyto hodnoty jsou pouze informační, slouží k výběru vhodného substrátu pro danou fermentační technologii nebo porovnání substrátů mezi sebou.

V ekonomické kalkulaci vhodnosti substrátů jsem použil pro výpočet hodnoty teoretického výtěžku metanu, ceny substrátů vyčíslené ve farmářských cenách a bylo nutné také zohlednit obsah sušiny, od které se odvíjí celková cena substrátu. Cenu substrátu

v současné době nejvíce ovlivňuje vysoká poptávka po potravinách jež nepřímo zvyšuje cenu substrátu a prodražuje celkově obnovitelné energie. Pro provozovatele bioplynových stanic je přitom cena substrátu jeden z nejdůležitějších nákladů na provoz bioplynové stanice. Výkupní cena je uzavírána na pevný tarif po dobu 15cti let a v průběhu nelze tuto cenu měnit.

Pro statistické hodnocení substrátu z hlediska pH, C_{ox} v g a úbytek organické hmoty jsem použil program Statistika. Nejvhodnějším testem je lineární regrese pomocí níž jsem testoval závislost změny pH v čase, úbytek C_{ox} v g v čase a úbytek organické hmoty v čase. Statisticky průkazné se ukázaly úbytky organické hmoty a C_{ox} v čase. Statisticky neprůkazná se ukázala změna pH v čase tj. neexistuje lineární závislost změny pH v čase.

11.Závěr a diskuse

Pomocí 22 DENNÍHO TESTU (testu anaerobní biologické rozložitelnosti) bylo úkolem stanovit neoptimálnější poměr mezi kalem (kejdou) a kukuřičnou siláží pro získání největší výtěžnosti bioplynu. Při anaerobní fermentaci nezáleželo pouze na druhu substrátu, ale také na vzájemném poměru mezi substrátem a kalem. Na lahvích OxiTop® Control AN 12 se podařilo prokázat závislost výtěžnosti bioplynu na poměru kalu a siláže v substrátu. Jak je zřejmé z grafu č.2, k nejvyšší výtěžnosti bioplynu dochází při poměru komponent směsi 2:1 (2 díly kalu a 1 díl kuk. siláže), na druhém místě je nejlepší výtěžnost bioplynu při anaerobní fermentaci samotného kalu. Z výsledků tohoto testu se jeví jako nejméně výhodná směs 4:1

(4 díly kalu a 1 díl kuk.siláže), která poskytuje nevyrovnané výsledky, přestože testy probíhaly v neměnných podmínkách. Průměrná procentická výtěžnost směsi je 47,49% a směrodatná odchylka je 21,03 viz. graf č.2.

Při testaci biologického rozkladu vybraných substrátů byla hodnocena rychlost biologického rozkladu. Protože některé substráty nesplňovaly podmínku počátečních hodnot pH okolo 7, bylo nutné přidat pufrční činidlo. Reakce se inhibuje při poklesu pH pod 6. Vznikly tak dvě varianty testu, s pufrčním činidlem a bez něj. V průběhu testů se u odpadních brambor, cukrovarnických řízků a pivovarského mláta vytvořila hustá pěna, která ucpala fermentační zátku. Pěna se vytvořila v obou variantách testu. Pravidelné promíchávání vzorků zabránilo pěnivosti, nebo ji snížilo. Bez podružných efektů probíhal rozklad konzervovaných píceňin (kukuřičná siláž, vojtěšková senáž a jetelová senáž) viz. grafy č.3 a 4. Problémy se vyskytly u všech typů slámy. V průběhu 14 dní muselo dojít

k nasáknutí celého objemu substrátu kalem, jinak docházelo k separování na tuhou a kapalnou část.

Následně jsem se věnoval teoretickému výpočtu maximální výtěžnosti bioplynu a obsahu metanu. Vycházel jsem z hodnot C_{ox} a $C_{ox}\%$, získaných během testů anaerobní biologické rozložitelnosti. Podle uvedeného vzorce jsem zjišťoval rychlostní konstantu k , bezrozměrné číslo, které ukazuje rychlost rozkladu substrátu. Tyto výpočty jsou teoretické a vychází z ideálních laboratorních podmínek. V provozních podmínkách by byla výtěžnost snížena neúplným rozkladem substrátu. Pomocí těchto výpočtů můžeme porovnávat využitelnost testovaných substrátů mezi sebou. U všech substrátů byla použita stejná metodika, odchylka měření se tím snižuje na minimum.

V ekonomických výpočtech vhodnosti substrátu pro anaerobní fermentaci bylo nutné kalkulovat se skladovatelností a celoroční dostupností substrátu. V obou kritériích vychází jako nejlepší varianta kukuřičná siláž, vojtešková senáž a řepková sláma. V statistickém vyjádření lineární regrese byla zjištěna závislost úbytku organické hmoty a oxidovatelného uhlíku v čase a nepotvrdila se změna pH v závislosti na čase. Proto neexistuje přímý vztah změny pH v čase, ale změna pH je ovlivně substrátem a přidáním pufru ($CaCO_3$).

Seznam literatury

- AHRING, B.K., ANGELIDAKI, I. AND JOHANSEN, K. :Anaerobic treatment of manure together with industrial waste. *Water Science and Technology*, 30, 1992. pp.241-249.
- ANGELIDAKI, I., AHRING, B.K. :Ammonia inhibition during anaerobic thermophilic degradation of animal waste. In Verachtert H, Verstraete W (eds) *Proceedings of the International Symposium on Environmental Biotechnology*, Royal Flemish Society of Engineers, 22-25 April 1991, vol 2, 1991. pp. 389-392.
- ANGELIDAKI, I., AHRING, B.K. Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: The effect of ammonia. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 1993. pp.560-564.
- ANGELIDAKI, I., ELLEGAARD, L., AHRING B.K. :A mathematical model for dynamic simulation of anaerobic digestion of complex substrates: Focusing on ammonia inhibition. *Biotech. Bioeng.*, Vol.42, 1993. pp. 159 – 166.
- ARCHER D.B., KIRSOP B.H.:The Microbiology and control of anaerobic digestion“ 43-92 in Whetley a (Ed.) *Anaerobic Digestion: A Waste Treatment technology Crit. Rept. Appl. Chem.* Vol. 31, Elsevier Appl. Sci., London (1990)
- ARCHER D.B., ROBERTSON J.A., PECK M.W.:The Microbiology and Biochemistry of Biogas Production from Solid Wastes, 393-405 in Alston Y.R., Richards G.E.:*Landfill Gas and Anaerobic Digestion of Solid Waste (Proc. Int. Conf. 4-7.10.)* Chester UK. Publ. Harwell Lab. Oxfordshire (1988)
- BARESI, L., MAH, R., WARD, D., KAPLAN, I. :Methanogenesis from Acetate: Enrichment Studies. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 36, 1978. pp.186-197.
- BASAGLIA, M., CONCHERI, G., CARDINALI, S., PASTI-GRIGSBY, M.B., NUTI, M.P. : Enhanced degradation of ammonium-pretreated wheat straw by lignocellulolytic *Streptomyces* spp. *Canadian Journal of Mikrobiology*, Vol. 38, No.10, 1992. pp.1022-1025.
- BÉGUIN, P., AUBERT, J.P. :The biological degradation of cellulose. *FEMS Microbiological Review*, Vol. 13, 1994. pp. 25-58.
- BERICHT DAS 10. ALPENLÄNDISCHE EXPERTENFORUM: Biogasproduktion - alternative Biomassenutzung und Energiegewinnung in der Landwirtschaft, sborník, 2004.
- BJÖRNSSON, L., MATTIASSON, B. AND HENRYSSON, T. :Effects of support material on the pattern of volatile fatty acid accumulation at overload in anaerobic digestion of semi-solid waste. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 47, 1997. pp.640-644.
- BJÖRNSSON, L., MURTO, M., MATTIASSON, B. :Evaluation of parameters for monitoring an anaerobic co-digestion process. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 54, 2000. pp. 844-849.
- BOON, A.G. Septicity in Sewers: Causes, consequences and Containment. *J. M M* , Vol. 6, Febuzry, 1992.

- BRAUN, R., HUBER, P., MEYRATH, J. :Ammonia toxicity in liquid piggery manure digestion. *Biotechnol Lett* 3, 1981. pp.159-164.
- BRYANT M.P.:Methane-producing bacterie (part 13) *Bergey´s Manual of Determinative Bacteriology*, 8th. ed. The Williams & Wilikins Co., Baltimore, USA (1974)
- CECCHI, F., TRAVERSO, P., MATA-ALVAREZ, J., CLANCY, J., ZAROR, C. :Anaerobic digestion of municipal solid waste in Europe, *Biomass*, Vol.16, 1988. pp. 257-284.
- CRAWFORD, D.L. :The role of actinomycetes in the decomposition of lignocellulose. *FEMS Symp.* 34, 1986. pp. 715 – 728.
- DOHÁNYOS M. A KOL.:Anaerobní čistírenské technologie NOEL 2000, Brno (1998)
- DOHÁNYOS, M., ZÁBRANSKÁ J. :Bilance metanizace-výpocet maximální výtežnosti bioplynu. *Vodní hospodárství* B38, 2, 1988. s. 45-49.
- DOHÁNYOS, M., ZÁBRANSKÁ, J., JENÍČEK, P., FIALKA, P., KAJAN, M. :Anaerobní čistírenské technologie, Noel 2000, 1998.
- DRAKE, H. *Acetogenesis*. E. Harold L. Drake. New York: Chapman and Hall, 1994.
- ERIKSSON, K.E., BLANCHETTE, R.A., ANDER, P. :*Microbial and Enzymatic degradation of Wood and Wood Components*. Springer-Verlag, Berlin, 1990.
- FERRY, J. :Methane from Acetate. *Journal of Bacteriology*. Vol. 174, No. 17, 1992. pp. 5489-5494.
- FETZER, S., CONRAD, R. :Effect of redox potential on methanogenesis by *Methanosarcina barkeri*. *Archives of Microbiology*, Vol. 160, 1993. pp.108-113.
- GALLERT , C., WINTER, J. :Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of source-sorted organic wastes: effect of ammonia on glucose degradation and methane production, *Appl. Micro. Biotechnology*, vol. 48, 1997. pp. 405-410.
- GARCIA, J.L., PATEL, B.K.C. AND OLLIVIER, B. :Taxonomic, phylogenetic, and ecological diversity of methanogenic Archaea, *Anaerobe*, Vol. 6, 2000. pp.205-226.
- GILKES, N.R., KILBURN, D.G., MILLER, R.C., WARREN, R.A.J. : *Bacterial Cellulases*. *Bioresource Technology*, Vol.36, 1991. pp. 21-35.
- GUJER, W. AND ZEHNDER, A.J.B. :Conversion processes in anaerobic digestion. *Water Science and Technology*, Vol. 15, 1983. pp.127-167.
- GRUBER: *Biogasanlagen in der Landwirtschaft*, 2005.
- HAUG, R.T. :*The Practical Handbook of Compost Engineering*. Lewis Publishers, Boca Raton, 1993. 717p.
- HAWKES, F.R. AND HAWKES, D.L. :Anaerobic Digestion, In Bu'lock, J. and B. Kristiansen (eds.), *Basic Biotechnology*. Academic press, London, 1987. pp.337-358.

- HEERENKLAGE, J., STEGMANN, R. :Analytical methods for determination of the biological stability of waste samples, Proceedings Sardinia 2005, Tenth International Waste Management and landfill Symposium S. Margherita di Pula, Clagliari, Italy, 3 - 7 October, 2005.
- HEUER, J., KASKENS, H.J. :Prevention of Concrete Corrosion and Odour Annoyance with Biofiltration, Proceedings of the International Conference on Sewage into 2000. Water Science and Techology. Vol. 27 (5-6), 2000, pp.207-218.
- HICKEY, R.F., VANDERWIELEN, J.,SWITZENBAUM, M.S. :The effect of heavy metals on methane production and hydrogen and carbon monoxide levels during batch anaerobic sludge digestion, Water Research, Vol. 23, Issue 2, 1989. pp. 207-218.
- HOLM-NIELSEN, J. B., DAHL, C. K., AND ESBENSEN, K. H. :Representative sampling for process analytical characterisation of heterogeneous bioslurry systems – a reference study of sampling issues in PAT, Elsevier, Chemometrics and intelligent laboratory systems, vol. 83, 2006. pp. 114-126.
- HORBAJ,P. :Teoretický výpočet vzniku metánu z komunálneho odpadu, Chemické listy 98, 2004. s.137-141.
- HRNČIŘÍK, J., KLÍMA, J., KUPEC, J. :Aparatura pro volumetrické sledování anaerobního rozkladu organických látek, Chemické listy 91, 1997. s. 877-883.
- HUMER, M., LECHNER, P. :Minimierung von Methanemissionen und Sickerwasser aus Deponien und Altlasten durch Abdeckschichten und Kompost. Im Auftrag der Kommunalkredit AG, Stadt St. Pölten und MA48 (Stadt Wien), 2000.
- HUSER, B. A., WUHRMANN, K., ZEHNDER, A. :Methanotrix soehngeni gen. nov. sp. nov., a New Acetotrophic Non-hydrogen-oxidizing Methane Bacterium. Archives of Microbiology. Vol. 132, 1982. pp.1-9.
- CHANDLER, J.A., JEWELL, W.J.,GOSSETT, . J.M. , VAN SOEST, P.J., ROBERTSON, J.B. :Predicting methane fermentation biodegradability, Biotechnology and Bioengineering Symposium, No. 10, 1980 pp. 93-107.
- CHEN YR, HASHIMOTO AG. : Substrate utilization kinetic-model for biological treatment process. Biotechnology and Bioengineering, Vol.22, NO.20, 1980. pp. 81–95.
- CHYNOWETH, D.P., OWENS, J.M. AND LEGRAND R. :Renewable methane from anaerobic digestion of biomass. Renewable energy, Vol. 22, 2001. pp.1-8.
- JETTEN, M., STAMS, A., ZEHNDER, A. :Methanogenesis from Acetate: A Comparison of the Acetate Metabolism in Methanotrix soehngeni and Methanosarcina spp. FEMS Microbiology Reviews. Vol. 88, 1992. pp.181-198.
- KALYUZHNYI, S., VEEKEN, A. AND HAMELERS, B. :Two-particle model of anaerobic solid-state fermentation. Water Science Technology, Vol. 41, 2000. pp.43 – 50.
- KASENG, K., IBRAHIM, K., PANEERSELVAM, S.V. AND HASSAN, R.S.: Extracellular enzymes and acidogen profiles of a laboratory-scale two-phase anaerobic digestion system. Process Biochemistry, Vol. 27, 1992. pp.43-47.

KIRK, T.K., FARRELL, R.L. :Enzymatic „combustion“ : the microbial degradation of lignin. *Annu. Rev. Microbiology*, Vol. 41, 1987. pp. 465 – 505.

KOLÁŘ L., KLIMEŠ F., KUŽEL S., KOBES M. :Laboratorní posouzení substrátu pro anaerobní digesci testem methanogenní aktivity na zařízení Oxi Top CONTROL AN 12 MERCK. Mezinárodní konference "ODPADY biodegradabilní", MZLU Brno 9.11. 2004.

KOLÁŘ L., KUŽEL S., KLIMEŠ F., ŠTINDL P., GERGEL J., ŠINDELÁŘOVÁ M. :Použití SPECTROQUANT MERCK COD a BOD fotometrických testů při stanovení biodegradability organických látek ve vodě, v půdě a v substrátech pro anaerobní digesci. Sborník z XII. Vědecké konference JČU České Budějovice - VÚRH Vodňany s mezinárodní účastí " Toxicity and biodegradability of Matters Important in Water Management". Vodňany 2005. pp. 39-42.

KOLÁŘ, L., KLIMEŠ F., GERGEL J., KUŽEL S., KOBES M., LEDVINA R., ŠINDELÁŘOVÁ M.,: Methods to evaluate degradability in anaerobic digestion and biogas production, Faculty of Agriculture in České Budějovice, Plant soil environ., 51, 2005 (4):173-178

KOSTER, I.W., LETTINGA, G. :The influence of ammonia-nitrogen on the specific activity of pelletized methanogenic sludge. *Agric Waste* 9, 1984. pp.205-216.

KUŽEL, S., KOLÁŘ, L. Test methanogenní aktivity na zařízení OXI TOP CONTROL AN 12 MERCK. Collection of Scientific Papers, Faculty of Agriculture in České Budějovice, Series for Crop Sciences, 22, 2005 (1): 29-32.

LADISH, M.R., LIN, K.W., VOLOCH, M., TSAO, G.T. :Process considerations in the enzymatic hydrolysis of biomass, *Enzyme Microb. Technol.* 5 (2), 1983. pp. 82 – 102.

LETTINGA, G. :With anaerobic treatment approach towards a more sustainable and robust environmental protection. In: 10th International Conference on Anaerobic Digestion. Montreal, Canada, 29th August-3rd September, Vol. 1, 2004. pp. 2-1

LETTINGA, G. AND HULSHOFF-POL, L.W. :UASB process designs for various types of wastewaters. *Water Science and Technology*, 24, 1991. pp.87-107.

LINDEN, J.C., SHIANG, M. :Bacterial Cellulases: regulation of synthesis. In: G.F. Leatham and M.E. Himmel (ed.), *Enzymes in Biomass Conversion*, ACS Symposium Series 460, American Chemical Society, Washington, DC, 1991. pp. 331-348 .

LINKE B. :A model for anaerobic digestion of animal waste slurries. *Environmental Technology* Vol.18, 1997. pp.849–54.

LJUNGDAHL, L., PETTERSSON, B., ERIKSSON, K.E., WIEGEL, J. :A yellow affinity substance involved in the cellulolytic system of *Clostridium thermocellum*. *Curr. Mikrobiology*, Vol. 9,1983. pp. 195-200.

LJUNGDAHL, L.G., ERICSSON, KE. :Ecology of microbial cellulose degradation, In: K.C. Marshall (ed.), *Adv. Microb. Ecol.*, Vol. 8, Plenum Press, New York, 1985. pp. 237-299.

- MARTÍNEZ, Á.T., SPERANZA M., RUIZ-DUEÑAS, F.J., FERREIRA, P., CAMARERO, S., GUILLÉN, F. ET AL . :Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. *International Mikrobiology*, Vol. 8, NO.3, 2005. pp. 195-204.
- MATA-ALVAREZ, J., MTZ-VITURTIA, A., LLABRES-LUENGO, P., CECCHI, F. :Kinetic and performance study of a batch two-phase anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes. *Biomass and Bioenergy* 5 (6), 1993. pp.481–488.
- MCCARTY P.L., MCKINNEY R.E. :Salt toxicity in anaerobic digestion. *Water Pollution Control Federation Journal* 33, 1964. pp.399-415.
- MCINERNEY, M.J. :Anaerobic hydrolysis and fermentation of fats and proteins. In: *Biology of Anaerobic Microorganisms*, A.J.B. Zehnder (ed), John Wiley and Sons, 1988. pp. 373-416.
- MICHAL P.: *Bioplyn – energie ze zemědělství Praha 2005* pp. 3-22
- MOHAMED ABDEL-HADI: *Methangewinnung aus Nahrungsmittelabfällen und Betarüben durch Kofermentation, 2003.*
- MORAR: *Verfahrenstechnische Untersuchungen zur anaeroben Behandlung von Brennereischlempe, 2003.*
- MOSEY, F.E. AND FERNANDES, X.A. :Patterns of hydrogen in biogas from the anaerobic digestion of milk sugars. *Water Science and Technology*, Vol. 21, 1989. pp.187-196.
- MÜLLER, W.-R. :Existing standardised methods for anaerobic biodegradability testing. In: *Proceedings of the workshop “harmonisation of anaerobic biodegradation, activity and inhibition assay, June 7-8, 2002-Lago d’Orta, Italy, Institute for Environment and Sustainability, Ispra, Italy, 2002.* pp 103-138
- MURRAY, P., ZINDER, S. :Nutritional Requirements of *Methanosarcina* sp. Strain TM-1. *Applied and Environmental Mikrobiology*, Vol. 50, No. 1, 1985. pp. 49-55.
- PASTOREK, KÁRA, JEVIČ: *Biomasa - obnovitelný zdroj energie, 2004*
- PATEL, G. B., ROTH , L. A., AGNEW, B. J. :Death Rates of Obligate Anaerobes Exposed to Oxygen and the Effect of Media Prereduction on Cell Viability, *Canadian Journal of Mikrobiology*, Vol. 30, 1984. pp. 228-235.
- PAVLOSTATHIS, S.G. AND GIRALDO-GOMEZ, E. : Kinetics of anaerobic treatment. *Water Science Technology*, Vol. 24, 1991. pp. 35 – 59.
- POWELL, G.E. AND ARCHER, D.B. :On-line titration method for monitoring buffer capacity and total volatile fatty acid levels in anaerobic digesters. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 33, 1989. pp. 570 –577.
- REBAC, S., VAN LIER, J.B., JANSSEN, M.G.J., DEKKERS, F., SWINKELS, K.T.M., AND LETTINGA, G. :High rate anaerobic treatment of malting waste water in a pilot-scale EGSB system under psychrophilic conditions. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 68, 1997. pp.135-146.

SCHULZ, EDER: Bioplyn v praxi, 2004.

SENIOR, E., BALBA, M.T.M. :Refuse Decomposition. In: E.Senior, (ed.). Microbiology of Landfill Sites, CRC Press, Boca Raton, FL., 1990. pp. 17-58.

STRAKA, F. et al. :Bioplyn - příručka pro výuku, projekci a provoz bioplynových systémů. GAS s.r.o., Praha, 2006. 706s.

SWITZENBAUM, M.S., GIRALDO-GOMEZ, E., HICKEY, R.F. :Monitoring of the anaerobic methane fermentation process, Enzyme and Microbial Technology, Vol. 12, Issue 10, 1990. pp. 722-730.

ŠTINDL P., HRUŠKOVÁ- SILOVSKÁ Š., KOLÁŘ L., KUŽEL S.,:Stanovení rozložitelnosti organické hmoty při výrobě bioplynu anaerobní digescí. Využití fytomasy pro energetické účely. Sborník vědeckých publikací z mezinárodního semináře „ Nepotravinářské využití fytomasy“, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích , Zemědělská fakulta, : 2005. pp. 86-92.

Štindl P.,: Písemná práce k státní doktorské zkoušce DPS, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, : 2008. pp. 1-20

TSAO, G. T. Bacterial hydrolysis : A review. In: Ferrero, G.L., Ferranti, M.P., Naveau, M.P. (ed.), Anaerobic Digestion and Carbohydrate Hydrolysis of Waste, Elsevier, Applied Science Publishers, London, 1984. pp. 83-99.

UEMURA, S., HARADA, H. :Effect of Temperature Elavation From 55°C to 65°C on the Performance of a Thermophilic UASB Reactors and Characterization of Methanogenic Granular Suldge, Environmental Technology, Vol. 16, 1995. pp. 987-994.

VAN DEN BERG, L., PATEL, G. B. , CLARK, D. S., LENTZ, C. P. :Factors Affecting Rate of Methane Formation from Acetic Acid by Enriched Methanogenic Cultures. Canadian Journal of Mikrobiology, Vol. 22, 1976. pp.1312-1319.

VAN SOEST, P.J. :The Nutritional Ecology of the Ruminant, 2nd edition, Cornell University Press Ithaco, NY, 1996. pp. 476.

VISSER, A., HULSHOFF POL, L.W., LETTINGA, G. :Competition of methanogenic and sulfidogenic bacteria, Water Science and Technology, Volume 33, Issue 3, 1996, pp. 99-110

WANG, Y.S., ODLE, W.S., ELEAZER, W.E., AND BARLAZ, M. A. :Methane potential of food waste anaerobic toxicity of leachate produced during food waste decomposition. Waste Management and Research, Vol. 15, 1997. pp.149-167.

WEBER, H.S, KULBE, K., CHMIEL, H., TRÖSCH, W. :Microbial Acetate Conversion to Methane: Kinetics, Yields, and Pathways in a Two-step Digestion Process. Applied Microbiology and Biotechnology. Vol. 19, 1984. pp. 224-228.

WEGER, HAVLÍČKOVÁ: Biomasa - obnovitelný zdroj energie v krajině, 2003

WIEGANT, W.M. AND LETTINGA, G. :Thermophilic anaerobic digestion of sugars in upflow anaerobic sludge blanket reactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 27, 1985. pp.1603-1607.

YANG, S.T., OKOS., M.R. :Kinetic Study and Mathematical Modeling of Methanogenesis of Acetate Using Pure Cultures of Methanogens. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 30, 1987. pp.661-667.

ZÁBRANSKÁ J. :Anaerobní rozložitelnost organických látek a aktivita anaerobní biomasy. Sborník "Anaeróbne procesy v technológii vody", CHTF STU Bratislava, 1994. s.47-64.

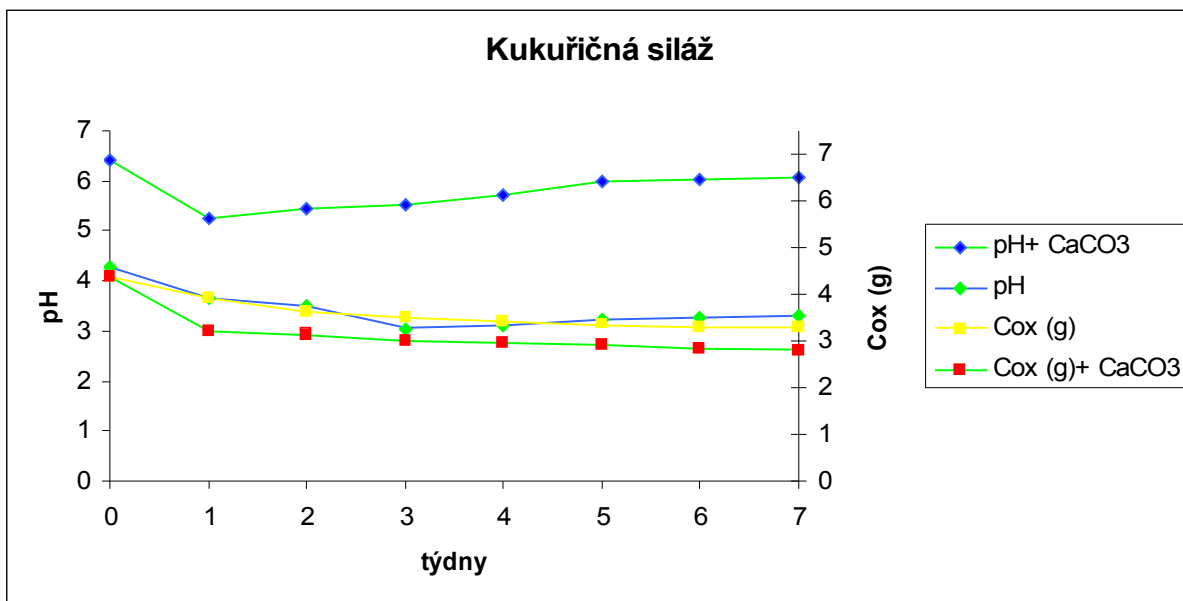
ZÁBRANSKÁ J., SCHNEIDEROVÁ K., DOHÁNYOS M. :Vztah koenzymu F420 k technologickým parametrum metanizace. Sborník semináře BIOENERGETIKA '85, Smolenice 11-14.3.,1985. s.12-14.

ZABRANSKA, J., DOHANYOS, M., JENICEK, P., RUZICKOVA, H., VRANOVA, A. :Efficiency of autothermal thermophilic aerobic digestion and thermophilic anaerobic digestion of municipal wastewater sludge in removing *Salmonella* spp. and indicator bacteria, *Water science and technology*, Vol. 47, NO. 3, 2003. pp. 151-156.

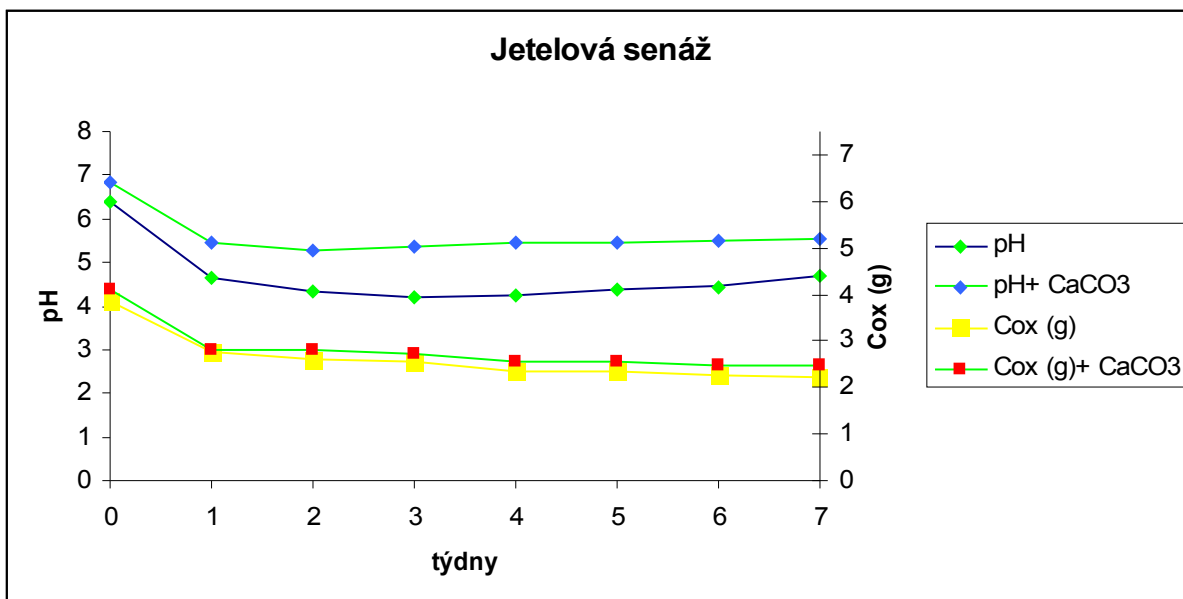
ZEEMAN, G., WIEGANT, M.W., TREFFERS, M.E. :The influence of ammonia on the thermophilic digestion of dairy cow slurry. *Proceedings AWWT*, 1983. pp.529-530.

Přílohy:

Graf.3 Kukuřičná siláž s přidáním a bez přidání CaCO_3



Graf.4 Jetelová senáž s přidáním a bez přidání CaCO_3



Tab. 16 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u pšeničné slámy.

Pšeničná sláma								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10	10,2	10,5	10,04	10,2	10,03	10,04	10,01
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
START pH	7,46	7,46	7,46	7,46	7,46	7,46	7,46	7,46
Zůstatek org. hmoty(g)	10	9,94	9,91	9,84	8,59	8,13	7,66	7,36
Zůstatek org. hmoty(%)	100	99,87	99,2	99,07	98,47	90,12	86,95	82,18
C_{ox} (%)	41,1	35,3	35,3	35,3	35,3	35,3	35,3	35,3
C_{ox} (g)	4,11	3,51	3,50	3,47	3,03	2,87	2,70	2,60
KONEC pH	7,46	5,75	5,45	5,42	5,2	4,9	4,8	4,6

Tab. 17 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u pšeničné slámy s $CaCO_3$.

Pšeničná sláma + $CaCO_3$								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10,01	10	10,01	10,04	10,03	10,04	10,06	10
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
$CaCO_3$ (g)	5,04	5	5,05	5,01	5,04	5,04	5,04	5,04
START pH	8,01	8,01	8,01	8,01	8,01	8,01	8,01	8,01
Zůstatek org. hmoty(g)	10,01	9,95	9,86	9,83	9,8	8,55	8,09	7,32
Zůstatek org. hmoty(%)	100,00	99,5	98,5	97,9	97,7	85,15	80,4	73,2
C_{ox} (%)	41,1	32	32	32	32	32	32	32
C_{ox} (g)	4,1	3,18	3,16	3,14	3,13	2,74	2,59	2,34
KONEC – pH	8,01	5,83	5,48	5,54	5,8	6,34	6,62	6,6

Tab. 18 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u řepkové slámy.

Řepková sláma								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10,03	10,03	10,02	10,00	10,06	10,04	10,03	10,04
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
STARTpH	4,82	4,82	4,82	4,82	4,82	4,82	4,82	4,82
Zůstatek org. hmoty(g)	10,03	8,44	8,34	7,64	7,09	6,56	6,26	5,96
Zůstatek org. hmoty(%)	100,00	84,14	83,22	76,39	70,46	65,37	62,40	59,36
C_{ox} (%)	38,8	38,1	38,1	38,1	38,1	38,1	38,1	38,1
C_{ox} (g)	3,89	3,22	3,18	2,91	2,70	2,50	2,39	2,27
KONEC pH	4,82	4,75	4,71	4,7	4,75	4,83	4,86	4,95

Tab. 19 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u řepkové slámy s $CaCO_3$.

Řepková sláma +$CaCO_3$								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10,02	10,05	10,08	10,06	10,08	10,05	10,02	10,1
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
$CaCO_3$ (g)	5,01	5,02	5,01	5,07	5,05	5,05	5,01	5,02
START pH	6,9	6,9	6,9	6,9	6,9	6,9	6,9	6,9
Zůstatek org. hmoty(g)	10,02	8,88	8,85	8,53	8,4	8,05	7,84	6,18
Zůstatek org. hmoty(%)	100,00	88,36	87,80	84,79	83,33	80,10	78,24	61,19
C_{ox} (%)	38,8	35	35	35	35	35	35	35
C_{ox} (g)	3,89	3,11	3,10	2,99	2,94	2,82	2,74	2,16
KONEC – pH	6,9	5,66	5,73	6,53	6,91	6,95	7,01	7,04

Tab. 20 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u ječné slámy.

Ječná sláma								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10,05	10,02	10,03	10,01	10	10	10,05	10,04
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
STARTpH	6,75	6,75	6,75	6,75	6,75	6,75	6,75	6,75
Zůstatek org. hmoty(g)	10,05	9,45	9,26	8,76	8,4	7,9	7,8	7,6
Zůstatek org. hmoty(%)	100	95,04	93,77	91,01	88,8	82,28	79,53	78,27
C_{ox} (%)	41,7	40,5	40,5	40,5	40,5	40,5	40,5	40,5
C_{ox} (g)	4,19	3,83	3,75	3,55	3,40	3,20	3,16	3,08
KONEC pH	6,75	6,02	5,98	5,78	5,69	5,2	5,1	4,84

Tab. 21 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u ječné slámy s $CaCO_3$.

Ječná sláma+ $CaCO_3$								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10,05	10,08	10,08	10,05	10,02	10,03	10,01	10,01
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
$CaCO_3$ (g)	5,03	5,05	5,02	5,07	5,07	5,04	5,04	5,04
START pH	7,12	7,12	7,12	7,12	7,12	7,12	7,12	7,12
Zůstatek org. hmoty(g)	10,05	9,24	9,05	8,60	8,25	7,29	6,86	6,67
Zůstatek org. hmoty(%)	100,00	91,63	89,77	85,60	82,30	72,65	68,54	66,66
C_{ox} (%)	41,7	38	38	38	38	38	38	38
C_{ox} (g)	4,19	3,51	3,44	3,27	3,13	2,77	2,61	2,54
KONEC – pH	7,12	6,02	6,4	6,45	6,56	6,58	6,6	6,65

Tab. 22 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u pivovarského mláta.

Pivovarské mláto								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10,00	10,01	10,02	10,01	10,01	10,00	10,01	10,00
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
STARTpH	5,96	5,96	5,96	5,96	5,96	5,96	5,96	5,96
Zůstatek org. hmoty(g)	10	8,86	8,56	7,72	7,21	6,97	6,42	6,16
Zůstatek org. hmoty(%)	100,00	88,52	85,46	77,15	72,06	69,69	64,16	61,59
C_{ox} (%)	42	36,74	36,74	36,74	36,74	36,74	36,74	36,74
C_{ox} (g)	4,90	3,26	3,14	2,84	2,65	2,56	2,36	2,26
KONEC pH	5,96	5,51	5,28	5,04	5,01	4,96	4,60	4,50

Tab. 23 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u pivovarského mláta s $CaCO_3$.

Pivovarské mláto+CaCO₃								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10,02	10,05	10,02	10,08	10,02	10,06	10,05	10,01
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
CaCO ₃ (g)	5,03	5,01	5,01	5	5,02	5	5	5,03
START pH	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
Zůstatek org. hmoty(g)	10,02	9,46	9,33	8,35	7,64	6,49	6,41	6,32
Zůstatek org. hmoty(%)	100,00	94,17	93,07	82,79	76,28	64,56	63,73	63,10
C_{ox} (%)	42	36	36	36	36	36	36	36
C_{ox} (g)	4,90	3,56	3,53	3,28	3,12	2,82	2,80	2,79
KONEC – pH	6,5	5,7	5,58	5,83	5,9	6,1	6,42	6,77

Tab. 24 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u jetelové senáže.

Jetelová senáž								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10,02	10,05	10,03	10,06	10,02	10,03	10,02	10,02
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
STARTpH	6,38	6,38	6,38	6,38	6,38	6,38	6,38	6,38
Zůstatek org. hmoty(g)	10,02	8,24	7,65	7,58	6,93	6,91	6,70	6,50
Zůstatek org. hmoty(%)	100,00	81,98	76,25	75,33	69,15	68,89	66,90	64,87
C_{ox} (%)	41,1	36,10	36,10	36,10	36,10	36,10	36,10	36,10
C_{ox} (g)	4,12	2,97	2,76	2,74	2,50	2,49	2,42	2,35
KONEC pH	6,38	4,67	4,35	4,18	4,25	4,39	4,44	4,7

Tab. 25 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u jetelové senáže s $CaCO_3$.

Jetelová senáž+$CaCO_3$								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10,02	10,08	10,01	10,09	10,02	10,04	10,14	10,08
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
$CaCO_3$ (g)	5,02	5,02	5,01	5	5,03	5,02	5,03	5,01
START pH	6,86	6,86	6,86	6,86	6,86	6,86	6,86	6,86
Zůstatek org. hmoty(g)	10,02	7,37	7,25	6,96	6,18	6,16	5,99	5,95
Zůstatek org. hmoty(%)	100,00	73,07	72,40	68,98	61,65	61,33	59,07	59,03
C_{ox} (%)	41,1	34	34	34	34	34	34	34
C_{ox} (g)	4,11	2,50	2,46	2,37	2,10	2,09	2,04	2,02
KONEC – pH	6,86	5,44	5,27	5,36	5,44	5,47	5,49	5,52

Tab. 26 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u vojtěškové senáže.

Vojtěšková senáž								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10	10,02	10,10	10,05	10,03	10,06	10,01	10,00
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
START pH	5,8	5,8	5,8	5,8	5,8	5,8	5,8	5,8
Zůstatek org. hmoty(g)	10	9,24	8,41	8,11	7,68	7,48	7,32	7,22
Zůstatek org. hmoty(%)	100,00	92,22	83,27	80,70	76,57	74,35	73,13	72,20
C_{ox} (%)	43,4	33,72	33,72	33,72	33,72	33,72	33,72	33,72
C_{ox} (g)	4,34	3,12	2,84	2,73	2,59	2,52	2,47	2,43
KONEC pH	5,8	5,6	5,3	5,25	5,2	5,1	4,92	4,75

Tab. 27 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u vojtěškové senáže s $CaCO_3$.

Vojtěšková senáž + $CaCO_3$								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10,05	10,08	10,01	10,09	10,02	10,04	10,08	10,14
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
$CaCO_3$ (g)	5,01	5,02	5,1	5	5,01	5,1	5	5,14
START pH	6,94	6,94	6,94	6,94	6,94	6,94	6,94	6,94
Zůstatek org. hmoty(g)	10,05	8,18	7,82	6,82	6,35	6,06	5,97	5,92
Zůstatek org. hmoty(%)	100,00	81,15	78,12	67,59	63,37	60,36	59,23	58,38
C_{ox} (%)	43,4	30,7	30,7	30,7	30,7	30,7	30,7	30,7
C_{ox} (g)	4,36	2,51	2,40	2,09	1,95	1,86	1,83	1,82
KONEC – pH	6,94	5,47	5,63	5,95	6,41	6,45	6,56	6,74

Tab. 28 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u kukuřičné siláže.

Kukuřičná siláž								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10,03	10,10	10,08	10,03	10,00	10,04	10,01	10,04
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
STARTpH	4,59	4,59	4,59	4,59	4,59	4,59	4,59	4,59
Zůstatek org. hmoty(g)	10,03	10,05	9,29	9	8,75	8,53	8,45	8,4
Zůstatek org. hmoty(%)	100,00	99,49	92,21	89,72	87,48	84,95	84,44	83,71
C_{ox} (%)	43,7	39,10	39,10	39,10	39,10	39,10	39,10	39,10
C_{ox} (g)	4,38	3,93	3,63	3,52	3,42	3,34	3,30	3,28
KONEC pH	4,59	3,9	3,77	3,27	3,34	3,46	3,51	3,56

Tab. 29 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u kukuřičné siláže s $CaCO_3$.

Kukuřičná siláž+ $CaCO_3$								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10,03	10,08	10,01	10,02	10,09	10,04	10,14	10,08
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
$CaCO_3$ (g)	5,01	5	5,01	5,01	5,07	5	5,03	5,02
START pH	6,42	6,42	6,42	6,42	6,42	6,42	6,42	6,42
Zůstatek org. hmoty(g)	10,03	7,86	7,41	6,95	6,73	6,59	6,44	6,14
Zůstatek org. hmoty(%)	100,00	77,98	73,98	69,36	66,72	65,67	63,46	60,89
C_{ox} (%)	43,7	35,8	35,8	35,8	35,8	35,8	35,8	35,8
C_{ox} (g)	4,37	2,81	2,65	2,49	2,41	2,36	2,30	2,20
KONEC – pH	6,42	5,26	5,45	5,53	5,7	6	6,02	6,08

Tab. 30 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u cukrovarnických řízků.

Cukrovarnické řízky								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10,01	10,01	10,04	10,46	10,07	10,02	10,02	10,03
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
STARTpH	4,68	4,68	4,68	4,68	4,68	4,68	4,68	4,68
Zůstatek org. hmoty(g)	10,01	9,01	8,24	7,35	7,22	7,07	6,78	6,58
Zůstatek org. hmoty(%)	100,0	90,0	82,1	70,3	71,7	70,5	67,6	65,6
C_{ox} (%)	40	34,30	34,30	34,30	34,30	34,30	34,30	34,30
C_{ox} (g)	4,00	3,09	2,83	2,52	2,48	2,43	2,33	2,26
KONEC pH	4,68	4,40	4,06	4,03	4,20	4,25	4,29	4,38

Tab.31 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u cukrovarnických řízků s $CaCO_3$.

Cukrovarnické řízky+ $CaCO_3$								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10,01	10	10,01	10,04	10,02	10,02	10,04	10
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
$CaCO_3$ (g)	5	5,01	5,05	5,09	5,05	5,05	5	5,02
START pH	6,15	6,15	6,15	6,15	6,15	6,15	6,15	6,15
Zůstatek org. hmoty(g)	10,01	7,13	6,89	6,00	5,10	4,57	4,27	3,87
Zůstatek org. hmoty(%)	100,00	71,30	68,83	59,76	50,90	45,61	42,53	38,70
C_{ox} (%)	40	30,2	30,2	30,2	30,2	30,2	30,2	30,2
C_{ox} (g)	4,00	2,15	2,08	1,81	1,54	1,38	1,29	1,17
KONEC – pH	6,15	5,41	5,95	5,42	5,43	6,46	6,46	6,48

Tab. 32 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u spadaného listí.

Spadané listí								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10	10	10,02	10,01	10	10,02	10,02	10,03
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
STARTpH	5,4	5,4	5,4	5,4	5,4	5,4	5,4	5,4
Zůstatek org. hmoty(g)	10	9,65	9,07	8,5	8,4	8,1	7,9	7,7
Zůstatek org. hmoty(%)	100	63,85	60,35	47,67	47,35	46,51	45,68	42,78
C_{ox} (%)	37,7	36,1	36,1	36,1	36,1	36,1	36,1	36,1
C_{ox} (g)	3,77	3,48	3,27	3,07	3,03	2,92	2,85	2,78
KONEC pH	5,4	4,7	4,5	4,2	3,9	3,8	3,75	3,71

Tab. 33 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u spadaného listí s $CaCO_3$.

Spadané listí + $CaCO_3$								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10	10,03	10,03	10,03	10	10,02	10,04	10,08
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
$CaCO_3$ (g)	5	5,02	5	5,01	5,1	5,03	5	5,02
START pH	6,08	6,08	6,08	6,08	6,08	6,08	6,08	6,08
Zůstatek org. hmoty (g)	10	4,59	4,07	2,16	2,05	1,97	1,87	1,44
Zůstatek org. hmoty(%)	100,00	45,76	40,58	21,54	20,50	19,66	18,63	14,29
C_{ox} (%)	37,70	34	34	34	34	34	34	34
C_{ox} (g)	3,77	1,56	1,38	0,73	0,70	0,67	0,64	0,49
KONEC – pH	6,08	4,6	5,6	6,4	7,04	7,23	7,35	7,49

Tab.34 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u odpadních brambor.

Odpadní brambory								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10,01	10,02	10,05	10,03	10,08	10,05	10,01	10,02
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
STARTpH	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6	6,6
Zůstatek org. hmoty(g)	10,01	6,39	6,14	5,94	5,07	4,57	4,56	4,45
Zůstatek org. hmoty(%)	100,00	63,77	61,09	59,22	50,30	45,47	45,55	44,41
C_{ox} (%)	39,4	33	33	33	33	33	33	33
C_{ox} (g)	3,94	2,11	2,03	1,96	1,67	1,51	1,50	1,47
KONEC pH	6,6	4,41	4,48	4,2	4,19	3,8	3,8	3,78

Tab. 35 Přehled průběhu úbytku org. látek, změny pH a C_{ox} u odpadních brambor s $CaCO_3$.

Odpadní brambory+$CaCO_3$								
Lahve	Slepý vzorek	První	Druhá	Třetí	Čtvrtá	Pátá	Šestá	Sedmá
Navážka(g)	10,05	10,02	10,07	10,02	10,04	10,06	10,01	10,00
Kal(ml)	80	80	80	80	80	80	80	80
$CaCO_3$ (g)	5,01	5	5,1	5	5,02	5,04	5,03	5,02
START pH	6,95	6,95	6,95	6,95	6,95	6,95	6,95	6,95
Zůstatek org. hmoty(g)	10,05	4,85	4,73	4,81	4,57	4,38	4,24	4,18
Zůstatek org. hmoty(%)	100,00	48,40	46,96	48,03	45,50	43,53	42,35	41,80
C_{ox} (%)	39,4	29,2	29,2	29,2	29,2	29,2	29,2	29,2
C_{ox} (g)	3,96	1,42	1,38	1,40	1,33	1,28	1,24	1,22
KONEC – pH	6,95	4,92	5,05	5,03	5,05	5,04	5,04	5,05

Tab. 36 Přehled nákladů na pěstování kukuřičné siláže pro rok 2007

Kukuřičná siláž			
Náklady	ukazatel	jednotka	normativ
	MATERIÁLOVÉ NÁKLADY CELKEM	Kč.ha ⁻¹	8551
	Mechanizované práce	Kč.ha ⁻¹	8074
	Spotřeba paliv	l.ha ⁻¹	89,8
	Spotřeba práce	h.ha ⁻¹	5,1
	VARIABILNÍ NÁKLADY CELKEM	Kč.ha ⁻¹	16625
	FIXNÍ NÁKLADY	Kč.ha ⁻¹	4000
	NÁKLADY CELKEM(variabilní+fixní)	Kč.ha ⁻¹	20625
Náklady na jednotku produkce	Hlavní produkt-výnos	t.ha ⁻¹	50
	NÁKLADY VARIABILNÍ- bez dotací	Kč.t ⁻¹	333
	NÁKLADY CELKEM-bez dotací	Kč.t ⁻¹	412,5
	Dotace 2007 (SAPS+TOP UP)	Kč.ha ⁻¹	4546,6
	VARIABILNÍ –včetně dotací	Kč.t ⁻¹	242
	NÁKLADY CELKEM- včetně dotací	Kč.t ⁻¹	321

Tab. 37 Přehled nákladů na pěstování vojtěškové senáže pro rok 2007

Vojtěšková senáž			
Náklady	ukazatel	jednotka	normativ
	MATERIÁLOVÉ NÁKLADY CELKEM	Kč.ha ⁻¹	2400
	Mechanizované práce	Kč.ha ⁻¹	7961
	Spotřeba paliv	l.ha ⁻¹	81,3
	Spotřeba práce	h.ha ⁻¹	6,1
	VARIABILNÍ NÁKLADY CELKEM	Kč.ha ⁻¹	10361
	FIXNÍ NÁKLADY	Kč.ha ⁻¹	4000
NÁKLADY CELKEM(variabilní+fixní)	Kč.ha ⁻¹	14361	
Náklady na jednotku produkce	Hlavní produkt-výnos (při 39% sušiny)	t.ha ⁻¹	24
	NÁKLADY VARIABILNÍ- bez dotací	Kč.t ⁻¹	431
	NÁKLADY CELKEM-bez dotací	Kč.t ⁻¹	598
	Dotace 2007 (SAPS+TOP UP)	Kč.ha ⁻¹	4546,6
	VARIABILNÍ –včetně dotací	Kč.t ⁻¹	242
	NÁKLADY CELKEM- včetně dotací	Kč.t ⁻¹	409

Tab. 38 Přehled nákladů na pěstování jetelové senáže pro rok 2007

Jetelová senáž			
Náklady	ukazatel	jednotka	normativ
	MATERIÁLOVÉ NÁKLADY CELKEM	Kč.ha ⁻¹	3560
	Mechanizované práce	Kč.ha ⁻¹	8374
	Spotřeba paliv	l.ha ⁻¹	85,4
	Spotřeba práce	h.ha ⁻¹	4,8
	VARIABILNÍ NÁKLADY CELKEM	Kč.ha ⁻¹	11934
	FIXNÍ NÁKLADY	Kč.ha ⁻¹	4000
	NÁKLADY CELKEM(variabilní+fixní)	Kč.ha ⁻¹	15935
Náklady na jednotku produkce	Hlavní produkt-výnos (při 39% sušiny)	t.ha ⁻¹	23
	NÁKLADY VARIABILNÍ- bez dotací	Kč.t ⁻¹	519
	NÁKLADY CELKEM-bez dotací	Kč.t ⁻¹	692
	Dotace 2007 (SAPS+TOP UP)	Kč.ha ⁻¹	4546,6
	VARIABILNÍ –včetně dotací	Kč.t ⁻¹	321
	NÁKLADY CELKEM- včetně dotací	Kč.t ⁻¹	495

Obr.6 Laboratorní mlýnek



Obr.7 Automatický titrátor Mettler Toledo DL 50



Obr.8 Anaerobní kvasná láhev při 49 denním testu naplněná odpadními bramborami. Obrázek ukazuje pěnivost substrátu k němuž dochází po 24hodinách v termoboxu. Pěna ucpala i fermetační zátku a tudíž nemohlo docházet k odvodu bioplynu.



Obr.9 Soxhlet



Obr.10 Anaerobní kvasné lahve v klimaboxu při probíhající 49 denním pokusu



Obr.11 Měřicí hlavice OxiTop®-C. Má vlastní tlakové čidlo fungující na piezoelektrickém principu, které kontinuálně v daném časovém intervalu měří tlakovou diferenciaci uvnitř fermentační láhve. Naměřené údaje jsou ukládány do vlastní paměti měřicí hlavice.



Obr. 12 Řídící jednotka OxiTop® OC110 .



Obr.13 Kulovitý plynojem

