

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA



DISERTAČNÍ PRÁCE

Problematika anaerobní digesce a rychlé pyrolýzy při zpracování fytomasy

Ing. Pavel Štindl

2009

Školitel: prof. Ing. Ladislav Kolář, DrSc.
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta

Rád bych poděkoval vedoucímu své disertační práce prof. Ing. Ladislavu Kolářovi, DrSc. za odborné vedení a cenné rady, které mi poskytoval v průběhu mého doktorandského studia.

Prohlašuji, že jsem disertační práci vypracoval samostatně na základě vlastních zjištění a za pomoci uvedené literatury.

A handwritten signature in blue ink, consisting of several loops and a long horizontal stroke, positioned above a horizontal dotted line.

V Českých Budějovicích dne 5.11.2009

Obsah

1. ÚVOD	1
2. TEORETICKÁ ČÁST	2
2.1. ANAEROBNÍ DIGESCE	2
2.1.1. <i>Model anaerobního procesu</i>	2
2.1.1.1. Filmové a vrstevnaté struktury anaerobních mikroorganismů	2
2.1.1.2. Hydrolyza	3
2.1.1.3. Acidogeneze	3
2.1.1.4. Acetogeneze	4
2.1.1.5. Metanogeneze	5
2.1.2. <i>Důležité faktory anaerobního procesu</i>	6
2.1.2.1. Teplota	7
2.1.2.2. pH a alkalita	8
2.1.2.3. Koncentrace nižších mastných kyselin	10
2.1.2.4. Výživné látky	11
2.1.2.5. Inhibiční látky	13
2.1.2.6. Poměr C : N	13
2.1.2.7. Optimální koncentrace acetátu	14
2.1.2.8. Vliv míchání	14
2.1.2.9. Inhibice vzdušným kyslíkem	15
2.1.2.10. Metabolismus a produkce CO ₂	16
2.1.2.11. Sulfan	16
2.1.2.12. Amoniak	17
2.1.3. <i>Problematika substrátů</i>	18
2.1.3.1. Lignocelulózové materiály	19
2.1.3.2. Celulóza	19
2.1.3.3. Hemicelulózy	20
2.1.3.4. Pektiny	21
2.1.3.5. Lignin	21
2.1.3.6. Proteiny	21
2.1.3.7. Lipidy	22
2.1.4. <i>Metody posuzující výtěžnost bioplynu</i>	22
2.1.4.1. Teoretické výpočty	22
2.1.4.2. Praktické metody	25
2.2. PROCES RYCHLÉ PYROLÝZY	28
2.2.1. <i>Fytomasa - palivo</i>	28
2.2.1.1. Obecná charakteristika	28
2.2.1.2. Obsah vody	28
2.2.1.3. Obsah popelovin	28
2.2.2. <i>Rychlá pyrolýza</i>	29
2.2.2.1. Princip procesu	29
2.2.2.2. Mechanismy procesu	29
2.2.2.3. Model procesu	30
2.2.2.4. Produkty procesu	30
2.2.3. <i>Pyrolyzní kapaliny</i>	31
2.2.3.1. Obecná charakteristika	31
2.2.3.2. Vzhled kapaliny	31
2.2.3.3. Zápach	32
2.2.3.4. Korozivita	32
2.2.3.5. Mísitelnost	33
2.2.3.6. Složení	33
2.2.3.7. Stabilita	34
2.2.3.8. Skladování	34
2.2.3.9. Toxicita	35
2.2.3.10. Využití	36
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	37
3.1. CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE	37

3.2.	VZORKY ORGANICKÉHO MATERIÁLU.....	38
3.2.1.	<i>Základní úprava vzorků a inokula</i>	38
3.2.1.1.	Mechanická dezintegrace	38
3.2.1.2.	Filtrace kanalizační vody	38
3.2.1.3.	Skladování	39
3.2.1.4.	Inokulum	39
3.3.	ZÁKLADNÍ ANALYTICKÁ STANOVENÍ.....	40
3.3.1.	<i>Stanovení celkové sušiny</i>	40
3.3.2.	<i>Stanovení organických látek – ztráta žiháním</i>	40
3.3.3.	<i>Stanovení CHSK_{Cr}</i>	40
3.3.4.	<i>Stanovení BSK₅</i>	41
3.3.5.	<i>Stanovení rychlostních konstant biochemické oxidace</i>	42
3.3.6.	<i>Stanovení C_{ox}</i>	42
3.3.7.	<i>Stanovení pH</i>	43
3.4.	LABORATORNÍ FERMENTAČNÍ TESTY	43
3.4.1.	<i>Stanovení methanogenní aktivity volumetrickými metodami</i>	43
3.4.1.2.	Uzavírací kapalina	46
3.4.1.3.	Fermentační batch test vzorku	46
3.4.1.4.	Podmínky testu	47
3.4.1.5.	Založení referenčního fermentačního batch testu.....	47
3.4.2.	<i>Práce s prototypem laboratorního fermentoru FAFE A01</i>	48
3.4.3.	<i>Stanovení methanogenní aktivity vzorku systémem OxiTop</i>	49
3.5.	VÝSLEDKY A JEJICH DISKUZE	52
3.5.1.	<i>Problematika zakládání vsádkových testů</i>	52
3.5.1.1.	Kvalita inokula	52
3.5.2.	<i>Organické zatížení vsádkového testu</i>	59
3.5.2.1.	Provozní zkušenosti - pěnovost.....	59
3.5.3.	<i>Posouzení organického materiálu</i>	60
3.5.4.	<i>Délka prováděných testů</i>	61
3.5.5.	<i>Studium problematiky manometrických metod</i>	61
3.5.5.1.	Faktory ovlivňující přesnost získaných výsledků	62
3.5.6.	<i>Studium problematiky volumetrických metod</i>	63
3.5.6.1.	Faktory ovlivňující přesnost získaných výsledků	64
3.5.6.2.	Vybraná měření fermentačních testů	64
3.5.7.	<i>Studium problematiky modelu laboratorního fermentoru</i>	67
3.5.7.1.	Faktory ovlivňující přesnost získaných výsledků	68
3.5.7.2.	Porovnání výsledků z laboratorních analýz s praxí.....	68
3.5.8.	<i>Bilance použitých metod</i>	70
3.5.9.	<i>Provozní zkušenosti – problematika produkce bioplynu</i>	71
3.5.9.1.	Kvalita produkovaného bioplynu u sledovaných zařízení BPS.....	73
3.5.10.	<i>Teplotní optimum</i>	75
3.6.	CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÝCH BPS.....	79
3.6.1.	<i>Popis sledovaných provozů</i>	79
3.6.2.	<i>Technologické řešení</i>	79
3.6.3.	<i>Provozní charakteristiky</i>	80
3.6.4.	<i>Závěrečná charakteristika</i>	92
3.7.	STUDIUM PROBLEMATIKY PROCESU RYCHLÉ PYROLÝZY.....	92
4.	ZÁVĚR	96
5.	SEZNAM LITERATURY	
6.	PŘÍLOHY	
7.	PUBLIKACE ZPRACOVANÉ V PRŮBĚHU PRÁCE	

Seznam zkratek

BSK	biochemická spotřeba kyslíku
BSK ₅	biochemická spotřeba kyslíku za 5 denní inkubaci
HRT	hydraulická doba zdržení (hydraulic retention time)
CHSK _{Cr}	chemická spotřeba kyslíku, chromanová metoda
K _{celk}	celkový draslík
N _{celk}	celkový dusík
NH ₄ -N	amoniakální dusík
OLR	organické látkové zatížení (organic loading rate)
P _{celk}	celkový fosfor
POXČ	průměrné oxidační číslo uhlíkového atomu
ppm	částice v milionu (parts per milion)
VL	veškeré látky (sušina)
VL _{zž}	organický podíl veškerých látek (ztráta žiháním)
Zž	ztráta žiháním
BP	bioplyn
BPS	bioplynová stanice
KVET	kogenerační jednotka
SRT	látková doba zdržení (solids retention time)
HRT	hydraulická doba zdržení (hydraulic retention time)
TG	termogravimetrická analýza
DTA	diferenční termická analýza
FTIR	infračervená spektroskopická analýza využívající Fourierovou transformaci

Seznam tabulek

TABULKA 1: ZÁKLADNÍ REAKCE V ACETOGENNÍ FÁZI	4
TABULKA 2: SROVNÁNÍ CHARAKTERISTIK PROSTŘEDÍ FÁZÍ ANAEROBNÍHO PROCESU	6
TABULKA 3: GENERAČNÍ DOBY ANAEROBNÍCH MIKROORGANISMŮ	6
TABULKA 4: SPECIFICKÉ POŽADAVKY NA ŽIVINY (SPEECE, 1996)	12
TABULKA 5: KONCENTRACE NĚKTERÝCH INHIBUJÍCÍCH LÁTEK (GERARDI, 2003; SPEECE, 1996)	13
TABULKA 6: PŘEPOČTOVÉ KOEFICIENTY MEZI CHSK A CH ₄	23
TABULKA 7: VYBRANÉ CHARAKTERISTIKY BIOOLEJŮ (OASMAA ET PEACOCKE, 2001)	31
TABULKA 8: ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKY INOKULAČNÍCH MEDIÍ V PRAXI	54
TABULKA 9: ZÁKLADNÍ PARAMETRY PROVOZŮ	80

Seznam obrázků

OBRÁZEK 1: DIAGRAM ACIDOBÁZICKÉ ROVNOVÁHY PRO SYSTÉM NH ₄ ⁺ - NH ₃ (STRAKA ET AL., 2006)	18
OBRÁZEK 2: VOLUMETRICKÁ APARATURA (HEERENKLAGE ET STEGMANN, 2005)	25
OBRÁZEK 3: MANOMETRICKÉ APARATURY – ZAŘÍZENÍ OXITOP (HEERENKLAGE ET STEGMANN, 2005) ..	27
OBRÁZEK 4: STANDARDIZOVANÁ VOLUMETRICKÁ APARATURA.....	44
OBRÁZEK 5: VOLUMETRICKÁ APARATURA VZOR ENKI 2007	45
OBRÁZEK 6: ZAPOJENÍ 2. VOLUMETRICKÉ APARATURY (HOLM-NIELSEN ET AL., 2006).....	46
OBRÁZEK 7: LABORATORNÍ MODEL FERMENTORU VZOR FAFE A01	49

Seznam grafů

GRAF 1: VLIV KVALITY INOKULA NA PRŮBĚH TESTU.....	53
GRAF 2: POČÁTEČNÍ NÁHŘEV FERMENTORU BPS-B	55
GRAF 3: CHARAKTERISTIKY NMK A PH V PRŮBĚHU FERMENTACE BPS-A	56
GRAF 4: CHARAKTERISTIKY NMK A PH V PRŮBĚHU FERMENTACE BPS-B.....	57
GRAF 5: CHARAKTERISTIKY NMK A PH V PRŮBĚHU FERMENTACE BPS-C.....	57
GRAF 6: CHARAKTERISTIKY NMK A PH V PRŮBĚHU FERMENTACE BPS-D	58
GRAF 7: TEST METHANOGENNÍ AKTIVITY (KS0A1 - OXC6N4)	63
GRAF 8: INTENZITA DENNÍ PRODUKCE BIOPLYNU (KOFERMENTACE ST0A1, KS0A2).....	65
GRAF 9: SPECIFICKÁ PRODUKCE (KOFERMENTACE ST0A1, KS0A2)	66
GRAF 10: INTENZITA DENNÍ PRODUKCE BIOPLYNU (KOFERMENTACE HK0A2, KS0A2, TH0A1)	66
GRAF 11: SPECIFICKÁ PRODUKCE (KOFERMENTACE HK0A2, KS0A2, TH0A1)	67
GRAF 12: VÝSLEDKY MĚŘENÍ VÝTĚŽNOSTI BIOPLYNU	69
GRAF 13: POROVNÁNÍ SKUTEČNÉ A PŘEDPOLÁDANÉ SPOTŘEBY SUBSTRÁTŮ (BPS D).....	71
GRAF 14: GRAF KVALITA PLYNU V PRŮBEHU PROCESU.....	74
GRAF 15: KVALITA PLYNU U PROVOZU BPS-A - RŮZNÉ ČASOVÉ HORIZONTY.....	75
GRAF 16: TEPLTNÍ CHARAKTERISTIKA PROVOZU BPS-D.....	76
GRAF 17: OVLIVNĚNÍ PROVOZU BPS-A CHYBOU TEPLTNÍHO ČIDLA	78
GRAF 18: HRUBÁ MĚSÍČNÍ PRODUKCE ELEKTRICKÉ ENERGIE KVET.....	81
GRAF 19: EFEKTIVNÍ VYTÍŽENÍ KVET VÝROBOU ELETRICKÉ ENERGIE	84
GRAF 20: CELKOVÁ SPOTŘEBA SUŠINY SUBSTRÁTŮ NA KWH ELEKTRICKÉ ENERGIE.....	88
GRAF 21: SPOTŘEBA SUBSTRÁTŮ NA 1 KWH ELEKTRICKÉ ENERGIE (TONÁŽ, SUŠINA).....	89

Summary

This dissertation thesis has two main study areas: anaerobic digestion and fast pyrolysis.

The sphere of anaerobic digestion is firstly treated theoretically: the process is described in detail and the factors influencing the process are mentioned there.

In the next part the process is taken practically from the point of view of laboratory method verification serving for evaluation of the organic material biodegradability. Practical part is then completed with the descriptions of the used and also designed devices for organic material sample analysis. Project and realization of the fermentor prototype and methods for the needs of the started research are also incorporated in the work. Data and experience from several biogas plants observed during the work are also integrated in this part. They are worked in the graphs and tables. In the final of the practical part the collected data and methods are compared mutually and evaluated.

The other main theme of the work is fast pyrolysis. Process is treated from the point of view of its thermic properties and principal factors influencing the process. Its basic aspects are well described theoretically. From the practical point of view the research was focused on the thermic properties of the plant material.

In the end of the work all the methods for the biodegradability determination are qualified with respect to the obtained laboratory and practical findings.

1. ÚVOD

V současné době je energetické využití fytomasy velice aktuálním tématem. Fytomasa odpadní či již cíleně pěstovaná se stává jedním z důležitých zdrojů obnovitelné energie, jehož význam stále narůstá. Jedním z procesů využívající fytomasu jako energetickou surovinu k přeměně na využitelné palivo je proces anaerobní digesce. V běžném provozu však není plně dosahováno ideálního průběhu procesu, dochází k nižšímu než 100% využití zpracovávaného materiálu. Při zajištění všech optimálních podmínek procesu se pak hlavními kritérii ovlivňujícími efektivitu procesu stávají vlastnosti zpracovávaných organických materiálů. Opomíjení této problematiky tak může v běžné praxi vést k nedostatečnému využití fytomasy či k nadbytečné produkci odpadní biomasy. Nutná likvidace tohoto materiálu ovlivňuje ekonomiku provozu, a to zejména u nezemědělských bioplynových zařízení. Nejsnadněji totiž bývá tento zbytkový materiál likvidován aplikací na ornou půdu. Další možné cesty jsou aplikace jako suroviny pro průmyslový kompost, separace pro získání steliva či sušení a lisování do briket nebo pelet pro energetické využití spalováním.

Technologie rychlé pyrolýzy biomasy se může jevit jako mnohem perspektivnější. Odpadá jen 10% nezreagované hmoty. V současné době největší nevýhodou pyrolyzních technologií je jejich špatná ekonomika provozu. Endotermická reakce, která trvá jen vteřiny, vyžaduje vyhrát celé pyrolyzní zařízení na vysokou teplotu, materiál biomasy musí být předem vysušen (maximálně 15% obsahu vody) a jemně rozemlet, je třeba také obnovovat katalyzátory či filtry. Problematické bývá využití samotného produktu pyrolytického procesu, pyrolyzní kapalina v surovém stavu obsahuje obvykle problematické množství příměsí, což značně omezuje vlastní využití tohoto produktu např. ve spalovacích motorech. Také samotné vlastnosti pyrolyzní kapaliny, jako jsou její nestabilita, vysoká kyselost či různorodost mnoha obsažených organických sloučenin, které mají často karcinogenní charakter, znevýhodňují prosazení samotné technologie.

Cílem předkládané disertační práce je hlouběji teoreticky nahlédnout do problematiky anaerobní digesce a rychlé pyrolýzy a uvážit praktické možnosti tohoto procesu.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Anaerobní digesce

Anaerobní digesce je komplexní biochemický proces odehrávající se v několika fázích uskutečňovaný několika typy mikroorganismů za absence vzdušného kyslíku. Methan a oxid uhličitý jsou konečné hlavní fermentační produkty organických sloučenin v anaerobních prostředích (Baresi et al., 1978).

Jedná se o přirozený proces, který probíhá v přírodě za určitých podmínek samovolně (Garcia et al., 2000). Organické odpady mohou být využity touto cestou k získání obnovitelné energie, organického hnojiva (Lettinga et al., 2004; Lema et al., 2001; Edelman et al., 2000b).

2.1.1. Model anaerobního procesu

Anaerobní digesce se skládá z několika nezávislých, komplexních, sekvenčních a paralelních biochemických reakcí, během nichž produkty z jedné skupiny mikroorganismů slouží jako substrát pro další. Výsledkem transformace organické hmoty je směs methanu a oxidu uhličitého. Proces anaerobní digesce je rozdělován do čtyř fází: hydrolýza, acidogeneze, acetogeneze a methanogeneze (Gujer et Zehnder, 1983). V přirozeném průběhu procesu je důležité, že procesy biochemické konverze jsou navzájem provázané, a tak nedochází k akumulaci přechodných produktů v systému (Kaseng et al., 1992). Proces probíhá za striktně anaerobních podmínek, hlavními činiteli procesu jsou mikroorganismy dvou biologických říší, a to *Bacteria* a *Archaea* (Veeken et Hamelers, 2000; Dugba et Zahng, 1999).

Je třeba konstatovat, že biochemické a mikrobiologické procesy anaerobní digesce organických substrátů nejsou ještě zcela pochopeny (Lettiga et al., 1991; Van Lier et al., 2001).

2.1.1.1. Filmové a vrstevnaté struktury anaerobních mikroorganismů

Většina methanogenů jsou striktními anaeroby, koncentrace kyslíku nižší než 0,001 % obj. jsou pro ně již často toxické. Navzdory jejich velké citlivosti vůči kyslíku se jedná o nespořolující mikroorganismy. Těsná symbioza methanogenů s dalším mikroorganismy (např. hydrolytické, acidogenní bakterie) umožňují vznik vícevrstevných biofilmových struktur. Vrstevnaté struktury

umožňují methanogenům přežít v chráněné vrstvě kooperujících bakterií. Tyto struktury jsou formovány do lineárních povlaků, které jsou přisedlé na stěnách nádrží či plochách tuhého nosiče nebo do struktur granulých o rozměrech 0,1 až 8 mm (Straka et al., 2006).

2.1.1.2. Hydrolýza

V první fázi, hydrolýze, dochází k depolymerizaci organické hmoty, makromolekulární látky - polysacharidy, proteiny a lipidy jsou štěpeny na monomery působením extracelulárních hydrolytických enzymů (zejména celulázou, amylázou, proteázou a lipázou) produkovaných hydrolytickými bakteriemi. Hydrolázy se vyskytují volně nebo se nacházejí na buněčném povrchu (buněčné stěně) – endohydrolázy nebo exohydrolázy (Eastmann et al., 1981; Kaseng et al., 1992). Většina studií uvádí větší aktivitu volných hydroláz oproti vázaným na buněčnou stěnu.

Hydrolytické mikroorganismy obsahují skupiny 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. Produkci proteázy vytváří zejména kmeny *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium* a *Selenomonas* (Mcinerney et al, 1988).

Obecně dochází k rozkladu polysacharidů na jednoduché cukry (monomerní nebo dimerní). Celulóza je štěpena na jednotky glukózy, hemicelulózy jsou rozkládány pomocí specifických enzymů na různé monosacharidy, především na glukózu, arabinózu, galaktózu, xylózu, manózu (Elefsiniotis et al., 1994A). Lipidy jsou hydrolyzovány lipázami a fosfolipázami do víceuhlíkatých i jednoduchých mastných kyselin, případně glycerolu. Lipázy postupně katalyzují hydrolýzu esterických vazeb mastných kyselin v triglyceridech za vzniku mastných kyselin a glycerolu (Pavlostathis et al., 1991).

2.1.1.3. Acidogeneze

Ve fázi acidogeneze jsou produkty hydrolýzy využity pro produkci nižších organických kyselin, jednoduchých organických látek - alkoholů, oxidu uhličitého a vodíku (Kalyuzhnyi et al., 2000; Gujer et al., 1983). Tyto jednoduché organické látky mohou být již přímo využity methanogenními bakteriemi za ustáleného stádia procesu (Mosey et al., 1989).

Mosey a Fernandes uvádějí fázi acidogeneze jako obvykle nejrychlejší reakci anaerobní transformace organické hmoty v kapalné fázi (Schink, 1997).

Aminokyseliny zde mohou sloužit jako zdroj energie a uhlíku pro striktní nebo fakultativní anaerobní bakterie. 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; Elefsiniotis et al., 1994B). Při zvýšené koncentraci vodíku v prostředí produkují acidogenní bakterie zejména ethanol, kyselinu mléčnou, propionovou a vyšší mastné kyseliny (Schink et al., 1997). Hwang (2001) uvádí důležitost poměru a koncentrace mastných kyselin (máselná a octová) produkovaných v této fázi k jejich následnému využití jako hlavních prekurzorů pro tvorbu methanu.

2.1.1.4. Acetogeneze

Acetogenní bakterie v této fázi rozkládají zbývající uhlíkaté látky (vyšší než kyselinu octovou) na acetát, formiát, oxid uhličitý a vodík. Vyznačují se velmi pomalým růstem, jsou citlivé na organické zatížení procesu, na změny prostředí, jejich dlouhý generační interval způsobuje obtíže při přizpůsobení na nové podmínky prostředí (Xing et al., 1997). Zvýšený parciální tlak vodíku inhibuje jejich činnost, z tohoto důvodu je pro ně důležitá syntrofní spolupráce s methanogeny, které vodík redukují (McCarthy, 1982; Fox et Pohland, 1994; Salminen et al., 2000; Sekiguchi et al., 2001).

Zinder (1993) uvádí pro degradaci kyseliny valerové a máselné acetotrofní kmen *Syntrophomonas wolfeii*, kyseliny propionové acetotrofní kmen *Syntrophobacter wolinii* a homoacetogenní kmeny, které jsou zodpovědné za přeměnu zbývajících produktů acidogeneze na kyselinu octovou, vodík a oxid uhličitý.

Tabulka 1: Základní reakce v acetogenní 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
$\text{CH}_3\text{CHOHCOOH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + \text{CO}_2 + 2\text{H}_2 + \text{H}_2\text{O}$	-4,2
* Fox a Pohland, 1994; Sekiguchi et al., 2001; Garcia et al., 2000	

2.1.1.5. Metanogeneze

Methanogenní bakterie využívají pro tvorbu methanu H_2/CO_2 nebo kyseliny octové bakterie rodu *Methanosarcina barkeri* a *Methanosaeta soehngenii* (Wiegant a Lettinga, 1985; Anderson et al., 1994A), v omezené míře mohou využít také ostatní organické látky, jako jsou methanol, methylaminy, formiát. (Kalyuzhnyi et al., 2000; Hwang et al., 2001). Kyselina octová je nejdůležitější přímý substrát metanogeneze a její využití může být až 65 – 96% veškeré produkce methanu z anaerobního rozkladu organických sloučenin (Weber et al., 1984; Archer, 1983; Lalman, et Bagley, 2001; Solera et al., 2002; Zinder, 1984).

Přibližně dvě třetiny methanu jsou tvořeny z methylové skupiny acetátu, zatímco jedna třetina je produkována z redukce oxidu uhličitého s elektrony pocházejícími z oxidace vodíku nebo formiátu. Methan je produkován z acetátu prostřednictvím fermentace, ve které je molekula acetátu rozštěpena a methylová skupina je redukována na methan s elektrony pocházejícími z oxidace karbonylové skupiny na oxid uhličitý (Ferry, 1992).



Anaerobní bakterie produkující kyselinu octovou jsou *Acetobacterium woodii*, *Butyribacterium methylotrophicum*, *Clostridium thermoaceticum*, *Eubacterium limosum*, *Peptostreptococcus productus*, *Rhodospirillum rubrum* a *Rhodospirillum rubrum*.

Pro srovnání stechiometrické vyjádření ($4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$) ukazuje biochemickou cestu pro přeměnu vodíku a oxidu uhličitého na methan. V tomto procesu je oxid uhličitý nejprve redukován koenzymem M ve stádiu, které vyžaduje 4 elektrony pocházející z vodíku. Druhý enzym známý jako F_{420} umožňuje tvorbu methyl koenzymu M a v posledním kroku je methylová skupina uvolňována jako methan methylreduktázou (Drake, 1994).

Methanogeny jsou zařazovány do skupiny archebakterií (*Archea*), tato skupina se fylogeneticky odlišuje od hlavní skupiny prokaryotických mikroorganismů. Ačkoliv mají prokaryotickou buněčnou stavbu a uspořádání, jsou blíže eukaryotům (Garcia et al., 2000; Zinder, 1993). Patří mezi obligátní anaerobní mikroorganismy, které jsou velmi citlivé na výskyt vzdušného kyslíku (Rozzi a DiPinto, 1994). Vodík využívající methanogeny se uvádějí jako více odolné vůči změnám prostředí než druhy využívající kyselinu octovou. Tato skutečnost může být zásadní

pro stabilitu celého procesu, například v případně fermentace snadno hydrolyzovatelného substrátu, jak uvádí Archer (1983).

Methanosaeta sp. a *Methanosarcina sp.* jsou zřetelně odlišné svými fyzikálními vlastnostmi. Buňky *Methanosaeta* jsou často tvaru tyčinek velikosti 1-2 μm a přibližně 0,5 μm v průměru, mohou se spojovat do řetězců, které se příležitostně mohou oddělovat (Colvin et al., 1979). *Methanosarcina sp.* existuje jako gram-negativní sarcina tvořící velké svazky kokoidních buněk. Tyto buňky jsou ve svém tvaru obvykle kulovité, mající 2 až 3 μm v průměru (Brummeler et al., 1985).

Tabulka 2: Srovnání charakteristik prostředí fází anaerobního procesu

Podmínky prostředí	Hydrolyzní fáze	Methanogenní fáze
teplota	25 - 35°C	mezofilní 35 - 42°C termofilní 50 - 58°C
pH	5,2 - 6,3	6,7 - 7,5
C:N	10 až 45 : 1	20 až 35 : 1
C:N:P:S	500: 15:5:3	600:15:5:3
generační doba organismů	24 - 36 hodin	10 - 15 dnů

Tabulka 3: Generační doby anaerobních mikroorganismů

Acidogenní mikroorganismy	
<i>Bakteria</i>	< 24h
<i>Clostridia</i>	24 - 36h
Acetogenní mikroorganismy	
80-90h	
Methanogenní bakterie	
<i>Methanosarcina bakteri</i>	120 -360h
<i>Methanococcus</i>	240h

Citlivost anaerobů na změny prostředí je také způsobena jejich pomalým růstem. Zejména generační doba rodu *Methanosarcina sp.* odpovídá 2-12 dnům, jejich přírůstek je pouze 1,4g sušiny na mol acetátu (0,024g/g). *Methanosarcinia sp.* roste již mnohem rychleji, generační doba je asi 1 den, má vyšší přírůstky - 2 g sušiny na mol acetátu (0,034g/g) (Jetten et al., 1992; Lafitte-Trouqué et Forster, 2000; Zinder, 1984).

2.1.2. Důležité faktory anaerobního procesu

Pro efektivní využití procesu anaerobní digesce v bioplynových technologiích je velice důležité sledovat stěžejní parametry procesu (teplotní optimum, pH a pufrací kapacitu, dobu zdržení,

vyváženost nutričních hodnot, výskyt inhibičních látek) (Björnsson et al., 2000; Demirel a Yenigun, 2002, Rajeshwari et al., 2000).

Organické kyseliny, pH a alkalita jsou spojené parametry radikálně ovlivňující proces anaerobní digesce (McCarty, 1964). Za podmínek přetížení a přítomnosti inhibitorů nemůže methanogenní aktivita odbourávat vodík a organické kyseliny tak rychle, jak jsou tvořeny. Výsledkem je poté hromadění organických kyselin, vyčerpání pufrační kapacity a pokles pH. Jestliže nedochází ke kontrolám pH a její případné úpravy i korekce plnění materiálem – organického zatížení, pH následně klesá na úroveň zastavující fermentaci. Nezávisle na pH prostředí extrémně vysoké hodnoty prchavých mastných kyselin inhibují proces. Užitečným parametrem vypovídajícím o procesu je poměr prchavých mastných kyselin ke kyselině octové (Hill et al., 1987) a koncentrace iso kyselin (Hill et Holmberg, 1988).

2.1.2.1. Teplota

Anaerobní proces je velmi ovlivněn teplotou. Visser et al. (1998) uvádí zvýšení aktivity mikroorganismů o jednu polovinu při teplotní změně 10°C. Teplotní optima pro jednotlivá společenstva anaerobů obecně uvádí literatura následující: psychofilní (0-20°C), mezofilní (20-42°C) a termofilní (42-75°C). Ovlivněné teplotou jsou nejvíce společenstva acetogenních a methanogenních mikroorganismů, které mají své teplotní optimum v malém rozmezí.

Methanogenní bakterie využívající kyselinu octovou jsou primárně mezofilními bakteriemi. Většina zástupců rodu *Methanosaeta* jsou mezofilní a mají své tepelné optimum pro produkci methanu 35 - 40°C. Velmi malá produkce methanu je při inkubaci za 10°C, za teploty nad 45°C nebyl u této skupiny zaznamenán žádný růst a produkce methanu. Patel (1984) zjistil po 4 týdnech inkubace při této teplotě skutečnost, že bakterie již nepřežívají.

Methanosarcina sp. má podobné teplotní optimum pohybující se od 35 do 37°C (Yang a Okos, 1987). Van den Berg (1976) popisuje situaci, kdy bylo určeno optimální teplotní rozmezí 40-45°C pro obohacené kultury methanogenních bakterií, a dodává, že tato kultura přestává methan tvořit v 50-55°C.

Termofilní methanogenní bakterie jsou zastoupeny především druhem *Methanobacterium thermoautotrophicum*, *Methanosaeta thermoacetophila* a také určitými specifickými druhy *Methanosarcina TM-1* (Jetten et al., 1992). Druh *Methanosarcina TM-1* by izolován na

anaerobním kalu z termofilní digesce za teploty 55°C (Murray et al., 1985). *Methanobacterium thermoautotrophicum* je nejznámějším termofilním methanogenem využívající pro svůj růst vodík a oxid uhličitý. Jak uvádí Uemera a Harada (1995 a,b), je optimální teplotou pro tento druh rozmezí 65-70°C.

Mezofilní procesy se oproti termofilním procesům v běžné praxi vyznačují delší dobou zdržení a nižší efektivností v likvidaci případných patogenních mikroorganismů. Termofilní procesy mají větší aktivitu na jednotku substrátu a větší produkci plynu za jednotku času (Archer, 1983; Song et al., 2004; Dugba et Zhang, 1999; Rintala et Lepisto, 1997; Zábranská et. al., 2003).

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 (van Lier et al. 2001; Wiegant et al., 1985; Schraa et Jewell, 1984; Fang et Wai-Chung, 1999). 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 (van Lier et al., 1996).

2.1.2.2. pH a alkalita

Jedním z nejdůležitějších faktorů prostředí, který je přímo spojen s optimalizací methanogenní produkce, je systém pH (Bhadra et al., 1984; Brummeler et al., 1985; Mawson et al., 1991; Speece, 1996).

Hodnota pH má přímý vliv na enzymatickou rovnováhu v mikroorganismu, protože každý enzym je aktivní pouze ve specifickém rozmezí pH a má tudíž svou maximální aktivitu danou optimem pH. Vědecké práce zabývající se anaerobní fermentací glukózy, ukázaly skutečnost, že za pH 5-7 byly hlavními produkty kyselina octová a máselná, zatímco za pH 8 to byly zejména kyselina octová a propionová (Horiuchi et al., 2003).

V odborné literatuře není sjednocen názor na optimální hodnoty pH, které jsou vyžadovány methanogeny, většina vědeckých studií však uvádí optimální pH pro methan produkující mikroorganismy v rozmezí 6,6 – 8 pH (El-Fadel et al., 1996; White et al., 2003, Nielsen, 2006),

pro mikroorganismy hydrolyzy a acidogenní fáze optimum pH nižší – okolo pH 6 (Moosbrugger et al., 1993; Zoetmeyer et al., 1982). Clark a Speece (1971) modelovali snížení biologické aktivity v kyselém a zásaditém prostředí a dospěli k limitním hodnotám pH (pH 4,5; pH 9,5), při kterých se proces již zastavil. Mosey a Fernandes (1989) zjistili značné omezení růstu methanogenů pod pH 6,6.

Více citlivé jsou na nižší pH methanogenní mikroorganismy využívající acetát než hydrogenotrofní methanogenní společenstva (Brummeler, 1993). Větší citlivost zmíněné skupiny mikroorganismů může být způsobená, jak uvádějí Demirel a Yenigun (2002), výsledkem zhoršení energetického zisku z metabolických reakcí. Výkyvy hodnot pH od 6 do 8 obvykle ukazují ovlivnění dominantních mikrobiálních populací v acidogenní fázi (Elefsiniotis et Oldham, 1994).

Huser (1982) uvádí pro *Methanosaeta sp.* optimální hodnotu pH v rozmezí 7,4 - 7,8, zatímco Brummeler (1985) udává optimální hodnotu pH pro stejný druh 7,8 pH s konstatováním, že pod hodnotou pH 6,8 není již bakterie činná. *Methanosarcina sp.* roste v mnohem širším rozmezí pH – 6,0 – 8,0, s optimem kolem pH 7 (Yang a Okos, 1987). Brummeler (1985) však konstatuje, že k růstu může docházet i při nižších hodnotách pH až pH 5. V praxi se anaerobní digesce běžně provozuje v rozmezí pH 6 až 7 a byly zaznamenány významné problémy s poklesem produkce methanu za hodnot pH nižších než 6 (Brummeler et al., 1985; Azbar et al., 2000).

V současném vědeckém bádání se objevují pokusy izolovat a kultivovat methanogeny, které mohou produkovat methan za nižších hodnot než pH 7 (Williams a Crawford, 1985). Zejména druh *Methanosarcina sp.* se jeví v tomto ohledu jako slibný, který by mohl růst i za nízkých hodnot pH (pH 5) (Maestrojuán et al., 1990).

V jednostupňových bioplynových zařízeních se pH hodnota udržuje v podmínkách optimálních pro růst methanogenních bakterií, tím je zajištěna jejich početní převaha v systému, preventivně je tak i zabráněno riziku negativního nahromadění organických mastných kyselin. Acidogeneze může probíhat i v pH blížící se hodnotám kolem pH neutrality. Účinná methanogeneze probíhající v zaběhlém fermentoru by neměla vyžadovat kontrolu pH, ale v případech, jako je zapracování procesu, navážení substrátů, jejich změna atd., je nutná

kontrola pH. Hodnoty pH mohou být použity jako indikátor procesu v případě zpracovávaného odpadu s nízkou pufrací kapacitou, jako je odpad bohatý na sacharidy.

Schopnost methanogenů růst za nižších hodnot pH je závislá na druhu substrátu, který jsou schopni katabolizovat. *Methanosarcina sp.* preferuje kyselé prostředí při růstu na vodíku a oxidu uhličitém, spíše než na kyselině octové, při růstu na acetátovém substrátu v acidickém prostředí byl růst výrazně pomalejší (Maestrojuan et al., 1990).

Callander a Barford (1983) poukazují na důležitost chemické pufrací kapacity reakčního substrátu z důvodu neutralizace případně nahromaděných mastných kyselin. Hlavními pufracími látkami v procesu jsou zejména hydrogenuhličitan (HCO_3^-), s pKa odpovídající 6,3, zatímco produkované mastné kyseliny mají nižší pKa přibližně 4,8 (Moosbrugger et al., 1993). Ostatní sloučeniny (amoniak, sulfan, fosforečnany atd.) běžně se vyskytující v procesu ovlivňují rovnováhu pH, pokud jsou přítomné ve vysokých koncentracích (Jenkins et al., 1991; Moosbrugger et al., 1993).

Substráty jako je kejda či chlévská mrva se vyznačují vysokou uhličitánovou pufrací kapacitou a vyšším obsahem amoniaku, které způsobují jejich stabilní pH v hodnotách 7,5 – 8 (Pind et al., 2003).

2.1.2.3. Koncentrace nižších mastných kyselin

Nižší mastné kyseliny jsou hlavními meziprodukty v anaerobní digesci, které se hromadí za procesní nerovnováhy. Za nižšího pH se tyto mastné kyseliny stávají toxicitějšími zejména z důvodu vzrůstajícího podílu své nedisociované formy. Toxicita těchto nedisociovaných mastných kyselin je způsobena jejich vlastností snadno prostupovat buněčnou membránou a poté disociovat, což snižuje vnitřní pH a narušuje homeostázu buňky (Switzenbaum et al., 1990). Práh koncentrace pro inhibici mastnými kyselinami závisí na pufrací kapacitě fermentoru (potažmo procesní suspenze).

Proto koncentrace nižších mastných kyselin patří k hlavním monitorovacím parametrům anaerobního 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 v praxi.

Sledovanými kyselinami jsou kyselina octová, propionová a máselná indikující metabolickou aktivitu dvou nejcitlivějších skupin mikroorganismů, a to vodík produkujících acetogenů a acetotrofních methanogenů (Powell et Archer, 1989).

Koncentrace kyseliny octové vyšší než 780 mg/l již indikuje určitou nestabilitu procesu, jak uvádí Björnsson et al., (1997). Jako 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 (C₄ až C₆) či jejich iso-formy (Straka et al., 2006). Mezní hodnotu pro obsah volných mastných kyselin (kyselina octová, propionová, máselná) uvádí Weiland (2005) již koncentraci 2000 mg/l při pH 7. Porušení stability procesu je možné při koncentraci kyseliny propionové vyšší než 300 mg/l (Wellinger et al., 1991) a při koncentraci kyseliny iso-máselné vyšší než 50mg/l.

V běžné praxi se však v bioplynových stanicích vyskytují daleko vyšší koncentrace, a to za stabilního provozu (produkce bioplynu). Kaltschmitt a Hartmann (2001) vysvětlují neinhibici procesu vyššími obsahy NMK určitou adaptabilitou bakterií. Také jiní autoři zmiňují možnost značné adaptability bakterií při pozvolném zvyšování koncentrace NMK (Schulz et Eder, 2006).

Hopfner a Sixt (2006) se ve své práci zabývali monitoringem 34 provozů bioplynových stanic, ve kterých stanovovali koncentrace NMK. Jejich práce potvrdila velmi značnou variabilitu koncentrací NMK v jednotlivých provozech. Ve fermentačních stupních různých provozů byl zjištěn průměrný obsah kyseliny octové v hodnotě 672 mg/l, minimální obsah 32 mg/l a maximální obsah 3628 mg/l. U kyseliny propionové zjistili koncentrace v rozpětí 10 – 7000 mg/l, průměrná koncentrace byla 650 mg/l.

Jak je zde již jmenováno, mohou se mikroorganismy přizpůsobit určitým látkovým koncentracím, proto je koncentrace, od které jsou bakterie poškozeny nebo potlačeny, jen těžko určitelná a závislá na několika faktorech (Hopfner et Sixt, 2006).

2.1.2.4. Výživné látky

Všechny živé organismy potřebují pro svůj život nezbytné živiny, makroživiny a stopové prvky a nedostatek těchto živin negativně ovlivňuje jejich růst (Jarrel et Kalmokoff, 1988). Výzkum vlivů mikroživin na anaerobní digesci je v současné době perspektivní téma výzkumu (Gonzalez-Gil

et al., 1999; Lettinga et al., 2001). Živiny N, P a stopové prvky (síra, draslík, vápník, hořčík, železo, nikl, kobalt, zinek, mangan, měď) jsou nezbytné pro účinný anaerobní rozklad a tyto prvky jsou obvykle přítomny v dostatečném množství ve většině zpracovávaných substrátů.

Speece (1996) podotýká, že dusík ve formě amoniaku může být stimulem pro produkci methanu, také doporučuje fosfor ve formě fosforečnanu a jiné stopové prvky, jako je hořčík a zinek.

Tabulka 4: Specifické požadavky na živiny (Speece, 1996)

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

Odborné vědecké práce zmiňují přídavky stopových prvků, jako jsou selen, molybden, mangan, hliník a bór, jako nezbytné pro optimální methanogenní růst (Brummeler et al., 1985; Yank a Okos, 1987; Azbar et al., 2000). Někteří vědci navrhují přidávat do procesu stopová množství wolframu, vanadu a mědi (Yang a Okos, 1987; Azbar et al., 2000).

2.1.2.5. Inhibiční látky

Inhibiční a toxické vlivy těžkých kovů na acidogenní fázi anaerobní digesce byly popsány v různých vědeckých studiích. Toxický vliv těchto látek závisí na jejich koncentraci a schopnosti mikroorganismů přizpůsobit se těmto vlivům. Inhibiční koncentrace se odvíjí od různých proměnných, jako jsou pH, doba zdržení, teplota a poměr toxické koncentrace látky (McCarty, 1964; Speece, 1996).

Podle Lina a Chena (1999) měď a zinek byly nejvíce toxické, zatímco olovo se projevilo jako nejméně toxický těžký kov na acidogenní společenstva. Yenigun et al. (1996) zmiňuje inhibiční vlivy mědi a zinku ve vsádkových fermentorech v rozmezích 1 – 10 mg/dm³ pro měď a 5 až 40 mg/dm³ pro zinek. Zdůrazňuje větší toxicitu mědi než zinku k acidogenům. Těžké kovy byly také popsány jako významní inhibitoři rozkladu mastných kyselin v procesu (Lin, 1992).

Tabulka 5: Koncentrace některých inhibujících látek (Gerardi, 2003; Speece, 1996)

Látka	Stimulující [mg/l]	Mírně inhibující [mg/l]	Silně inhibující [mg/l]
amoniakální dusík		1500 -3000	3000
vápník	100-200	1500 - 4500	8000
hořčík	750-150	1000 - 1500	3000
sodík	100-200	3500 - 5500	8000
draslík	200-400	2500 - 4500	12000
měď			50 - 70
chrom			180 - 420
nikl			30
zinek			1

Při anaerobním zpracování odpadních vod z farmaceutického průmyslu, z domácností a z chovů hospodářských zvířat se do procesu fermentace běžně dostávají antibiotické látky s potenciálně inhibičním účinkem. Nielsen (2006) uvádí obsah antibiotik v kejďe hospodářských zvířat, u kterých byla antibiotika aplikována v doporučených dávkách, jako zanedbatelný a proces anaerobní fermentace významně neovlivňující.

2.1.2.6. Poměr C : N

Jako nejdůležitější živiny jsou uváděny N a fosfor, optimální poměr C:N:P u výchozích substrátů v hodnotách 100:3:1 (Rajeshwari et al 2000). U vysokého poměru C:N vzniká riziko nedostatku živin a nízká pufrační kapacita má za následek větší citlivost procesu (Nyns, 1986). Při vysokém

obsahu dusíkatých látek ve zpracovávaném materiálu hrozí riziko inhibice amoniakem, který se z dusíkatých látek bude v procesu uvolňovat.

Rozložitelnost materiálů bohatých na celulótickou složku může být znatelně zlepšená kofermentací s materiálem s vysokým podílem dusíkatých látek pro dosažení výhodnějšího poměr u C:N. Kofermentační způsob fermentace byl již mnohokrát vyzkoušen pro širokou škálu kombinací odpadů (Ahring et al., 1992; Callaghan et al., 2002; Edelman et al., 2000b).

Öchsner et al. (2003) uvádí ve své práci malý stupeň rozkladu organické hmoty při poměru C:N 15:1. Omezení aktivity bakterií je zantelné již při poměru C:N 8:1 (Abdel-Hadi, 2003). Optimální poměr C:N pro nejvyšší stupeň odbourání organické hmoty je v rozmezí 37:1 až 45:1.

2.1.2.7. Optimální koncentrace acetátu

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

2.1.2.8. Vliv míchání

Patel (1984) vedl experimenty s *Methanosaeta concilii* a svůj výzkum uzavírá konstatováním, že mechanické míchání substrátu rychlostí 110 ot/min nezvyšuje produkci methanu. Experiment, ve kterém byly anaerobní kaly míchány po dobu inkubace 28 dní, ukázal, že kaly, které byly míchány, produkovaly méně methanu než kaly nemíchané či pouze slabě promíchané. I ostatní autoři vyvozují závěr, že míchání inhibuje produkci methanu tím, že se ničí integrita buněk a narušují se syntrofické vazby methanogenních bakterií. Systémy, které byly míchány, vykazovaly přibližně o dva řády nižší počet methanogenních bakterií než systémy, které zůstaly statické (Dannenberg et al., 1997; Patel, 1984). Někteří autoři zastávají názor, že s vyšším

organickým zatížením se spíše vyrovnají fermentory, které jsou minimálně míchaný (McMahon et al., 2001, Stroot et al., 2001, Vavilin a Angelidaki, 2005). Autoři Vavilin a Angelidaki ve své práci testovali CSTR fermentory za využití komunálních pevných odpadů a chlévské mrvy a zjistili, že když bylo organické zatížení vysoké, mělo intenzivní míchání za následek acidifikaci a inhibici procesu, zatímco nízká intenzita míchání byla zásadní pro úspěšnou digesci.

2.1.2.9. Inhibice vzdušným kyslíkem

Methanogeneze z kyseliny octové je obecně považována za striktně anaerobní proces (Huser et al., 1982). Koncentrace vzdušného kyslíku v prostředí vyšší než 0,5% inhibuje produkci methanu 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 methanu nedošlo. Byl zkoumán také vliv redoxního potenciálu na methanogenezi, neboť tento parametr je dobrým indikátorem množství přítomného kyslíku. Pozitivní redoxní potenciály nižší než +400mV neinhibovaly produkci methanu. Bylo dokázáno, že bakterie byly schopné snížit pozitivní redoxní potenciál samy a začaly produkovat methan, jakmile redoxní potenciál klesl pod kritickou hodnotu + 50mV. Rapidní vzrůst redoxního potenciálu na hodnoty vyšší než kritická hodnota +50mV vysvětluje inhibiční efekt koncentrace kyslíku vyšší než 0,5% (Fetzer et Conrad, 1993).

Avšak někteří autoři zastávají názor, že malé množství kyslíku může methanogenezi pozitivně ovlivnit. Ve své práci poukazují na výzkum, kdy stopové množství kyslíku mělo za následek téměř zdvojnásobenou rychlost produkce methanu (Pirt et Lee; 1983).

Letální účinek kyslíku je diskutován, někteří autoři uvádějí ztrátu životaschopnosti methanogenů po působení kyslíku. Bakterie, které vytváří agregáty, vykazují větší životaschopnost z důvodu ochrany agregátu před celkovým vlivem kyslíku, např. *Methanosarcinia sp.*, avšak pro bakterie netvořící agregáty je vliv kyslíku více zničující (Patel et al., 1984). Fetzer et al. (1993) předkládá podobná zjištění, že relativně krátké vystavení vzdušnému kyslíku (menší než 30 hodin) mělo za následek pouze 10% úmrtnost některých methanogenních druhů, např. *Methanosarcina barkeri*. Avšak dodává, že toto vystavení vzduchu nezpůsobilo pokles v rychlosti produkce methanu, jestliže bakterie byly následně inkubovány v anaerobních podmínkách.

2.1.2.10. Metabolismus a produkce CO₂

Společně s methanem je produkován ve fázi methanogeneze také oxid uhličitý. Teoreticky by měl být v případě dekarboxylace kyseliny octové methan a oxid uhličitý produkován ve stejném množství. Avšak oxid uhličitý je z dekarboxylace využíván také pro tvorbu methanu. Tato skutečnost vysvětluje menší obsah oxidu uhličitého v bioplynu, a to v rozmezí 30-38% (Weber et al., 1984; Bhadra et al., 1984). Bylo provedeno mnoho testů, které ukazovaly chování methanogenů v anaerobním prostředí obsahujícím N₂ a CO₂, koncentrace uváděné v odborné literatuře se pohybují od 15% CO₂ až do více než 50%. Studie prokázaly, že methanogeneze probíhá i v atmosféře obsahující pouze N₂ (Zehnedr et al., 1980; Baresi et al., 1978; Fathepure; 1983; Yang and Okos; 1987).

2.1.2.11. Sulfan

Sulfan, který se vyskytuje v anaerobním procesu, většinou pochází z organických materiálů bohatých na sírné sloučeniny (např. zvířecí exkrementy, jatečné odpady atd.). Přesto jeho velkým a také často neočekávaným zdrojem může být materiál obsahující velké množství anorganických síranů. Těmito materiály bývají odpady po neutralizačních aplikacích kyseliny sírové, jako jsou odpadní vody či glycerinové odpady (Straka et al., 2007).

Sulfan je toxický vůči mikroorganismům již ve velmi nízkých koncentracích 0,002 – 0,003 M H₂S (Speece, 1996), a to zejména ve své nedisociované formě, která jako neutrální molekula proniká přes buněčnou membránu (Speece, 1996; McCartney a Olekiewicz, 1991). Za nepřítomnosti kyslíku je sulfan tvořen sulfátredukcujícími bakteriemi (SRB), které využívají sírany jako akceptory elektronu.

Většina redukované síry je uvolňována do prostředí jako sulfidové ionty, množství volného sulfanu závisí na pH prostředí (Boon, 1992). Poměry H₂S, HS⁻, S²⁻ jsou významně ovlivněny pH prostředí, jeho teplotou a iontovou silou. Poměr rozpuštěného sulfanu přítomného v nedisociované formě (H₂S) se může pohybovat od 75% (za pH 6,5) přes 50% (za pH 7,0) do 1% (za pH 8). Mezi hodnotami pH 9 – 10 byl rozpuštěný sulfan přítomný ve formě HS⁻ (Boon, 1992). Produkce sulfanu není ve většině případů prvním krokem anaerobní biodegradace.

Methanogenní bakterie jsou ovlivňovány přítomností síranů také nepřímo, a to dobrou metabolickou přizpůsobivostí sulfátredukcujících bakterií (SRB), které mohou velmi dobře

oxidovat produkty fermentace až na oxid uhličitý (Schink, 1997). Tuto metabolickou činnost vykonávají zejména druhy *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcina*, *Desulfonema*, *Desulfobacterium*. Aktivita SRB vůči methanogenům může být kooperativní či značně konkurenční (Straka et al., 2007). SRB tak mohou negativně konkurovat hydrogenotrofním methanogenům (Khanal a Huang, 2005). Yamaguchi a kolektiv (1999) uvádí značné snížení počtu hydrogenotrofních methanogenů konkurujícími SRB v anaerobním UASB reaktoru zpracovávající odpadní vodu bohatou na sírné sloučeniny.

Sulfan vznikající v procesu anaerobní digesce je za vhodných podmínek z prostředí odstraňován chemolitotrofními fakultativními aeroby *Thiobacilli bacteria*, *Beggiatoa* a *Thiotrix* druhy nebo také rody *Chromatium* a *Corobium* (Heuer et Kaskens, 2000; Sand et al., 1987). Straka et al. (2006) popisuje proces biooxidace sulfanu resp. sulfidů jako proces probíhající v oxických mikronikách za účasti chemolitotrofních bezbarvých bakterií rodů *Thiobacillus*, *Beggiatoa*, *Thiotrix*, v anoxickém prostředí uvádí druhy *Thiobacillus denitrificans*, *Thiomicrospira denitrificans*, které vyžívají přítomnosti dusičnanů k oxidaci sulfidu na síru.

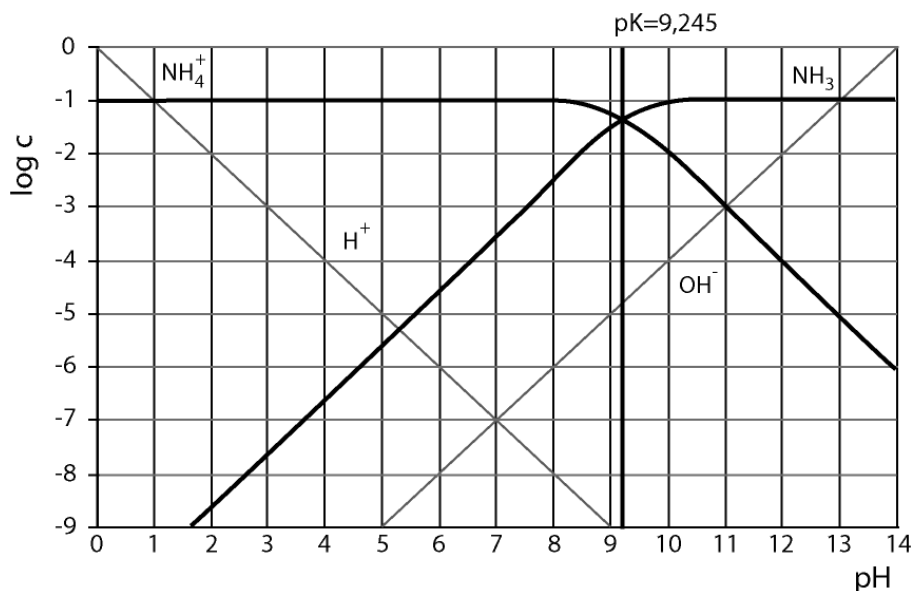
Procesu řízené mikroaerofilní oxidace sulfanu je začně využíváno v dnešních bioplynových technologiích k odstranění nežádoucího sulfanu z bioplynu. Fermentační prostor nebo bioplyn je záměrně zavzdušňován, čímž je podporována aktivita chemolithotrofních bakterií. Nadměrné zavzdušnění fermentačních prostor může způsobit pokles koncentrace methanu v produkovaném bioplynu. Odsíření bioplynu o koncentraci plynného sulfanu 1949 ppm (3000 mg/m³) tímto procesem sníží koncentraci methanu nejvíše o 1 až 3 % obj. Praktické zkoušky potvrdily efektivní účinnost mikroaerofilní oxidace sulfanu pro bioplyny s obsahem sulfanu do 2600 ppm (4000 mg/m³), pro bioplyny s nižší koncentrací sulfanu 194-260ppm (300 – 400 mg/m³) byla prokázána účinnost odstranění suflanu v hodnotách přesahujících 90% (Straka et al., 2007).

2.1.2.12. Amoniak

Amoniak je vysoce rozpustný ve vodě, ve které může setrávat ve formě amoniových iontů. Působí inhibičně na anaerobní fermentaci a může být toxický pro methanogenní bakterie (Angelidaki et Ahrin, 1993). Poměr nedisociovaného amoniaku je funkcí pH a teploty (Basaglia et al., 1992). Čím vyšší je pH prostředí, tím více je amoniaku přítomno v prchavé nedisociované formě. 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).

Obrázek 1: Diagram acidobazické rovnováhy pro systém $\text{NH}_4^+ - \text{NH}_3$ (Straka et al., 2006)



Inhibiční koncentrace NH_3 byly pozorovány za mezofilních podmínek 80-150mg NH_3/l za pH 7,5 (Koster et Lettinga, 1984; Braun et al., 1981), za termofilních podmínek za pH 7,2 – 7,3 byly zjištěny inhibiční koncentrace volného amoniaku pro acetát využívající methanogeny 3,5g NH_3/l a pro vodík využívající methanogeny 7g NH_3/l (Angelidaki et Ahring, 1993; Borja et al., 1996). Také Zeeman et al. (1983) popisuje inhibiční účinky zvýšené koncentrace amoniaku od 3,0g NH_3/l , kompletní potlačení aktivity uvádějí Humer a Lechner (2000) při koncentraci amoniaku 13g NH_3/l .

2.1.3. Problematika substrátů

Průběh anaerobní digesce je velmi závislý na povaze zpracovávaného organického materiálu. Jeho chemické složení a fyzikální vlastnosti mohou být limitujícími faktory pro úspěšný provoz technologií využívající anaerobní digesci. Hodnotíme-li vhodnost biomasy pro anaerobní technologické procesy, je obsah jejího ligninu důležitým faktorem ovlivňující její biodegradabilitu (Haug, 1993; Amon et al., 2001, Wellinger et al., 1984; Cecchi et al., 1988).

2.1.3.1. Lignocelulózové materiály

Lignocelulóza je společný termín pro tři hlavní složky rostlinného pletiva, jmenovitě pro celulózu, hemicelulózu a lignin. Celulóza a hemicelulóza jsou biodegradabilní frakce tvořící až 90% biochemického methanového potenciálu substrátů. Nicméně ne všechny tyto hemicelulózy a celulózy jsou využitelné pro anaerobní digesci (Wang et al., 1997). Je to primárně způsobeno strukturou buněčných stěn rostlin (Tsao, 1984). Celulóza je lineární homopolymer o několika tisících d-glukózových jednotek spojených β -1,4 glykosidickými vazbami. Z pohledu rozkladu lze tyto vazby hydrolyzovat. Nesnadnost rozkladu nezpůsobují primární vazby, ale spíše terciární a sekundární struktury lignocelulózových materiálů.

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%. Protože enzymatická hydrolýza glykosidických vazeb je přenášena po adsorpci enzymů celulózu, střední lamela představuje bariéru pohybu enzymů. Z tohoto důvodu je difuze a penetrace enzymy velmi obtížná a pomalá.

2.1.3.2. Celulóza

Hydrolázy rozkládají celulózu za vzniku rozpustného disacharidu – celobiózy, který za následné hydrolýzy tvoří molekuly D-glukózy. Byly izolovány a zkoumány enzymy hydrolyzující celulózu z různých mikrobiálních druhů. Mezi tyto anaerobní bakterie rozkládající celulózu patří: *Bacteriodes succinogenes*, *Clostridium lochhadii*, *Clostridium cellobioporus*, *Ruminococcus flaveciens*, *Ruminococcus albus*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Clostridium thermocellum*, *Clostridium stercorarium*, *Micromonospora bispora* (Gilkes et al., 1991; Linden et Shiang, 1991).

Vlastnosti celuláz jsou si velmi podobné, ačkoliv jsou produkovány různými organismy. Celulolytický enzymatický systém se skládá z tří skupin enzymů : endo-glikanáz, exo-glikanáz a glykosidáz (Eriksson et al., 1990). Endoglikanázy náhodně štěpí glykosidické vazby. Zatímco endoglikanázy jsou schopny přerušit glykosidickou vazbu prakticky kdekoli v molekule polysacharidu, exoglikanázy odštěpují buď celobiózu nebo glukózu, ale pouze z neredukujícího konce celulózy. Glykosidázy pak hydrolyzují celobiózu a jiné ve vodě rozpustné celodextriny, tedy produkty vzniklé působením endo a exo glikanáz, na glukózu. (Eriksson et al., 1990).

Kromě těchto enzymů některé anaerobní bakterie produkují fosforylázy pro rozklad celulózy (Ljungdahl et Eriksson, 1985). Byly rozpoznány dva typy fosforyláz, konkrétně ty, které jsou specifické pro celobiózu, a ty využívající vyšší celodextriny (Béguin et Aubert, 1994).

Nejšířeji byl prostudován celulolytický systém anaerobní bakterie *Clostridium thermocellum* (Ljungdahl et al., 1983; Lamed et Bayer, 1988; Wu et Demain, 1988). *Clostridium thermocellum* produkuje ve vodě rozpustnou nízkomolekulární látku, žlutě zbarvenou, která podporuje vazby celulolytických enzymů na celulózu (Ljungdahl et al., 1983). Byla prokázána u anaerobních bakterií vlastnost produkovat celulolytický systém jako agregát nazývaný se celulozom. Celulolytické agregáty jsou produkovány bakteriemi *Clostridium thermocellum*, *Bacteriodes succionogenes*, *Ruminococcus albus* (Eriksson et al., 1990). Zmíněné agregáty pomáhají ve vazbě buňky na látku a následně hydrolyzují celulózu. Syntéza zmíněných enzymů je potlačována přítomností glukózy nebo přímo metabolizovanými sacharidy. Většina znalostí o anaerobních bakteriích rozkládajících celulózu pochází z vědeckých prací zabývajících se bachorovými mikroorganismy.

2.1.3.3. Hemicelulózy

Hemicelulózy jsou složeny jednak z lineárních, jednak z 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 spojeny 1,4-B vazbou kromě hemicelulóz založených na galaktóze, kde jsou vazby typu 1,3-B. Spojují svazky celulózových vláken do formy mikrofibril, tvoří vazby s ligninem a vytváří komplexní síť vazeb poskytující zpevnění struktury lignocelulózové matrice, což zvyšuje stabilitu buněčných stěn (Ladisich et al., 1983; Lynch, 1992). Produkty depolymerizace jsou monomery tvořící hemicelulózový polymer. Hemicelulóza je snadněji rozkládána než celulóza anaerobními mikroby. Ačkoli depolymerizace hemicelulózy je jednoduchý proces, komplexnost hemicelulolytických enzymatických systémů dalece překonává komplexnost celulolytických enzymů, neboť hemicelulóza je složena z více druhů monomerů (Tsao, 1984). Převládající bakterie rozkládající hemicelulózy jsou *Bacteriodes ruminicola*, *B. Fibrisolvens*, *R. Flavefaciens* a *R. Albus*.

2.1.3.4. Pektiny

Pektiny představují důležitou skupinu hemicelulóz v mladých rostlinných pletivech a plodech. Množství pektinu v lignifikovaných rostlinných materiálech se pohybuje mezi 1-4%. Pektiny jsou složeny z molekul kyseliny D-galakturonové, spojených glykosidickými vazbami α (1,4) (Senior et Balba, 1990). Depolymerizace pektinu je zprostředkována celou řadou lyáz a hydroláz zahrnující esterázy a glykosidázy. Preston et al. (1993) se zabýval aktivitou pektátlyázou vyloučenou anaerobní bakterií, *Clostridium populeti*. Tato bakterie byla izolována z dřevního materiálu. Bylo zjištěno, že tento organismus syntetizuje nepravidelný trimer vytvářející pektát lyázu kombinací endolytických a exolytických depolymerizačních mechanismů. Několik druhů *Clostridium* bylo identifikováno jako druhy pektinolytické. Pektinolytické bakterie izolované z bachorové kapaliny zahrnuje *Bacteriodes rumenicola* a *Streptococcus bovis*.

2.1.3.5. Lignin

Lignin je vysoce rozvětvený, konstitučně komplikovaný aromatický heteropolymer složený z podjednotek fenylypropanu, které jsou náhodně spojeny různými druhy uhlíkatých a jiných vazeb. Lignin je svou strukturou a biochemickou charakterizací odolný vůči mikrobiálnímu rozkladu, ale některé organismy (fungi) si vyvinuly specifické enzymy k odbourávání ligninu (Kirk et Farrell, 1987). Aktinomycety mohou také rozkládat lignin, ale pouze 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, 1996).

2.1.3.6. 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 a navíc amoniak uvolňovaný během hydrolýzy slouží jako hlavní zdroj dusíku pro anabolické reakce. Bylo prokázáno, že specializovaná skupina anaerobních bakterií, jako jsou proteolytická clostridia (*Clostridium prefringens*, *C. Bifermentans*, *C. Histolyticum* a *C. Sporogenes*), jsou zodpovědné za rozklad proteinů v anaerobní digesci (McInerney, 1988).

2.1.3.7. Lipidy

Mastné kyseliny jsou hlavními konstituenty lipidových frakcí odpadů. Jednoduché lipidy jsou estery mastných kyselin s glycerolem. Komplexní lipidy (např. fosfolipidy, glykolipidy) obsahují konstituenty navíc, zejména fosfát, dusík, síru nebo malé hydrofilní uhlíkaté sloučeniny, např. sacharidy, ethanolamin, serin nebo cholin. Rostlinná pletiva obsahují mezi 1 a 25% hm. v sušině lipidů (Senior et Balba, 1990). Tuky a oleje jsou velmi rozšířeny v rostlinných buňkách a jsou nejběžněji k nalezení v pletivech semen, kde slouží jako materiály výživové rezervy. Oleje jsou často rozptýleny v cytoplazmě buněčné mízy. Esteráza přenášená enzymatickou hydrolýzou lipidů má za následek uvolnění satureovaných a nesatureovaných dlouhořetězových mastných kyselin spolu s glycerolem. Glycerol je snadno asimilován a metabolizován bakteriemi. Dlouhořetězové mastné kyseliny podstupují intracelulární beta-oxidaci zprostředkovanou mnoha enzymy mající za následek produkci organických kyselin, jako je kyselina octová a propionová spolu s vodíkem. Některé lipidy zpracovávají anaerobní bakterie jsou *Anaerovibrio lypilytica* a *Syntrophomonas wolfei* (Cecchi et Mata-Alvarez et al., 1993).

2.1.4. Metody posuzující výtěžnost bioplynu

K procesnímu řízení technologií anaerobních fermentačních procesů a k projektování bioplynových technologií je potřeba znát teoretické i reálné produkce methanu zpracovávaného substrátu i jeho biologické odbourání (Straka et al., 2006; Linke, 1997).

2.1.4.1. Teoretické výpočty

Pro teoretické výpočty produkce a koncentrace methanu existuje několik postupů. Většina těchto výpočtů je ale zidealizovaná a vypočtené výtěžky jsou větší než je ve skutečnosti možné.

Maximální teoretická výtěžnost je tak dána vztahem, který vyplývá z hmotnostně energetické bilance procesu [1].

$$CHSK_{substrátu} = CHSK_{methanu}$$

Teoretickou produkci methanu lze snadno vypočítat při znalosti POXČ nebo CHSK výchozího substrátu. Výpočet vychází z předpokladu, že k úplné oxidaci methanu 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). Čím je POXČ nižší, tím je výtěžnost methanu vyšší. POXČ je úměrné teoretické spotřebě kyslíku (CHSK), tedy CHSK dané látky vztažené na množství C_{org} (Dohányos et al., 1988; Dohányos et al., 1998; Zábranská, 1994).

$$POXČ = 4 - 1,5 * CHSK / C_{org} \quad [1]$$

Teoretickou výtěžnost methanu lze pak spočítat dle vztahu

$$Y_{CH_4_{teor}} = 0,350 * CHSK_{substrátu} \quad [Nm^3 CH_4 / kg CHSK]$$

Teoretickou koncentraci methanu v bioplynu pak spočítáme dle vztahu

$$\%CH_4 = 18,75 * CHSK / C_{org} \text{ nebo } \%CH_4 = \frac{4-POXČ}{8} * 100$$

Tabulka 6: Přepočtové koeficienty mezi CHSK a CH₄

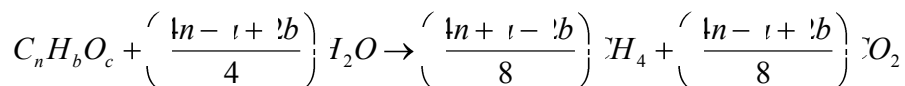
1 mol CH ₄	2 moly O ₂ ; 64g CHSK; 22,36l CH ₄ *)
1 g CHSK	0,25g CH ₄ ; 0,349 l CH ₄ *)
1 g CH ₄	4 g CHSK; 1,395l CH ₄ *)
1 l CH ₄ *)	2,867 g CHSK

*) platí za standardních podmínek (teplota 0°C, 101,3 kPa)

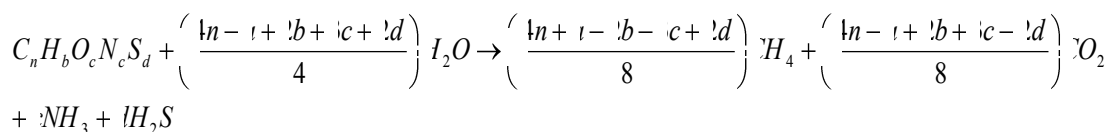
V případě přítomnosti dalších prvků v molekule substrátu, které v oxidačně-redukčních reakcích jsou akceptory volných elektronů, dochází ke snížení množství elektronů pro tvorbu methanu, a tím ke snížení výtěžnosti methanu. Takto působí zejména dusík a síra a jejich sloučeniny, míra jejich ovlivnění závisí na oxidačním stupni daného prvku, pro korekci výtěžnosti methanu je třeba od celkové CHSK odečíst CHSK substrátu spotřebovaného na redukci dusíku a síry (Dohányos et al., 1998).

Skutečný výtěžek je nižší než vypočtený, jelikož výpočet vychází z hodnoty CHSK substrátu, která v sobě obsahuje i část CHSK, která je biologicky nerozložitelná. Proto takto vypočtená produkce methanu je maximálně možná produkce methanu při 100% rozkladu testované organické látky za standardních podmínek (Zábranská, 1994).

K výpočtu teoretické produkce methanu 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).



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 biodegradability organického substrátu (BF_{substrátu}) založené na obsahu ligninu. K této formulaci využil data sesbíraná z pokusů s anaerobními rozklady mnoha lignocelulózových substrátů (s 40 denní dobou zdržení) a vytvořil lineární vztah k popisu této skutečnosti.

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

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 ukázala rozložitelnost lignocelulózového materiálu (obsah ligninu 4-6%) ve fermentačních testech na 68% hm.

Proces anaerobní digesce je obvykle běžně popisován kinetikou reakce prvního řádu, složitější metody výpočtů zohledňující více proměnných, např. biodegradabilitu výchozího substrátu, růstovou rychlost mikroorganismu, enzymovou kinetiku atd., tyto proměnné zohledňuje například Chen a Hashimotoův model pro výpočet teoretického výtěžku methanu. (Chen et Hashimoto, 1980)

$$Y = Y_{max} \left[1 - \frac{K}{HRT \mu_{max} - 1 + K} \right]$$

Y_{\max} = maximální výtěžek methanu [CH₄/g VS] za teoreticky nekonečnou dobu zdržení

HRT = doba hydraulického zdržení [dny]

μ_{\max} = maximální měrná rychlost růstu mikroorganismů (čas⁻¹)

K = Chen a Hashimotova kinetická konstanta

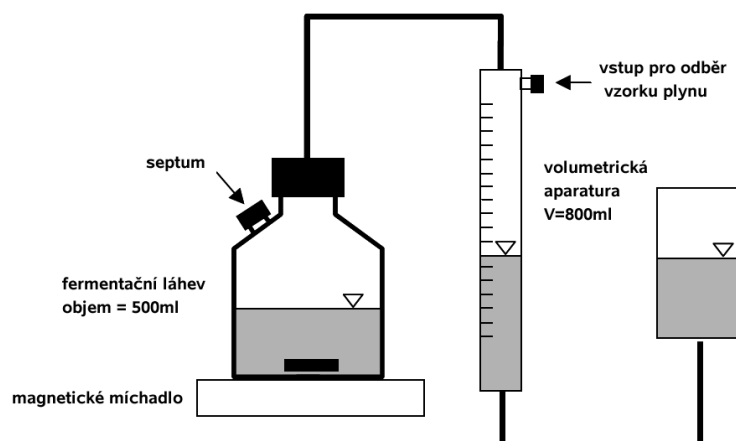
Modelováním kinetiky anaerobních procesů se zabývala a i v současné době zabývá celá řada světových autorů (Mata-Alvarez et al., 1993; Richard et al., 1991; Jewell et al., 1999; Powers et al., 1997; Angelidaki et al., 1993).

2.1.4.2. Praktické metody

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

Většina evropských vědeckých pracovišť využívá metod volumetrické analýzy 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 značnou jednoduchostí a nenáročností jak v případě měření, tak i investičními náklady. Některá jiná pracoviště využívají princip volumetrického měření, avšak používají vlastní nestandardní aparaturu a metodické postupy (Dohányos et al., 1988; Hrnčířík et al., 1997; Holm-Nielsen et al., 2006).

Obrázek 2: Volumetrická aparatura (Heerenklage et Stegmann, 2005)

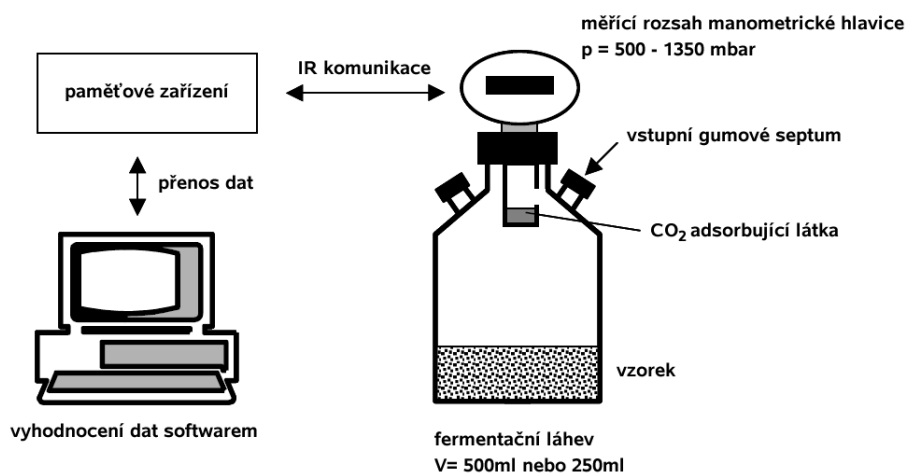


Další metodou je metoda využívající manometrického měření, kterou popisuje mezinárodní norma ISO CD 11734. Princip metody spočívá v měření rozdílů tlaku plynu, který vzniká mikrobiální aktivitou anaerobních mikroorganismů v uzavřeném systému fermentační nádoby. Po provedení příslušných výpočtů lze tak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

Uvedené metody vycházejí z předpokladu, že celkový rozklad organické hmoty anaerobní digescí je nejlépe měřen rychlostí produkce methanu (Chynoweth et al., 2001). Rychlost produkce methanu 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 uhelnatého. Předpokládalo se, že parametr obsahu plynného vodíku je informativní ve spojitosti s regulací methanové fermentace. Mosey et Fernandes (1989) prokázali, že obsah vodíku v plynné fázi rychle reaguje na disturbance procesu. Laboratorní měření plynného vodíku jsou nicméně velice obtížná vzhledem k jeho nízkým koncentracím (< 50ppm za běžných provozních podmínek). Hickey et al. (1989) uvádí určitou přítomnost oxidu uhelnatého 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. Hodnoty obsahu oxidu uhelnatého mohou být využity k aktuálnímu měření stavu procesu (Switzenbaum et al., 1990).

Obrázek 3: Manometrické aparatury – zařízení OxiTop (Heerenklage et Stegmann, 2005)



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

Další možností, jak určit methanogenní aktivitu mikroorganismů v anaerobním procesu přímo, je stanovení koncentrace fluorescenčního koenzymu F₄₂₀. Tato metoda je poměrně přesná, ale je náročnější, a proto se v praxi příliš nepoužívá (Zábranská et al., 1985; Straka et al., 2006).

2.2. Proces rychlé pyrolýzy

2.2.1. Fytomasa - palivo

2.2.1.1. Obecná charakteristika

Fytomasa má tři hlavní složky: v případě typické rostlinné hmoty polovinu tvoří celulóza, čtvrtinu hemicelulóza a čtvrtinu lignin. Vláknina celulózy drží pospolu ve formě lignocelulózové matrice obsahující dále lignin a hemicelulózy.

Celulóza je lineární polymer ve stupni polymerizace až do 10 000 šestiuhlíkatých anhydroglukózových sacharidových jednotek, obsahujících 49% hm. kyslíku. Hemicelulózy jsou chemicky podobné celulóze, ale mají nižší stupeň polymerizace, jsou tvořeny nesourodě spojenými šestiuhlíkatými a pětiuhlíkatými anhydrosacharidy (Theander, 1985). Pětiuhlíkaté anhydrosacharidy mají obsah kyslíku 54% hm. Obsah kyslíku v ligninu se pohybuje v rozmezí 12 až 29 % hm. (Glasser, 1985).

Celkové rozpětí obsahu kyslíku ve dřevní a bylinné biomase je od 35 do 45% hm. v závislosti na obsahu vlhkosti a popela (Grabovsky et Bain, 1979). Jedním z důsledků vysokého obsahu kyslíku je relativně nižší hodnota výhřevnosti. Hodnota výhřevnosti se pohybuje od 15 do 20 MJ/kg suché biomasy, ve srovnání s uhlovodíkovými palivy, které mají výhřevnost mezi 40 a 45 MJ/kg (Grabovsky et Bain, 1979).

2.2.1.2. Obsah vody

Také obsah vody je velmi kolísavým parametrem. Na vzduchu vysušená biomasa obsahuje přibližně okolo 10 – 12% vody, čerstvá obsahuje až 60%. Vysoký obsah vody v palivu je problémem nejen pro spalovací proces (nižší výhřevnost), ale také při samotném skladování paliva. Většina pyrolyzních technologií vyžaduje vlhkost vstupního materiálu s obsahem 5 až 15% vody (Diebold et Bridgwater, 2003).

2.2.1.3. Obsah popelovin

Biopaliva se vyznačují nízkým obsahem popelovin, pohybující se v rozmezí od 0,1 do zhruba 6% (nejméně popelovin obsahují dřeviny okolo 0,5%, například sláma až 4-6%), avšak jejich

charakteristiky se vyznačují méně příznivými vlastnostmi. Obsahují poměrně vysoké množství alkalických kovů, které jsou jednou z příčin vysokoteplotní koroze (Moses, 1994).

Určité množství popelovin může také přecházet vliv technologie do pyrolyzních kapalin. Část těchto popelovin je tvořena z oxidů alkalických kovů. U dřevin není obsah těchto látek rozhodující, neboť je poměrně nízký, avšak v případě pyrolyzních kapalin ze stébelnaté fytomasy (sláma, traviny) je situace významně odlišná. Tyto kapaliny obsahují mnohem vyšší množství alkalických kovů. V případě pyrolyzní kapaliny dřevin jsou obsahy popelovin obvykle nízké (0,1 – 0,2% hm) a vyšší (0,2 – 0,4% hm.) jsou pro kapaliny ze stébelnin (Diebold et al., 1997). Obsahy pevných látek ovlivňující emise při spalovacích testech jsou předmětem aktuálního výzkumu ve Švédsku (Hallgren, 1996), Finsku (Oasmaa et al., 2000) a v Sandia National Laboratories (Suppes et al., 1996).

2.2.2. Rychlá pyrolýza

2.2.2.1. Princip procesu

Vědecké práce popisují proces rychlé pyrolýzy jako proces s vysokými teplotními změnami za krátkou reakční dobu. Za těchto podmínek mají větší částice biomasy vysoké teplotní gradienty ($> 1000^{\circ}\text{C/s}$). Tato skutečnost má za následek rozdílné teploty ve struktuře materiálu. Při teplotě nad 465°C má dehtový polymerát velmi nízkou viskozitu a může být rychle odstraněn z povrchu biomasy. Pokud je mechanicky odstraněn z pyrolyzovaného povrchu, může transformace biomasy probíhat rychlostí až 3 cm/s (Diebold, 1980; Lédé et al., 1985). Tato vlastnost je základem pro ablativní pyrolyzní reaktory (ablativní pyrolysis reactors) (Lédé et al., 2003). Pokud dehtový zbytek (polokoksový) není odstraněn, i když je vytvořen, bude rychle polymerizovat. V podmínkách rychlé pyrolýzy byla produkce kondenzovatelných organických látek optimalizována v mnohotvárnosti různých návrhů reaktorů s různými vyhřívacími metodami a velikostmi částic výchozího materiálu (Bridgwater, 1995).

2.2.2.2. Mechanismy procesu

K rychlé pyrolýze dochází za podmínek rychlého ohřevu hmoty, při kterých jsou dosaženy vyšší teploty před vlastním rozkladem. Tyto vyšší teploty podporují odlišný mechanismus zahrnující depolymerizaci do stupně rozkladu hmoty (Stam, 1956). Za nižších teplot má vzniklý dehtový polymerát vyšší viskozitu a není schopný téci. Termická gravimetrická analýza (TGA) biomasy s

rychlostí ohřevu několik stupňů za minutu ukazuje pomalou hmotnostní ztrátu vzorku až do teplot přibližně 150°C. K většině hmotnostních ztrát biomasy během této relativně krátké doby ohřevu dochází mezi 200 – 380°C (Gauer et Reed, 1995).

Za podmínek rychlejšího ohřevu a vyšších teplot dehydratační reakce vedoucí k vytvoření zuhelnatělého zbytku ztrácí svou predominanci, neboť organické prchavé látky jsou formovány štěpicími reakcemi. Avšak za přítomnosti alkalických katalyzátorů, přirozeně se nacházejících v materiálech biomasy, jsou polysacharidy štěpeny na hydroxyacetaldehydy, organické kyseliny, furfuraly, uhlovodíky a jiné kyslíkaté sloučeniny (Radlein et al., 1991; Richards, 1994).

Ligniny za přítomnosti alkalických katalyzátorů pyrolyzují na monocyklické aromatické sloučeniny a nekondenzované bicyklické aromatické materiály s vysokým podílem fenolu. Tyto fenolické látky obsahují žádnou, jednu nebo dvě methoxy skupiny v závislosti na rostlinném původu materiálu. Ligniny mohou také pyrolyzovat do podoby 40 až 50% hm termálně stabilních dehtových polymerátů (Evan et Milne, 1987).

2.2.2.3. Model procesu

Uznávaný model procesu je nazýván Broido-Shafizadeh model (Bradbury et al., 1979). Zde jsou vznikající páry kondenzovány a dávají tak vzniknout pyrolyzním kapalinám. Tento model představuje první kroky a nebere v úvahu heterogenní vedlejší reakce pára-pevná látka, které by mohly být pouhým zdrojem polokoksového zbytku, jak předpokládají Antal a Varghegyi (1995).

2.2.2.4. Produkty procesu

Produkty pyrolýzy biomasy zahrnují kondenzovatelné kyslíkaté organické kapaliny, stálé plyny, polokoksové zbytkové látky a vodu. Podíly těchto produktů se mění v závislosti na výchozím materiálu, čase a teplotách v systému reaktoru (Oasmaa et Peacocke, 2001).

Výnosy produktů rychlé pyrolýzy jsou funkcí charakterů vstupního materiálu a podmínek procesu v reaktoru, literatura obecně uvádí produkci 40 až 65 % hm. organického kondenzátu, 10 až 20% polokoksového zbytku, 10 až 30% plynů a 5 až 15% vody. (Bridgwater, 2003; Lédé et al., 2003).

2.2.3. Pyrolyzní kapaliny

2.2.3.1. Obecná charakteristika

Pyrolyzní kapalina je nazývána mnoha jmény, např. pyrolyzní kapalina, pyrolyzní olej, biosurový-olej, dřevní destiláty, pyrodřevitý dehet, pyrodřevitá kyselina. Skutečnost, že výrobu pyrolyzních kapalin lze realizovat z biomasy jakožto z obnovitelné suroviny, je jejich názvu, odbornou i laickou veřejností nesprávně přisuzován výraz „bio“. Pyrolyzní kapalina má specifické fyzikální i chemické vlastnosti, kterými se zásadně odlišuje od konvenčních paliv (Bridgwater, 1995; Evans et Milne, 1987; Graham et al., 1994).

Výzkum zaměřený na analýzu fyzikálních vlastností pyrolyzních kapalin je prováděn od 80. let na PNL, USA (Elliott, 1983) NREL, USA (Chum et McKinley, 1988; Milne et al., 1990; Czernik et al., 1994) a v B.C.Research, Canada (McKinley et al., 1994).

Tabulka 7: Vybrané charakteristiky bioolejů (Oasmaa et Peacocke, 2001)

Fyzikální vlastnost	Topol	Borovice	Sláma	Dřevní odpad
Obsah vlhkosti	18,90%	16,60%	19,90%	24,10%
pH	2,8	2,6	3,7	2,9
Hustota [při 15°C]	1,2	1,24	1,19	1,22
Elementární složení				
C	57,30%	55,80%	55,30%	56,60%
H	6,30%	5,80%	6,60%	6,20%
O	36,20%	38,20%	37,70%	36,90%
N	0,18%	0,10%	0,40%	0,10%
S	0,02%	0,02%	0,05%	0,03%
Výhřevnost	18,7 MJ/kg	19,1 MJ/kg	18,5 MJ/kg	17,4 MJ/kg

2.2.3.2. Vzhled pyrolyzní kapaliny

Pyrolyzní kapalina je typicky tmavě hnědá volně tekoucí kapalina. V závislosti na výchozím produktu a způsobu procesu rychlé pyrolýzy může být její zbarvení téměř černé, přes tmavě červenohnědou až k tmavě zelené (Diebold et Bridgwater, 2003; Radlein, 2003). Specifické zbarvení je částečně ovlivněno přítomností mikrouhlíkatých částic v kapalině a jejím chemickým složením. Filtrace horkých par před vlastní kondenzací způsobuje méně syté

červenohnědé zabarvení v důsledku absence dechťových příměsí. Vysoké obsahy dusíku či síry v kapalině mohou zapříčinit její tmavě zelený nádech (Bridgwater, 2003).

2.2.3.3. Zápach

Kapalina má výrazný zápach připomínající štiplavý kouřový zápach, který může dráždit oči, pokud jsou jí vystaveny dlouhodobě. Kapalina obsahuje několik set různých chemických látek ve velmi kolísavých poměrech, v rozsahu od formaldehydu a kyseliny octové ke komplexním vysokomolekulárním fenolům, anhydrosacharidům a jiným oligosacharidům (Radlein, 2003; Bridgwater, 2003).

2.2.3.4. Korozivita

Hodnota pH pyrolyzních kapalin je velice nízká (pH 2-3) díky vysokému podílu (8-10 % hm.) prchavých mastných kyselin, zejména kyseliny octové a mravenčí (Sipila et al., 1998; Fagernas, 1995). Tyto kyseliny spolu s vodou jsou hlavním důvodem korozivity pyrolyzních kapalin, zejména za zvýšených teplot (Aubin et Roy, 1980).

Ve standardním testu koroze za 60°C (ASTM D 665 A) nebyl vytvořen žádný rez, ale byl pozorován hmotnostní úbytek uhlíkaté oceli (AISI 01). Aubin a Roy (1980) neuvádí žádnou korozi uhlíkaté oceli za mírné teploty v nízkých koncentracích kyseliny (3,6%) a vody (4,4%). Pozorovali však zřejmou korozi za zvýšené teploty (45°C) a za vysokého obsahu kyseliny (17,5%) a vysokého obsahu vody (55,7%). Jako vhodný materiál se jeví kyselině odolná ocel AISI 316 (17% Cr, 11% Ni, 2,2% Mo, 0,05% C).

Byly prováděny extenzivní testy různých kovových materiálů (Fuleki, 1999). Mosazné materiály a materiály z nerez oceli byly relativně nezasaženy korozí, ale materiály z hliníku a měkké oceli vykazovaly výrazné hmotnostní ztráty za vyšších teplot po delší době (17,8% a 15,8% hm. ztráta během 360 hodin při 70°C). Po odstranění povrchových usazenin z měkké oceli byl korozivní efekt výraznější (19,6% hm. ztráta během 360 hodin při 70°C). Soltes a Lin (1984) také uvádějí korozivitu měkké oceli a hliníkového materiálu při využívání pyrolyzních kapalin.

Niklové materiály nejsou resistantní vůči těmto kapalinám už za pokojové teploty. Avšak Oasmaa et al. (1997) uvádí odolnost v korozivních testech za teploty nižší než 80°C materiálu HYNES 188 (39,4% Co, 22% Cr, 22,9% Ni, 14,5% V, 1,2% Fe).

Měď (99,9% Cu) v korozivních testech (ASTM D130) za 40°C nevykazovala žádné znaky koroze ani úbytky váhy u různých pyrolytických kapalin. Měď jako ušlechtilý kov má dobrou rezistenci vůči neoxidujícím kyselinám, je tudíž vhodný jako těsnící materiál (Jay et al., 1995). Avšak při použití mědi ve slitinách (mosaz, bronz, měďnikl) je tu riziko elektrochemické koroze.

Jay et al. (1995) se zabýval využitím bioolejů pro dieslové motory, zejména vstřikovacími tryskami a jejich opotřebením, které je způsobeno vysokým obsahem příměsí a korozí materiálu. Zdůrazňuje vhodnost materiálu M390 – Martensitic Sintered Stainless Steel (1,9% C, 20% Cr, 1% Mo, 4% V, 0,6% W), který se v testech ukázal jako nejvhodnější.

Mnoho plastických hmot jako PTFE (polytetrafluoroethylen), PP (polypropylen), PE (polyethylen) a polyesterové pryskyřice jsou materiály s vysokou rezistencí vůči pyrolytickým kapalinám. Z tohoto důvodu se také tyto materiály prokázaly jako vhodné pro výrobu skladovacích nádob, kontejnerů, těsnících prvků v pyrolyzních technologiích (Czernik, 1994).

2.2.3.5. Mísitelnost

Pyrolyzní kapalina obsahuje proměnlivá množství vody v rozsahu přibližně od 15% hm. do 50 % hm. v závislosti na výchozím produktu a technologii procesu. Pyrolyzní kapaliny mohou být řaděny určitým množstvím vody, jsou ale nemísitelné s ropnými palivy (Oasmaa et al., 2001).

2.2.3.6. Složení

Pyrolyzní kapaliny z fytomasy obsahují všechny kondenzovatelné produkty termální degradace tří hlavních rostlinných konstituentů: celulózy, hemicelulózy a ligninu. Kromě těchto látek jsou také přítomny látky obsažené v tucích, pryskyřicích, rostlinných šťávách, jako jsou polyfenoly, mastné kyseliny, bílkoviny atd. Z důvodu nesespecifického mechanismu termální degradace těchto makromolekul jsou tvořeny stovky sloučenin s nízkou molekulární hmotností (Meier, 2003).

Měrná hmotnost pyrolyzních kapalin je velmi vysoká – přibližně 1,2 kg/l – v porovnání s lehkým palivovým olejem (0,85 kg/l). To znamená, že pyrolyzní kapalina má asi 42% obsah energie palivového oleje na základě hmotnosti, ale 61% energie na objemovém základě (Chum et McKinley, 1987).

Voda se nachází v pyrolyzních kapalinách rozpuštěná, její obsah do 15% hm. může zvýšit účinnost spalovacích procesů při zanedbatelných ztrátách účinnosti až do obsahu vody 20%hm. (Diebold et al., 1997).

Obsah vody v pyrolyzních kapalinách je standardně analyzován Karl-Fischerovou (KF) titrací. Pyrolyzní kapaliny obsahují ve vodě rozpustné sloučeniny s nízkým bodem varu (pod 100°C), a proto nelze pro stanovení obsahu vody využít konvenční analytické metody. Dřívější vědecké zkoumání dvou standardních metod (ASTM D 1744, ASTM E 203) ke stanovení obsahu vody v pyrolyzních kapalinách z tvrdých a měkkých dřevních hmot a stébelninové fytomasy vedlo k závěru, že obě KF titrační metody mohou být k tomuto účelu použity (Oasmaa et al., 1997). V současné době se používá jako referenční metoda stanovení obsahu vody v pyrolyzních kapalinách metoda „*Test Method E 203-96: Standard Test Method to Water Using Volumetric KF titration*“.

2.2.3.7. Stabilita

Pyrolýza biomasy za podmínek rychlého ohřívání a krátkých reakčních časů může produkovat nízkoviskozitní pyrolyzní kapalinu ve výtěžcích až více než 70%. Většina zamýšlených využití pyrolyzních kapalin vyžaduje, aby byly zachovány tyto počáteční fyzikální vlastnosti během uskladnění, přepravy a také samotného využití. Pyrolyzní kapaliny během skladování však zvyšují svou viskozitu.

Autoři se shodují, že stárnutí pyrolyzní kapaliny (polymerace) má za následek zvyšování jeho viskozity, a dodávají, že tento vliv stárnutí na viskozitu je větší za nižších teplot (Diebolt et Czernik, 1997).

2.2.3.8. Skladování

Skladování jednofázových nízko až středně viskózních pyrolyzních kapalin za patřičných skladovacích podmínek nemá za následek snížení jejich homogenity či výraznou sedimentaci až po dobu 6 až 12 měsíců bez nutnosti míchání (Oasmaa et al., 1997). K zahřátí skladované kapaliny na teplotu vyšší než 50°C by nemělo docházet z důvodu možnosti evaporizace prchavých látek nebo zvýšení viskozity způsobené chemickou nestabilitou pyrolyzní kapaliny (Agblevor et al., 1996). Rozfázovaná kapalina, zejména sedimentovaná vrstva, může být

homogenizována přidavkem pouze polárních rozpouštědel (např. alkoholů). Kyseliny, například kyselina octová, také přispívají k homogenizaci, ale zároveň značně snižují pH kapaliny.

2.2.3.9. Toxicita

Zdravotní riziko, které může způsobit pyrolyzní kapalina, nebylo dosud jednoznačně objasněno, ačkoliv některé vědecké studie (Diebold, 1999) poukazují na limitní stupně mutanogenity a teratogenity způsobené těmito kapalinami v závislosti na zdroji, chemickém složení a dávce.

Podobné práce s pyrolyzními kapalinami (Putnam et al., 1999) uvádějí, že mohou být pozorovány v závislosti na typu pyrolyzního produktu určité cytotoxické a mutanogenní účinky. Také pyrolyzní aerosoly jsou vědeckými studii uváděny jako mutanogenní (Lewis et al., 1988). Pro práci s pyrolyzními produkty je nutné dodržovat preventivní opatření užívání ochranných pomůcek a vyvarovat se přímého styku s těmito kapalinami a produkty.

Toxický vliv kapalin rychlé pyrolýzy při styku s pokožkou je nízký, akutní orální toxicita asi 700 mg/kg, ale při styku s oční tkání je vliv výraznější (Pakdel et Roy, 1991).. Aerosoly pyrolyzního oleje jsou velmi dráždivé na dýchací ústrojí, mohou způsobit značné podráždění nebo poškození očí a při vysokých expozicích po delší časové období dokonce smrt (Diebold, 2003; Reed, 1988).

Velcí producenti pyrolyzních kapalin (Ensyn, Dynamotive, BTG, Fortum) mají své vlastní bezpečnostní předpisy pro práci s nimi. Czernik (Bridgwater et al., 1999) připravil ve spolupráci s IEA Bioenergy Pyrolysis Activity Group 1999 podklady k vytvoření bezpečnostních pravidel (norem) pro pyrolyzní kapaliny založené na v té době dostupných informacích. Podobné materiály vznikly i na Aston University ve Velké Británii a také jiných vědeckých pracovištích. Týkaly se zejména adekvátního bezpečnostního vybavení a pomůcek.

V současné době poptávka po pyrolyzních kapalinách postupně roste a je nutné zajišťovat jejich transport tak, aby byl co nejvíce bezpečný a ohleduplný k životnímu prostředí (Peacocke et Bridgwater, 2000). Pyrolyzní kapaliny jsou klasifikovány jako nebezpečné nebo ohrožující látky v přepravě a byla pro ně vytvořena vlastní klasifikace: „UN 1993 Flammable Liquid, N.O.S., (Fast Pyrolysis Liquid), 3,1(a), 2(a),1“. Tato klasifikace je platná pro pyrolyzní kapaliny obsahující méně než 10% hm. kyseliny octové, pro vyšší obsahy kyseliny octové je vyžadována

jiná klasifikace, ačkoliv do současné doby nejsou běžně produkovány kapaliny obsahující více než 5% hm. kyseliny octové (Oasmaa et Czernik, 1999).

2.2.3.10. Využití

Při použití pyrolyzní kapaliny (oleje) jako výchozího paliva pro pomaloběžné dieslové motory byly shledány problémy se stárnutím pyrolyzního oleje s nežádoucími příměsemi. Ačkoliv dieslové motory obsahovaly palivové filtry odstraňující tyto nežádoucí částice, docházelo při využívání pyrolyzního oleje k zanášení vstřikovačů ze zpětné recirkulace paliva, zejména částicemi většími než 10 μm až více než 40 μm .

Vědecké studie vysvětlují tento jev polymerizačními reakcemi, které nastávají v zahříváném pyrolyzním oleji (Shihadeh, 2002). Rossi (1993) uvádí ucpávání vstřikovačů o průměru 0,8mm při zahřátí pyrolyzního oleje již na teplotu odpovídající 90°C, také jiní autoři zmiňují ucpávání zahřátých vstřikovačů (Gust, 1997a; Huffmann et Freel, 1994;). Usazeniny vznikající v palivovém systému lze snadno odstraňovat propláchnutím alkoholem (methanolem), jak uvádí Leech a Webster (1999). Také Gust (1997) uvádí potřebu propláchnutí alkoholem jako nutnou komplikaci při využití pyrolyzního oleje v malých spalovacích systémech. Skutečnost, že pyrolyzní olej není mísitelný s naftou, omezuje jeho využití v běžných spalovacích zařízeních (Andrews et al., 1997; Gust, 1997).

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1. Cíle disertační práce

Cílem předkládané disertační práce bylo ověření stávajících metod a návrh metody nové sloužící k posouzení organického materiálu a určení jeho vhodnosti ke zpracování jednou z bioenergetických technologií.

Ke splnění cíle disertační práce byly stanoveny následující cíle dílčí :

Ověření stávajících laboratorních metod k posouzení vhodnosti organického materiálu (substrátu) pro dané bioenergetické technologie.

Ověření stávajících metod posuzujících methanogenní aktivitu organického materiálu.

Návrh a vyzkoušení nové metody stanovující anaerobní rozložitelnost organického materiálu.

Shromáždění teoretických podkladů pro rychlou pyrolýzu biomasy.

Předpokládané nové vědecké výsledky disertační práce:

Návrh a vyzkoušení nové metody pro laboratorní posouzení organického materiálu k procesu anaerobní digesce.

3.2. Vzorky organického materiálu

Pro posouzení veškerých uváděných metod a stanovení byly využívány vzorky organických materiálů ze zemědělských výroby. Tyto materiály byly vždy upravovány dle níže uvedených postupů.

Pro inkubační testy byla využívána odpadní voda z ČOV České Budějovice (pro testy BSK) a jako hlavní zdroj inokula sloužila procesní suspenze z bioplynové stanice ČOV Třeboň, později ze zemědělské bioplynové stanice BPS Chotýčany.

Podrobný seznam substrátů se základními charakteristikami je obsažen v příloze této práce.

3.2.1. Základní úprava vzorků a inokula

3.2.1.1. Mechanická dezintegrace

Materiál pro fermentační testy využívající větší navážku vzorku byl homogenizován pouze částečně a velikost částic nepřesáhla dva centimetry. Pokud bylo nezbytné, byly před homogenizací ze vzorku odstraněny nežádoucí příměsi.

Hrubé rozemletí materiálu za vlhka bylo provedeno pomocí laboratorního mlýnku, vláknitý materiál musel však být před vlastním mletím zkrácen, čímž bylo zabráněno jeho namotávání na nůž mlýnku. Vlastní mletí mlýnkem trvalo 30 s, velikost částic po této době nepřesáhla 10 mm.

Před intenzivní dezintegrací vysokootáčkovým mlýnkem musel být materiál nejprve vysušen při teplotě vyšší než 65°C tak, aby nedocházelo k jeho nadměrnému zahřívání v důsledku ucpávání síta mlýnku. Velikost částic takto homogenizovaného materiálu byla menší než 1,5 mm, doba mletí odpovídala 60 s při 7500 ot/min.

Kapalné vzorky byly homogenizovány pomocí laboratorního mixeru při době mixování přibližně 3 minut či filtrovány přes hrubé síto.

3.2.1.2. Filtrace kanalizační vody

Z kanalizační vody využívané pro inkubační testy BSK byly filtrací přes jemné síto odstraněny hrubě dispergované látky.

3.2.1.3. Skladování

Vysušené vzorky byly vždy skladovány v prodyšných papírových obalech při pokojové teplotě. Vzorky o nižším obsahu sušiny (kapalné vzorky) a jiné suspenze byly dlouhodobě skladovány v uzavíratelných plastových nádobách za stálé teploty – 18°C v mrazicím boxu. Vzorky, které se zpracovávaly v krátkém časovém intervalu, byly skladovány za konstantní teploty do 4°C v chladicím boxu.

Pozvolné rozmrazování vzorků probíhalo vždy za pokojové teploty, délka rozmrazení nepřesáhla dobu 24 hodin. Vzorky po rozmrazení byly ihned zpracovány, případně dočasně skladovány při teplotě do 4 °C v chladicím boxu.

3.2.1.4. Inokulum

Anaerobní kal sloužící jako inokulum byl získáván z bioplynové stanice ČOV Třeboň zpracovávající vepřovou kejdu a kanalizační kaly, později byl kal odebírán ze zemědělské bioplynové stanice zpracovávající hovězí kejdu a kukuřičnou siláž. Zdroj čerstvého kalu byl volen v závislosti na připravovaném fermentačním testu, zejména na druhu zkoumaného materiálu. Bylo případně přistoupeno k adaptaci laboratorně inkubovaného inokula na daný druh testovaného substrátu, tím se předešlo nežádoucí adaptaci anaerobních kultur v průběhu testu.

Získávaný čerstvý kal nebyl pro testy používán ihned, ale teprve po určité době, za které byl skladován při teplotě odpovídající teplotě testu tak, aby se co nejvíce omezila jeho vlastní produkce plynu. Teprve takto „vyhladovělé“ inokulum bylo použito pro účely fermentačních testů.

Inokulum bylo skladováno za anaerobních podmínek při teplotě cca 35°C ve fermentačních 5 litrových nádobách opatřenými kvasnými zátkami, bylo také dle potřeby „oživováno“ přidávkem lignocelulózového materiálu nebo přidávkem čerstvého kalu. Přídavky čerstvého materiálu byly zpočátku aplikovány dle normy DIN 38414-8, a to množstvím fytomasy přidávané do 10 litrů inokula do 5% obsahu sušiny, ale později bylo přistoupeno ke změně a dávky byly zvýšeny dle povahy přidávaného materiálu a charakteristiky inokula. Takto kultivovaný – „oživovaný“ kal byl v testech využíván vždy, ale až po určité době, kdy již nebyla jeho endogenní produkce tak významná.

Čerstvý anaerobní kal byl vždy zbaven hrubých příměsí a přidávaný lignocelulózový materiál byl patřičně homogenizován z důvodu vytvoření co nejvíce homogenní suspenze pro pozdější získání reprezentativního dílu kalu. Pro většinu testů anaerobní fermentace bylo preferováno využití inokula produkovaného již v laboratoři před čerstvým kalem z BPS. Inokulum obsahovalo vždy více než 50% hm. organické sušiny v celkové sušině.

3.3. Základní analytická stanovení

3.3.1. Stanovení celkové sušiny

Stanovení celkové sušiny vzorku probíhalo standardní gravimetrickou metodou - stanovením navážky čerstvého materiálu a jeho vysušením do konstantní hmotnosti při teplotě 105°C.

3.3.2. Stanovení organických látek – ztráta žiháním

Organické látky byly stanovovány jako podíl spalitelných látek ztracených při žihání celkové sušiny vzorku. Ztráta žiháním byla prováděna za teploty 550°C do získání konstantní hmotnosti vzorku (průměrná doba žihání 2 hodiny). Ze zjištěných rozdílů hmotnosti byl stanoven obsah popelovin a organických (spalitelných) látek.

Výpočet

$$\text{Celková sušina} = \frac{M_2}{M_1} \cdot 100 \quad [\% \text{ hm}] \qquad \text{Ztráta žiháním} = \frac{M_2 - M_3}{M_1} \cdot 100 \quad [\% \text{ hm}]$$

M_1 = navážka vzorku [g]

M_2 = hmotnost sušiny analyzovaného vzorku [g]

M_3 = hmotnost zbytku vzorku po žihání [g]

3.3.3. Stanovení CHSK_{Cr}

Pro stanovení chemické spotřeby kyslíku byly využity dvě metody, hodnota CHSK byla zjišťována v sušině vzorku a v jeho výluhu. Hlavní využívanou metodou pro stanovení CHSK byla uzanční dichromanová metoda. Princip této metody spočívá v oxidaci organických látek vzorku dichromanem draselným v silně kyselém prostředí kyseliny sírové s přidáním síranem rtuťnatým při dvouhodinovém varu za teploty 148°C. Množství dichromanu draselného spotřebovaného na oxidaci organických látek se stanovovalo po dokončení varu a ochlazení oxidovaného vzorku titračně roztokem Mohrovy soli (roztok $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) na

indikátor feroin. Metodika pracovního postupu vycházela z metodiky uvedené v odborné literatuře (Horáková et al., 1981).

Druhou využívanou metodou byla modifikovaná dichromanová semimikrometoda stanovující hodnotu $CHSK_{Cr}$ spektrofotometricky při vlnové délce (λ) 600nm v kyvetách firmy Merck (č. 11485 – do 10 000mg/l $CHSK_{Cr}$). Ke stanovení byl využíván spektrofotometr Merck NOVA 60 AQA a kyvetový termostat.

3.3.4. Stanovení BSK_5

Biologická spotřeba kyslíku byla zjišťována ve výluhu i v suspenzi vzorku v pětidenní inkubaci, a to dvěma zředovacími metodami. Inkubace vzorků při využití obou metod probíhala za stálé teploty 20°C ve stinném prostředí. Pro hlavní měření BSK_5 byl použit respirometrický systém OxiTop zejména pro svou jednoduchost měření. Systém OxiTop Control pro měření BSK se skládal z klimatizovaného boxu, míchacího elektromagnetického plata, měřících jednotek (manometrická hlavice, reakční zatmavená láhev), datové jednotky a obslužného softwaru ACHAT.

Druhá metoda využívána pro menší série vzorků je založena na modifikaci klasické Winklerovy metody. Metoda využívá fotometrické stanovení hodnot BSK_5 pomocí testů Spectroquant za využití fotometru Merck NOVA 60 AQA .

3.3.4.1.1. Výpočet BSK_5 pro vzorek ředěný inokulovanou vodou

$$BSK_5 = \frac{c_{m_0(O_2)} - c_{m_5(O_2)} - BSK_{5zv}(10^3 - V_v) \cdot 10^{-3} - BSK_{5ink}(V_i \cdot 10^{-3})}{V_v \cdot 10^{-3}}$$

$$BSK_{5zv} = c_{m_0(O_2)} - c_{m_5(O_2)}$$

$$BSK_{5ink} = \frac{c_{m_0(O_2)} - c_{m_5(O_2)} - BSK_{5zv}(10^3 - V_v) \cdot 10^{-3}}{V_v \cdot 10^{-3}}$$

BSK_{5zv} = biochemická spotřeba kyslíku zředovací vody v pětidenní inkubaci [$mg \cdot l^{-1}$]

BSK_{5ink} = biochemická spotřeba kyslíku inokula v pětidenní inkubační době [$mg \cdot l^{-1}$]

$C_{m_0(O_2)} = h$ motnostní koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vzorku nultý den [$mg \cdot l^{-1}$]

$C_{m_5(O_2)}$ = hmotnostní koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vzorku nultý den [$mg \cdot l^{-1}$]

V_v = objem původního vzorku vody v 1 l zředěného vzorku [ml]

V_i = objem inokula v 1 l zředěného vzorku [ml]

Jako kapalné medium byl používán Baumannův roztok A (v 1000ml H_2O 5,44g KH_2PO_4 ; 6,97g K_2HPO_4 , 10,7g NH_4Cl) + B (v 1000ml H_2O 2,19g $CaCl_2 \cdot 6H_2O$; 2,03g $MgCl_2 \cdot 6H_2O$; 0,4g $FeCl_2 \cdot 4H_2O$; 6,3mg $MnCl_2$; 1,0mg $ZnCl_2$; 0,6mg $CuCl_2$; 0,2mg $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$; 12,2mg $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$; 1,0mg $NiCl_2 \cdot 6H_2O$; 1,0mg Na_2SeO_3) v deionizované vodě s pH 7,0, který byl zaočkován přídatkem 2 % obj. inokula (odpadní voda).

3.3.5. Stanovení rychlostních konstant biochemické oxidace

Metodika využívá k výpočtu rychlostních konstant biochemické oxidace organických látek stanovení biochemické oxidace organických látek v čase.

Princip výpočtu vychází z předpokladu, že biochemická oxidace organických látek je reakce prvního řádu úměrná ke zbývajícím koncentraci dosud neoxidovaných organických látek:

$$\frac{dy}{dt} = K_1(L - y) = K_1L_z$$

kde: L = celkové BSK, y = BSK v čase t , L_z = zbývajících BSK, k_1 , K_1 = rychlostní konstanty

Integrací od 0 do t tohoto vztahu lze získat rovnici:

$$L_z = L \cdot e^{-K_1 t} = L \cdot 10^{-K_1 t}$$

Obecně pro BSK v čase pak platí:

$$y = L(1 - 10^{-k_1 t})$$

3.3.6. Stanovení C_{ox}

Ke stanovení celkového uhlíku v organickém materiálu byla použita metoda stanovení oxidovatelnosti mokrou cestou s titračním zakončením. Metoda využívá k oxidaci organických látek roztok dichromanu draselného s kyselinou sírovou a síranem stříbrným, nespoteřovaný dichroman je titračně stanovován roztokem Mohrovy soli. Pracovní postup metody a koncentrace použitých činidel vycházely z metodik uvedených v odborné literatuře (Sedláček et al., 1978).

Výpočet koncentrace

$$C_{ox} = \frac{(b-a) \cdot 15}{x \cdot \sigma_0} \quad [\% \text{ v sušině}]$$

a – spotřeba odměrného roztoku Mohrovy soli při titraci vzorku [ml]

b – spotřeba odměrného roztoku Mohrovy soli při titraci slepého vzorku [ml]

x – navážka vzorku [g]

σ_0 – koncentrace sušiny vzorku [%]

15 – přepočítávací koeficient pro 0,5N roztok Mohrovy soli a pro předpoklad, že 1ml 1 N $K_2Cr_2O_7$ oxiduje 0,003g uhlíku na oxid uhličitý

3.3.7. Stanovení pH

Hodnota pH byla stanovena potenciometrickou metodou pomocí kapesního pH metru s teplotní kompenzací (WTW 330i). Pro měření byla využívána kombinovaná gelová elektroda (WTW Sentix 41). Hodnota pH byla zjišťována jak přímo v neředěné suspenzi, tak i ve vodním výluhu vzorku dle postupu (navážka 200g, ředění 1:2, filtrace výluhu). Měření pH výluhu probíhalo za ustálených podmínek v laboratoři.

3.4. Laboratorní fermentační testy

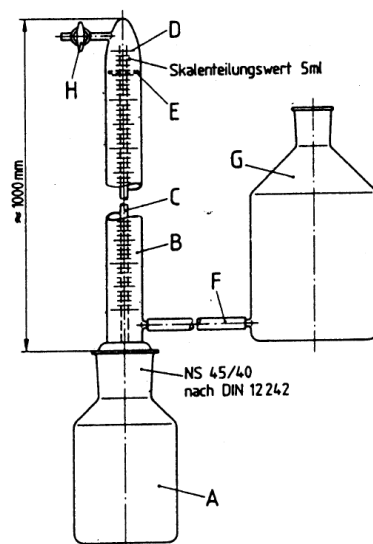
3.4.1. Stanovení methanogenní aktivity volumetrickými metodami

K posouzení anaerobní rozložitelnosti materiálů byla využita laboratorní aparatura vycházející z metodiky státní německé normy VDI 4630 potažmo starší normy DIN 38414-8. Norma DIN 38414-8 standardizuje parametry volumetrické aparatury, avšak k účelu měření nebyla standardizovaná aparatura použita, a to zejména z důvodu její finanční nákladnosti. Bylo proto přistoupeno k vytvoření vlastní měřicí aparatury, která se odlišovala použitým laboratorním vybavením (odlišné objemy a použité materiály), ale principem měření se shodovala se standardizovanou aparaturou.

Obrázek 4: Standardizovaná volumetrická aparatura

Legenda

- A) Reagenční láhev (500ml)
- B) Eudiometrická trubice (300 – 400ml)
- C) Skleněná trubice \varnothing 6mm
- D) Nulovací otvor v trubici
- E) Upevnění aparatury
- F) Pružné spojení hadic
- G) Zásobní láhev (750ml)
- H) Uzavírací kohout



3.4.1.1.1. Navržená aparatura - princip měření

Z reakční nádoby, která obsahuje testovací suspenzi vzorku, je anaerobním procesem produkován plyn. Takto vytvářený plyn vytlačuje kapalinu z eudiometrické trubice do zásobní lahve. Jelikož zásobník kapaliny není uzavřený, na kapalinu působí atmosférický tlak. Lze tedy po vyrovnání hladin eudiometrické trubice a zásobní lahve odečítat z kalibrované stupnice eudiometrické trubice objem vyprodukovaného plynu. Nulování aparatury je prováděno vyrovnáním tlaků a odpuštěním plynu do atmosféry trojcestným ventilem.

3.4.1.1.2. Technické řešení

Při konstrukci zařízení ENKI se vycházelo z předpokladu využít co nejvíce běžných laboratorních pomůcek tak, aby výsledná aparatura byla investičně nejméně nákladná. Avšak s cílem dosáhnout konstrukce, která umožní provádět co nejvíce testů.

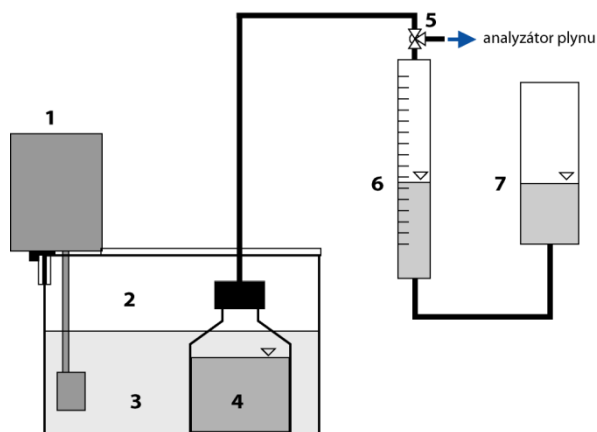
Základ zařízení tvoří kovová konstrukce držící eudiometrické trubice, které jsou silnostěnnými silikonovými hadicemi spojené s reakčními a zásobními lahvemi. Všechny reakční lahve jsou umístěny v temperované vodní lázni, která je tvořena plastovou vanou s poklopem a laboratorním termostatem.

Skleněné reakční lahve byly zvoleny o objemu 1000ml. Pro dosažení co nejlepší přesnosti stanovení byl k měření využíván vždy co největší objem reakčních lahví pro kapalnou fázi vzorku, a to až do objemu 700ml, zbylý volný objem byl vždy ponecháván pro případ

nadměrného pění testovací suspenze vzorku (pěna ucpávala hadice a vnikala do eudiometrické trubice).

V průběhu práce došlo k několika technickým obměnám aparatury, které byly způsobeny nevhodnou konstrukcí či materiálem. Aparatura je stále zdokonalována.

Obrázek 5: Volumetrická aparatura vzor ENKI 2007



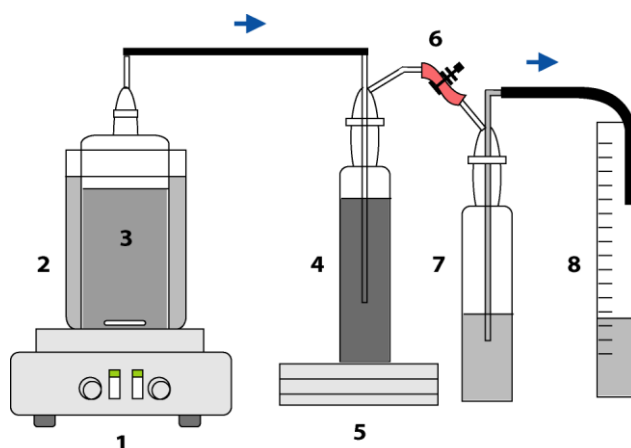
Legenda

- 1) Laboratorní termostat
- 2) Izolovaná plastová nádrž opatřená poklopem
- 3) Vodní lázeň s drtí polystyrenu (ochrana proti nadměrnému výparu)
- 4) Reagenční láhev (1000ml)
- 5) Trojcestný ventil
- 6) Plynoměrná byreta (450ml)
- 7) Zásobní nádoba s uzavírací kapalinou (500ml)

Jako druhá aparatura pro vsádkové testy byla použita aparatura s odlišným zapojením, která byla sestavena z dílů běžného laboratorního vybavení.

Specifikum této aparatury je její možnost částečného kvalitativního stanovení bioplynu (přesněji stanovení koncentrace methanu). Produkovaný bioplyn je z volného objemu reakční lahve odváděn přes absorpční roztok 2M hydroxidu sodného, který z bioplynu odstraní oxid uhličitý. Takto upravený plyn je poté přirozeným přtlakem odváděn do druhé lahve, ve které je obsažena těsnící kapalina. Ta je přtlakem methanu a minoritních plynů vytlačována do záchytné odměrné nádoby. Uzavírací kapalina byla použita dle normy DIN 38414-8. Po přepočítání vytlačené kapaliny a korekce chyby atmosférického tlaku byl spočítán výtěžek methanu.

Obrázek 6: Zapojení 2. volumetrické aparatury (Holm-Nielsen et al., 2006)



Legenda

- 1) Elektromagnetické míchadlo s temperací
- 2) Reagenční láhev (1000ml)
- 3) Kádinka (2000ml)
- 4) Promývačka A (roztok KOH)
- 5) Podstavec
- 6) Hadicové spojení s tlačkou
- 7) Promývačka B (uzavírací kapalina)
- 8) Zásobní láhev na uzavírací kapalinu

3.4.1.2. Uzavírací kapalina

Pro uzavírací kapalinu byl zvolen roztok 30ml H_2SO_4 , 200g $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ rozpuštěných v 1 litru destilované vody s přidavkem několika kapek indikátoru methyl-oranže pro zabarvení roztoku.

3.4.1.3. Fermentační batch test vzorku

Pro zajištění standardizovaného průběhu fermentačního testu bylo preferováno organické zatížení testovací suspenze vzorku s ohledem na organické zatížení běžné v praxi v závislosti na doporučených koncentracích normou VDI4630. Ta doporučuje pro suspenzi vzorku a inokula koncentraci 20 až 100 g organických látek na litr, poměr vzorku a inokula 4:1, celkové zatížení koncentrací sušiny v suspenzi nepřekračující 10% hm. Při výpočtu celkové velikosti navážky suspenze byla také zohledňována kapacita volumetrické aparatury ve vztahu k denní produkci plynu. Každá série testů se zakládala se třemi opakováními z důvodu zajištění průkaznosti prováděného pokusu.

3.4.1.3.1. Výpočet koncentrace organických látek testovací suspenze

Vzorec pro výpočet optimálního poměru organických látek inokula a testovaného materiálu:

$$\frac{c_{OL} \text{ vzorku}}{c_{OL} \text{ inokula}} \leq 0,5$$

U připravené testovací směsi vzorku a inokula bylo před započítáním fermentace změřeno pH suspenze. V případě zvýšené kyselosti suspenze byla provedena úprava pH přidavkem roztoku hydroxidu sodného, pro korekci zásaditého charakteru suspenze byl použit roztok kyseliny chlorovodíkové. Po skončení fermentačního testu bylo provedeno opětovné měření pH. Dle normy DIN 38414-8 byly za průkazné testy brány v úvahu pouze ty vzorky suspenzí, které po skončení fermentačního testu přesahovaly hodnotu pH 6,2. U nižších hodnot pH byla předpokládána inhibice methanogenních společenstev a nerovnováha anaerobního procesu.

3.4.1.4. Podmínky testu

Charakteristiky prostředí jednotlivých testů

Test	Aparatura	Teplota prostředí	Délka inkubace
Vsádkový	Oxitop control	35°C (±0,5°C)	21 dní
Vsádkový	ENKI	40°C (±1°C)	30 nebo 60 dní
Vsádkový	Dle Nielsena	40°C (±1°C)	30 dní
Kontinuální, vsádkový	Fermentor FAFE	40°C (±1°C)	60 dní

3.4.1.5. Založení referenčního fermentačního batch testu

Referenční test probíhal za stejných podmínek jako test vzorku (mezofilní teplota, délka inkubace). Jako referenční substrát, který lze beze zbytku procesem anaerobní digesce rozložit, byla využívána mikrokrytalická celulóza o navážce 50g.

3.4.1.5.1. Odečet produkce plynu

Odečet hodnot produkce bioplynu byl prováděn denně současně s korekcí chyby způsobené změnou atmosférického tlaku. Po odečtu měření byla aparatura – eudiometrická trubice nastavena na nulovou hodnotu, případně byla také doplněna těsnící kapalina.

3.4.1.5.2. Výpočet endogenní produkce plynu inokula

Endogenní produkce inokula byla stanovována z měření referenčního testu. Hodnoty endogenní produkce byly odečítány od hrubé produkce vzorku.

$$V_{iv(korekce)} = \frac{\sum V_{iv} \cdot m_{iv}}{m_{ik}}$$

$V_{iv(korekce)}$ = objem plynu z inokula [ml]

m_{iv} = hmotnost inokula vzorku [g]

m_{ik} = hmotnost inokula kontrolního vzorku [g]

3.4.2. Práce s prototypem laboratorního fermentoru FAFE A01

Laboratorní fermentor vzor FAFE A01 byl navržen a využit k provádění semikontinuálních či případných vsádkových testů.

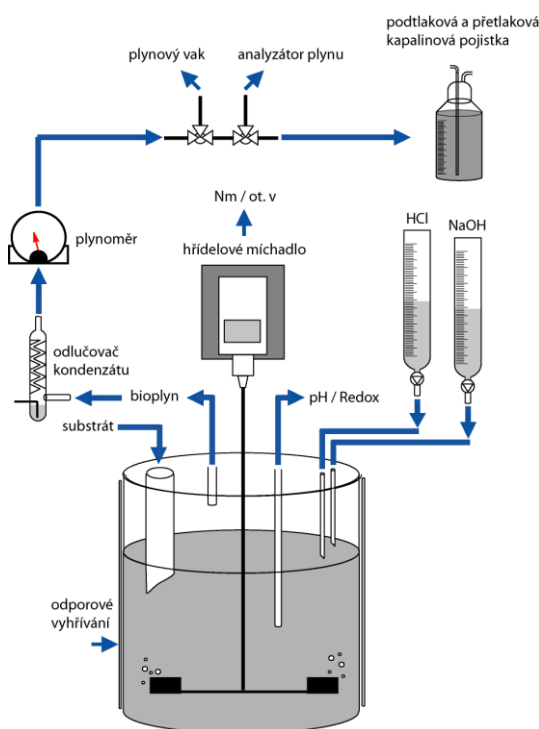
Model fermentoru FAFE disponuje objemem 15l (využívaný užitečný objem byl 10 litrů), je opatřen dvěma standardními vstupy pro elektrody a dvěma vstupy pro aplikaci tlumících roztoků, pojistným přetlakovým ventilem, vstupním otvorem pro dávkování substrátu, jedním vypouštěcím otvorem s mechanickým uzávěrem, který disponuje standardním 1 coulovým šroubením. Plynulý ohřev fermentoru zajišťuje odporové vyhřívání s automatickou regulací a přepětovou ochranou, to je umístěno mezi vnitřím a vnějším pláštěm fermentoru. Konstrukce fermentoru je dvouplášťová, prostor mezi dvěma plášti je vyplněn PUR izolací, odizolované je i dno fermentoru.

Specifikum fermentoru FAFE je hřídelové laboratorní míchadlo, které umožňuje nastavit široké spektrum otáček míchání, ale také poskytuje informace o zatížení míchací hřídele fermentoru testovaným materiálem, které se projevuje změnou kroutícího momentu.

Vyvíjený bioplyn z fermentoru byl nejdříve odváděn do odlučovače kondenzátu, který zbavoval vyprodukovaný bioplyn nadbytečných vodních par, teprve takto ošetřený plyn byl pouštěn do kapalinového plynoměru. Pro potřeby kvalitativní analýzy bioplynu byl využíván jako vzorkovnice pro potřeby plynového NFIR analyzátoru plynový vak.

Celý plynový systém aparatury FAFE byl předtlakově a podtlakově jištěn kapalinovou pojistkou.

Obrázek 7: Laboratorní model fermentoru vzor FAFE A01



3.4.3. Stanovení methanogenní aktivity vzorku systémem OxiTop

Systém aparatury OxiTop využívá screeningovou metodu, kterou popisuje norma ČSN 11734. Metoda slouží k hodnocení rozložitelnosti organických látek za anaerobního rozkladného procesu. Aparatura využívá manometrické hlavice, které spolu s ovládacím systémem umožňuje kontinuální záznam změn hodnot tlaku (interval záznamu hodnoty tlaku odpovídá přibližně 12 minutám). Touto vlastností odpadla povinnost pravidelně ručně zaznamenávat přírůstky tvořeného plynu pro zjištění kinetiky produkce plynu.

3.4.3.1.1. Výpočet množství vyprodukovaného plynu z naměřených hodnot

Získané hodnoty manometrického měření se přepočítaly na hodnoty vyprodukovaného plynu či na hodnoty bilance uhlíku v plynné fázi a ve vzorku (suspenzi).

Výpočet uhlíku v plynné fázi vychází ze skutečnosti: 1 mol methanu a 1 mol oxidu uhličitého obsahuje 12g uhlíku, lze proto hmotnost uhlíku v plynné fázi vypočítat ze vztahu:

$$m = 12,011 \cdot 10^3 \cdot n$$

m = hmotnost uhlíku v miligramech v daném objemu vyprodukovaného plynu

12,011 = relativní atomová hmotnost uhlíku

n = látkové množství plynu v molech

Pro výpočet látkového množství plynu se vychází ze stavové rovnice ideálního plynu

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

P = tlak plynu [Pa]

V = objem plynu [m^3]

R = plynová konstanta [8,134 J/mol. K]

T = inkubační teplota [K]

$$n = p \cdot V \cdot 3,903 \cdot 10^{-8}$$

Výpočet látkového množství uhlíku v plynné fázi po odečtení hodnot slepého stanovení (čistá produkce uhlíku v methanu)

$$n_{CO_2(g).CH_4^{-1}} = \left\{ \frac{\Delta p \cdot V_g}{R \cdot T} \right\} 10^{-4}$$

Výpočet látkového množství uhlíku v kapalně fázi

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

Výpočet látkového množství uhlíku v plynné a kapalně fázi

$$n_{CO_2(l).CO_2(g)} = \left\{ \frac{p_3 \cdot (V_g - V_{HCl} - V_{KOH}) - p_2 \cdot (V_g - V_{HCl})}{R \cdot T} \right\} \cdot 10^{-4}$$

Výpočet celkového látkového množství transportovaného uhlíku

$$n_{celkový} = n_{CO_2(g).CH_4^{-1}} + n_{CO_2(l)}$$

Výpočet celkového počtu molů transportovaného uhlíku v methanu v plynné fázi

$$n_{c_{CH_4}} = (n_{CO_2(g).CH_4^{-1}} + n_{CO_2(l)}) - n_{CO_2(l).CO_2(g)}$$

Přepočítání na hmotnost

$$m_{CO_2(g).CH_4^{-1}} = \left\{ \frac{\Delta p \cdot V_g}{R \cdot T} \right\} \cdot 1,2$$

3.4.3.1.2. Výpočet stupně biologického rozkladu

Stanovení stupně primárního biologického rozkladu bylo zjišťováno z koncentrace celkového uhlíku (C_{ox}), který byl stanovován na začátku a na konci testů.

$$D_h = \frac{12000 \cdot 0,1 \cdot (\Delta p \cdot V_h)}{R \cdot T} \cdot 100$$
$$D_h = \frac{12000 \cdot 0,1 \cdot (\Delta p \cdot V_h)}{c_{c,v} \cdot V_l} \cdot 100$$

V_h = objem v plynné fázi ve zkušební ládvi v litrech

Δp = rozdíl počátečního a konečného tlaku ve fermentační ládvi

0,1 = přepočítávací koeficient z m^3 na litry

$c_{c,v}$ = koncentrace zkoušeného vzorku v mg uhlíku na 1 litr

3.5. Výsledky a jejich diskuze

Z provedených testů byly získány nejen charakteristiky zkoušených organických materiálů, ale také poznatky o vhodnosti vybraných aparatur a metodických postupů k posuzování substrátů pro proces anaerobní digesce.

3.5.1. Problematika zakládání vsádkových testů

3.5.1.1. Kvalita inokula

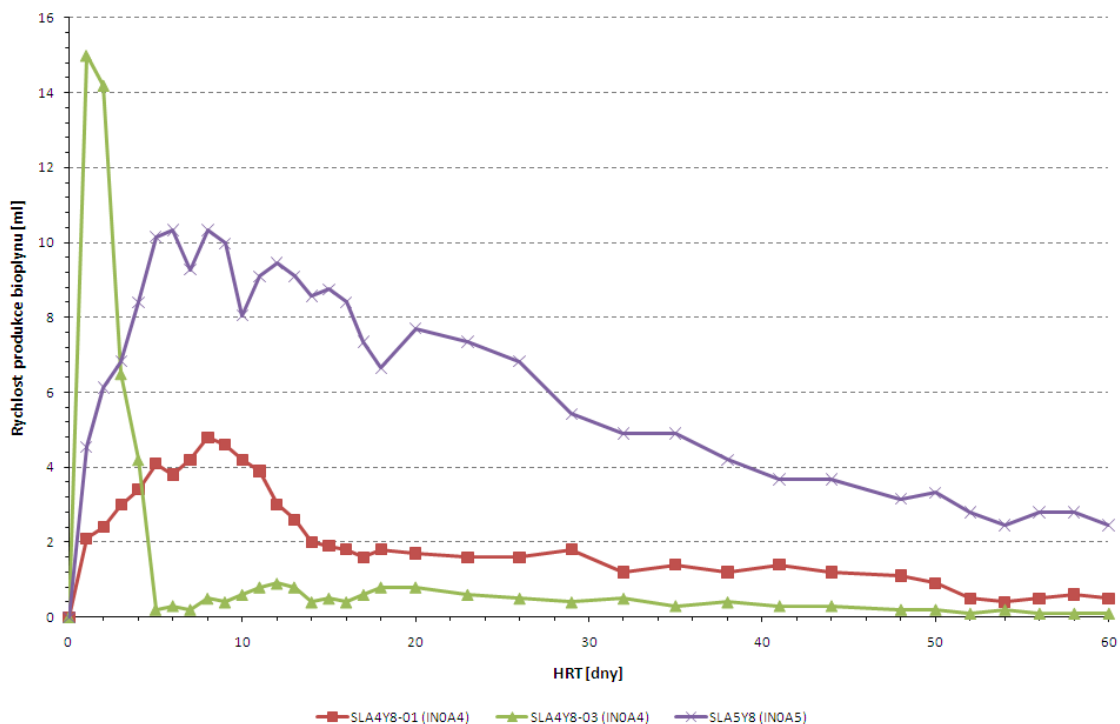
V testech anaerobní rozložitelnosti se potvrdila důležitost hodnotného očkovacího media (inokula). Nevhodné inokulum negativně ovlivňuje průběh testu a jeho vypovídací hodnotu. V prováděných pokusech se prokázal vliv důležitého faktoru - zdroje inokula. Zdroj inokula (původ anaerobního kalu) přímo ovlivňuje nejen druhové zastoupení či počet bakteriálních společenstev, ale také množství potenciálně inhibujících látek. Všechny tyto vlastnosti inokula přímo ovlivňují lag fázi procesu a působí tak nepřímo na kvalitu prováděného testu.

V provedených testech bylo zjištěno, že jako vhodný zdroj inokula pro laboratorní testy využívající kofermentaci lignocelulóзовých materiálů se nejlépe osvědčily zemědělské bioplynové stanice, které daný typ substrátu přímo zpracovávají. Anaerobní kal z těchto provozů není povětšinou zatížen většími koncentracemi inhibičních látek a také kultury anaerobních bakterií obsažené v kalu jsou již plně adaptovány na daný druh materiálu. Na důležitost kvality inokula pro laboratorní testy poukazují Amon et al. (2006) a Mähner et al. (2005), kteří spatřují v kvalitě inokula největší úskalí pro zdárný průběh laboratorních fermentačních testů.

V případě použití anaerobního kalu z bioplynových provozů ČOV bylo zjištěno prodloužení lagové fáze, které lze přičíst nedostatečné adaptaci mikrobiálních kultur pro daný druh testovaného substrátu. Bylo prokázáno, že v daných podmínkách laboratorních testů se nedostatečná adaptace inokula projeví v samotném výsledku testu. Hodnoty výsledku testu se v takovémto případě vyznačují celkově nižším methanovým výtěžkem a nižší počáteční rychlostí produkce plynu za standardní dobu testu. Někteří autoři proto doporučují ve svých pracích pro zajištění řádného průběhu fermentačního testu vlastní dokultivaci inokula (Amon et al., 2004).

V sérii testů bylo ověřeno využití vlastního inkula, které bylo za tímto účelem kultivováno v laboratoři.

Graf 1: Vliv kvality inkula na průběh testu



Výše uvedený graf znázorňuje kvantitativní produkci bioplynu za dobu inkubace vzorků inkula. Z křivky vzorku SLA4Y8-03 je patrná vysoká počáteční produkce plynu, která je způsobena aerobním prostředím v počátku testu. Nedostatečně zajištěné anaerobní prostředí tohoto testu podpořilo průběh oxidativních procesů, které se projevily zvýšenou produkcí oxidu uhličitého a změnou podmínek vhodných pro anaerobní proces.

Další problematickou vlastností inkulačního kalu je jeho nedostatečná anaerobní stabilizace. Ta je patrná na vzorku SLA5Y8, který se vyznačuje zvýšenou produkcí plynu. Tato endogenní produkce plynu u inkulačního kalu je v testech nežádoucí z důvodu značného zkreslení výsledku zejména pak u aparatur pracujících s malými reakčními objemy.

3.5.1.1.1. Provozní zkušenosti – zapracování fermentoru

Kvalita očkovací látky není problémem nejen laboratorních analýz, ale také praxe. Pro optimální zapracování fermentoru bioplynového zařízení je kvalita očkovacího média velmi důležitá. V provozních podmínkách byl pozorován značný vliv kvality inokulačního kalu na prvopočáteční parametry provozu. Lze konstatovat, že z provedených měření vyplývá přímé ovlivnění doby potřebné ke startu provozu zařízení na plný výkon, ale také ovlivnění následujícího provozního období.

Ve sledovaných zemědělských bioplynových zařízeních byla monitorována počáteční fáze provozu. Technologie zařízení a postup uvádění do provozu BPS byl u všech sledovaných bioplynových stanic totožný. Jednotlivá zařízení se od sebe odlišovala pouze kvalitativními vlastnostmi inokulačního média.

Tabulka 8: Základní charakteristiky inokulačních medií v praxi

Vzorek	Materiál	VL 1)	VLzž 1)	zž [%]	C 2)	Nc 2)	P 2)	K 2)	Mg 2)	Ca 2)	CHSKcr 3)	pH 4)
HK1C1	hovězí kejda	7,9	6,4	81,0	33,1	2,7	0,8	3,8	0,7	2,9	1 393	7,62
HK2C1	hovězí kejda	9,8	7,8	79,6	34,1	6,5	1,0	4,1	0,8	2,3		7,20
HK3C1	hovězí kejda	8,6	7,3	84,9								7,40
HK4C1	hovězí kejda	9,3	7,7	82,8		3,4	0,8	2,8	0,7	2,0		7,50
HK5C1	hovězí kejda	4,8	3,9	81,3	31,8	4,5	0,5	1,9	0,8			7,40
HK6C1	hovězí kejda	6,8	5,5	80,9		3,8	0,7	2,9	0,8			7,12

1) % hm. - údaj v původní hmotě

3) údaj v jednotkách g/kg ve 100% sušině

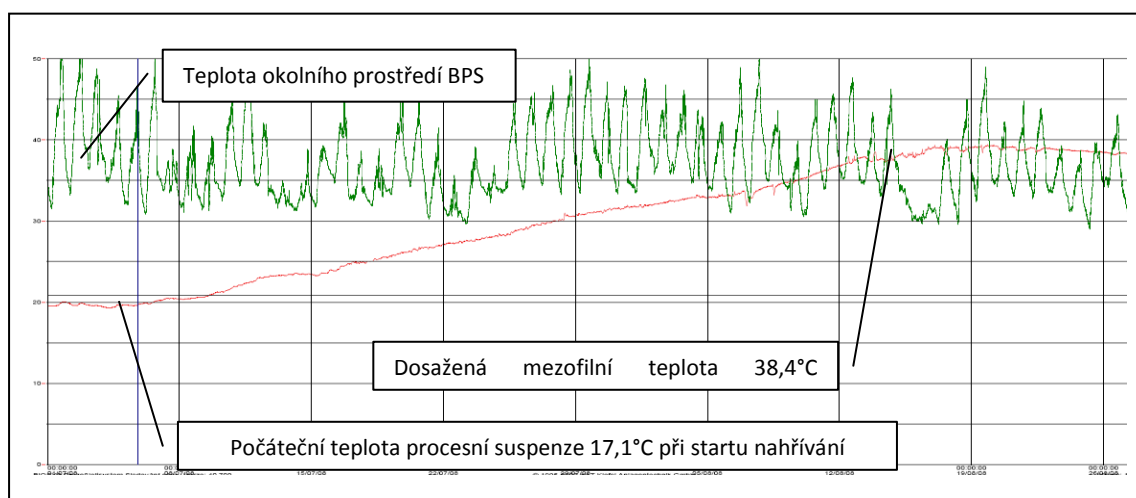
2) %hm. - údaj ve 100 % sušině

4) údaj v jednotkách pH

Hlavními zdroji pro očkovací médium v praxi bývají materiály, které jsou snadno dostupné v dostatečném množství. Využívány jsou proto přednostně organické odpadní materiály ze zemědělských výroby, zejména hovězí a vepřová kejda. Využití očkovacího kalu z jiného již funkčního provozu, které se zdá jako nejlepší řešení po stránce kvality inokulačního média, není většinou z důvodu větší finanční nákladnosti v praxi běžné.

Jedním z důležitých faktorů ovlivňující přímo průběh zapracování fermentoru je také rychlost nahřívání kalu na požadované teplotní optimum a s tím související procesy adaptace jeho biologie. Van Lier (1996) poukazuje na rizikovost náhlých teplotních změn pro anaerobní kultury a tím ovlivněnou stabilitu procesu.

Graf 2: počáteční náhřev fermentoru BPS-B



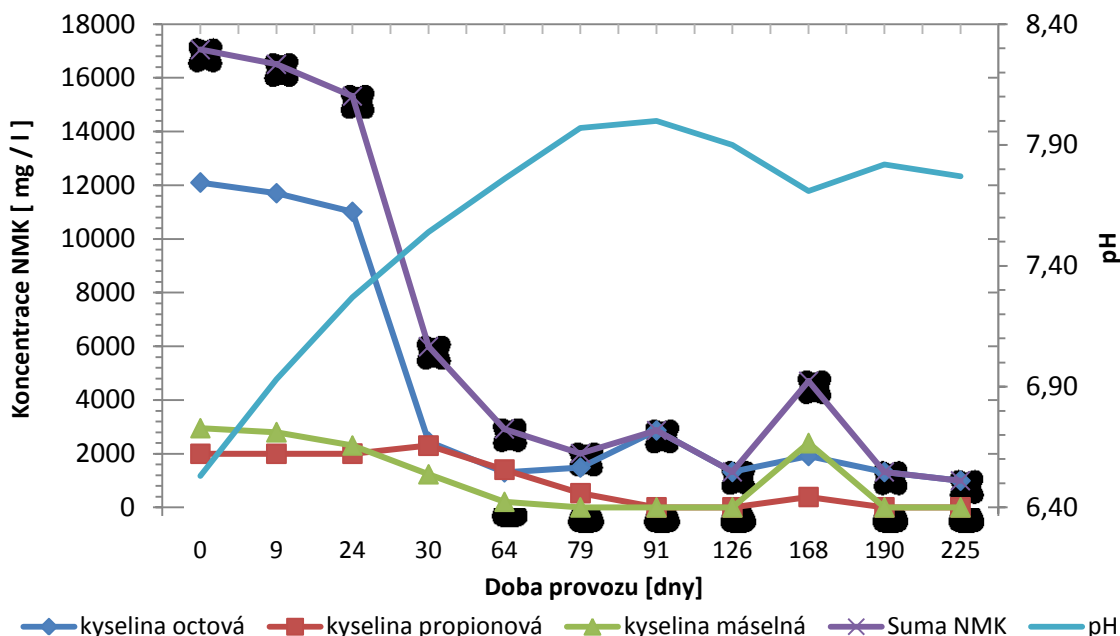
Počáteční náhřev fermentorů sledovaných zařízení byl prováděn s rychlostí ohřevu inokula v průměru 1°C za den. Byla odzkoušena i vyšší rychlost náhřevu (2,5°C za den), a to zejména pro dosažení kratší doby potřebné pro náhřev. Jako kompromis pro počáteční nahřívání inokula lze předpokládat využití různých teplotních rychlostí náhřevu, které vyhovují tepelnému zatížení stavebního objektu (fermentoru) a negativně neovlivní adaptaci kalu. V provozu bylo úspěšně odzkoušeno několik rychlostí náhřevu: do dosažení teploty 28°C kalu byl náhřev prováděn rychlostí přibližně 2,5°C za den, poté rychlostí již nižší přibližně 1°C za den. Tato variabilita rychlostí nahřívání byla odzkoušena na sledovaném provozu BPS-E, a to za dosažení podobných provozních charakteristik jako u jiných provozů. Různými rychlostmi náhřevu bylo dosaženo celkově kratší doby náhřevu a také nižších nákladů spojených s náhřevem. Zde je však třeba zdůraznit, že výše uvedené poznatky byly dosaženy na základě pouhého sledování provozu v dané fázi, do kterého nebyly zahrnuty veškeré faktory přímo se podílející na kvalitě inokulačního média.

Při této počáteční - lagové fázi procesu byly jako hlavní indikátory kvalitativních změn kalu sledovány koncentrace a poměry nižších mastných kyselin a kvalitativní vlastnosti produkovaného bioplynu.

Získané výsledky naměřených koncentrací NMK prokázaly, že při dodržení stejných podmínek prostředí a při použití podobného inokulačního média nelze vždy očekávat stejný průběh procesu při zapracování provozu bioplynového zařízení. Pokud zanedbáme vliv ostatních kvalitativních vlastností inokulačního média, pak lze předpokládat z provedených měření, že

hlavními odlišnými parametry inokulačních medií byla počáteční koncentrace organických látek, která se pohybovala od 4,1 do 8,2 kg $V_{l_{zz}}$ na 1 m³ reakčního prostoru fermentoru.

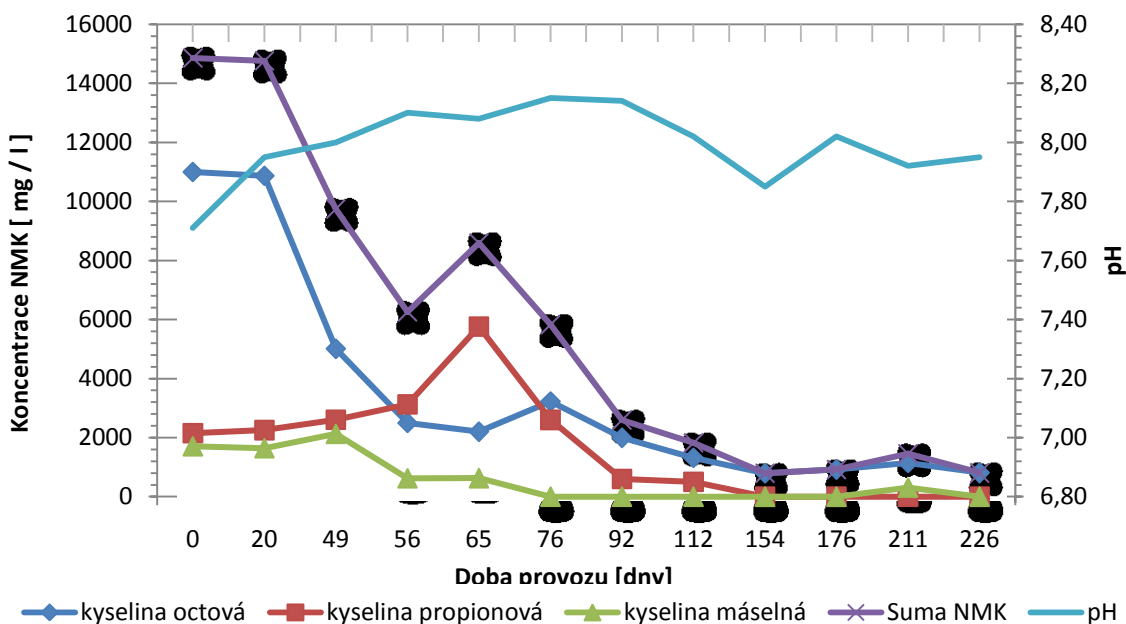
Graf 3: Charakteristiky NMK a pH v průběhu fermentace BPS-A



Z grafu jsou patrné vysoké koncentrace NMK již na samém počátku fermentace. Počáteční organické zatížení procesu bylo 6,4 kg $V_{l_{zz}}$ na 1 m³ reakčního prostoru fermentoru. Toto organické zatížení vycházelo z vlastností použitého inokulačního media (HK1C1). Jak je z grafu patrné, počáteční vyšší koncentrace NMK byly postupem času přirozeně se rozvíjející aktivitou methanogenních kultur redukovány na nižší koncentraci. Od 28. dne náhřevu fermentoru (dosažená teplota cca 32,5°C) byl do procesu přidáván v malých dávkách substrát (KS1C1). Zapracování fermentoru bylo realizováno velmi pozvolna s ohledem na vyšší látkové zatížení v začátku procesu. Po době 35 dnů bylo dosaženo již denní dávky odpovídající běžnému provozu. Na grafu č. 3 je znázorněna koncentrace NMK od 0. dne fermentace (den dosažení teploty 38°C), která dosáhla nejvyšších hodnot v počátku provozu.

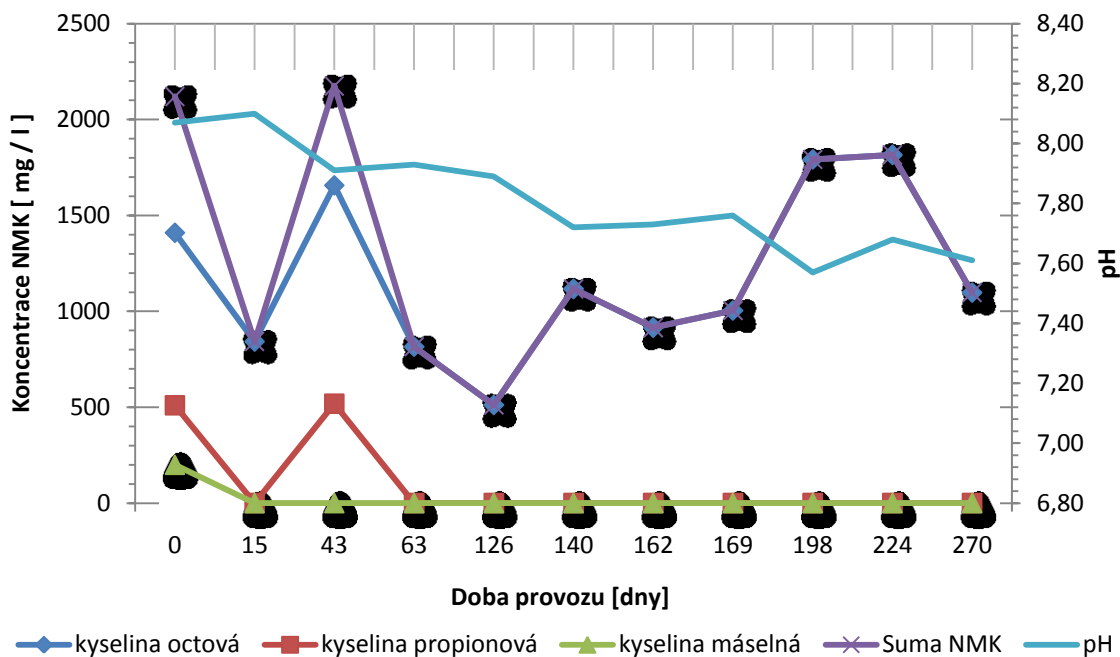
U druhého sledovaného provozu (BPS-B) byl zaznamenán také zvýšený obsah NMK v počáteční fázi provozu, snížení zvýšené koncentrace NMK si vyžádalo v tomto případě delší čas na zapracování fermentoru. Počáteční organické zatížení zde odpovídalo hodnotě 7,8 kg $V_{l_{zz}}$ na 1 m³ reakčního prostoru. Lze usuzovat, že delší adaptační čas v tomto případě byl podmíněn nejen vysokým počátečním organickým zatížením procesu, ale také horšími parametry použitého inokulačního media (HK2C1).

Graf 4: Charakteristiky NMK a pH v průběhu fermentace BPS-B

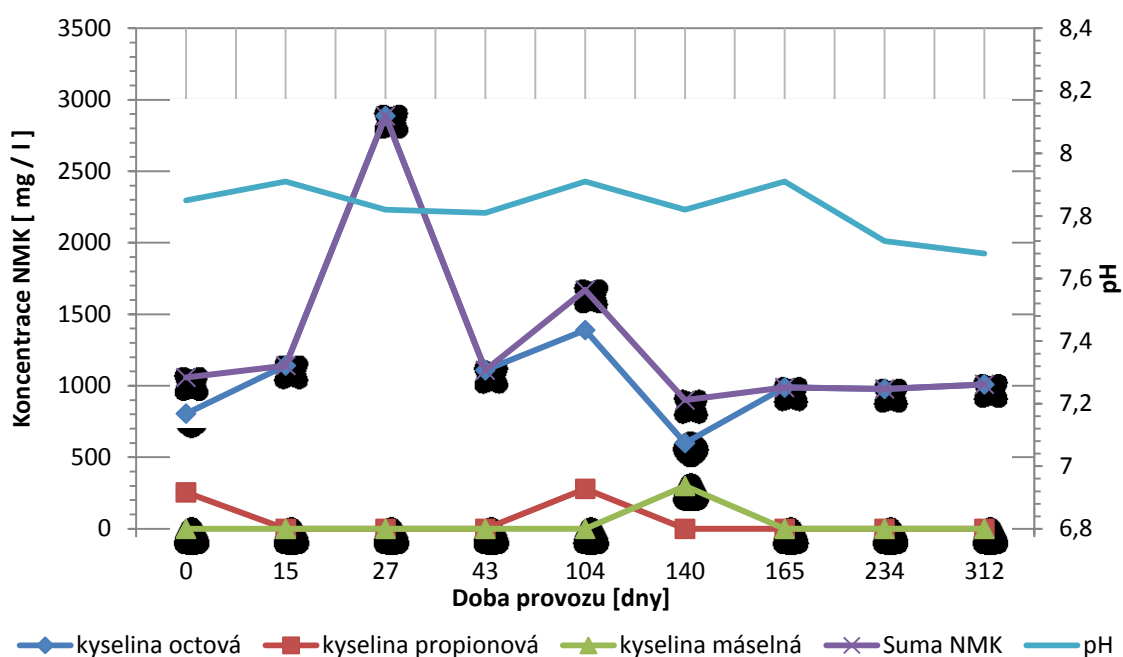


U ostatních sledovaných provozů bylo použito inokulační medium s nižší počáteční koncentrací organických látek. Z níže prezentovaných grafů lze předpokládat pozitivní vliv nižší počáteční koncentrace organických látek jak na průběh prvotní fáze provozu BPS, tak i na nižší koncentrace NMK.

Graf 5: Charakteristiky NMK a pH v průběhu fermentace BPS-C



Graf 6: Charakteristiky NMK a pH v průběhu fermentace BPS-D



Jak je z grafů 5 a 6 patrné, nebyla u provozu BPS-C a BPS-D zaznamenána zvýšená koncentrace NMK. Počáteční organické zatížení bylo u provozu BPS-D 4,1 kg $VI_{zž}$ na 1 m³ reakčního prostoru fermentoru, což je znatelně méně než u předešlých provozů BPS-A,B.

Je potřeba konstatovat, že přímý vliv organického zatížení na počáteční průběh procesu nelze bez podrobnějších analýz, které by vyloučily jiné příčiny zvýšené koncentrace NMK, považovat za hlavní příčinu prodloužení adaptační fáze a akumulace NMK. V každém případě byla zvýšená koncentrace NMK v počátku provozu zjištěna pouze u provozů, které použily očkovací médium o vyšší koncentraci organických látek.

Na základě provedených měření lze doporučit pro zapracování bioplynového zařízení očkovací médium o nižším či středním obsahu organických látek (1,5 až 5 kg $VI_{zž}$ na 1 m³). V případě omezeného výběru vhodného očkovacího média lze doporučit materiál o vyšším obsahu organických látek, který může být po naředění (nejlépe odseparovaným fugátem či užitkovou vodou) poté využit k zaočkování.

3.5.2. Organické zatížení vsádkového testu

Při přípravě testovací suspenze vzorku (vzorek + inokulum) bylo odzkoušeno několik variant organického zatížení. Malá organická zatížení se v provedených testech projevila zejména většími rozptyly výsledků v opakování. Tato větší diference byla patrná u testů, ve kterých se pracovalo s menšími navážkami (do 1000mg). U takto malé navážky nebylo proto dosahováno řádné homogenity materiálu. Ve vyšších navážkách byly rozdíly způsobené nehomogenitou materiálu vzorku méně patrné. Ve většině testů bylo voleno organické zatížení (od 1,5 do 3,5 g Vlzž/l) blížíící se co nejvíce reálným podmínkám provozů BPS (Amon et al.; 2006; Hofner-Six et Amon; 2005).

Organické přetížení procesu způsobené vysokým obsahem organických látek bylo zjištěno v testech substrátů obsahující větší podíl snadno odbouratelných látek (cukrovarnické řízky - CŘ0A1, odpadní brambory - OPOA1). U těchto testů se přetížení procesu projevilo výrazným poklesem pH systému, zvýšeným obsahem NMK, kvantitativní a kvalitativní změnou produkce plynu a také zvýšenou pěnivostí. Jak uvádí Gerardi (2003), nadměrnou tvorbu pěny způsobuje několik vzájemně působících faktorů, které mohou nastat za určitých podmínek a vedou k ovlivnění povrchového napětí kalu. Shlegel et al. (2008) uvádí jako hlavní příčinu nadměrného pění v praxi zejména nadměrné dávkování substrátů bohatých na tuky a dusíkaté látky. Autoři také poukazují na možnost dočasného poklesu produkce bioplynu v případě nadměrné pěnivosti až o 30%.

Lze konstatovat, že při testování vzorků se zvýšeným podílem látek potencionálně zapřičiňující pěnivost je potřeba testy zakládat s menším zatížením a vyvarovat se tak pozdějším problémům s pěnivostí. Ganidi (2008) uvádí jako kritické organické zatížení pro dočasné tvoření pěny 2,5 kg organických látek na m³ reakčního prostoru a zatížení 5,2 kg organických látek na m³ reakčního prostoru pro trvalé pění.

3.5.2.1. Provozní zkušenosti - pěnivost

U sledovaného zařízení BPS-B byla v průběhu počátečního provozu zjištěna nadměrná pěnivost suspenze. Jako jeden z hlavních faktorů způsobujících zde nadměrnou tvorbu pěny bylo s největší pravděpodobností určeno vyšší zatížení dusíkatými látkami (koncentrace NH₄-N = 2302 mg/l). Zdrojem těchto látek byly v menší míře dávkovaný substrát (KS2C1), ale zejména

samotné inokulum (HK2C1). Zvýšená koncentrace amoniaku a aminokyselin v procesní suspenzi přispěla ke zvýšené alkalitě prostředí (pH nad 8) a tím ke snížení povrchového napětí kalu.

Nadměrnou pěnivost se podařilo v tomto případě snížit po několika dnech dočasnou změnou ve skladbě a poměrech dávkovaných substrátů. Byly sníženy dávky substrátů s vyšším podílem dusíkatých látek, zejména podíl hovězí kejdy (HK2C1), která byla později nahrazena substrátem HK2C2 o nižším podílu dusíkatých látek. Došlo tak k celkovému zlepšení poměru C:N u substrátové skladby.

Jako opatření k rychlé destrukci již vzniklé pěny se prokázalo její mechanické ničení pomocí míchadel fermentoru, která byla za tímto účelem provozována na plný výkon. K podpoře destrukce pěny bylo také aplikováno velmi malé množství přípravku rostlinného oleje přímo na pěnicí hladinu. Nadměrná pěnivost procesní suspenze byla zjištěna jako ukazatel určité procesní nerovnováhy, ale také jako závažné technologické riziko pro bioplynové zařízení. Vznikající pěna je v provozu unášena spolu s plynem do celého plynového zařízení (plynové potrubí, plynojem atd.), které ztlačuje a zvyšuje v něm provozní tlak. Nadměrná tvorba pěny tak může ohrozit řádný provoz BPS, ale potenciálně i jeho bezpečnost.

Je však třeba zdůraznit, že riziko nadměrné tvorby pěny bývá někdy ze strany provozovatelů, ale také ze strany samotných projektantů bioplynových zařízení podceňováno. Výsledkem pak bývá, že leckteré zrealizované zařízení nedisponuje dostatečně volným prostorem nad hladinou procesní suspenze. Častou chybou také bývá nevhodné umístění či nedostatečné dimenzování přetlakových ochran samotného fermentoru. Veškeré tyto nedostatky mohou v některých extrémních případech vést až k poškození zařízení (např. protržení plynojemu, ucpání přetlakových kapalinových ochran atd.).

3.5.3. Posouzení organického materiálu

Vhodnost organických materiálů a jejich vlastností v procesu anaerobní digesce byla zjišťována za využití několika laboratorních metod. U každé metody bylo provedeno několik sérií testů s různými typy organického materiálu. Cílem práce zde nebylo pouze vlastní posouzení organického materiálu, ale také posouzení využití těchto metod z pohledu potřeb laboratoře a praxe.

3.5.4. Délka prováděných testů

Metody posuzující rozložitelnost organického materiálu jsou specifické svou potřebou minimální doby stanovení. Minimální délka testu posuzujícího organický materiál se ve většině metodik vědeckých prací a také platných norem pohybuje v rozmezí 20 až 60 dnů.

Z odborné literatury vyplývá značná variabilita v délce trvání testů, například autoři Mahrnet et al. (2005), Melamane et al. (2007) a Chaiprasert et al. (2001) stanovovali anaerobní rozložitelnost materiálu v různé délce trvání fermentace vzorku (20, 40, 120, 160 dní).

Lze však konstatovat, že většina nově publikovaných vědeckých výzkumů zabývajících se problematikou anaerobní rozložitelnosti organických materiálů (popř. výtěžností bioplynu) se snaží sjednotit své metodické postupy a přiklání se k dobám doporučeným normou VDI 630 potažmo DIN 38414-8 (Mahrnet et al., 2005; Amon et al., 2007; Vindis et al., 2008; Prochnov et al., 2005).

Provedené testy výtěžnosti (kapitola 3.5) prokázaly, že pro posouzení běžně využívaných organických materiálů v bioplynových zařízeních postačuje doba testu v délce trvání 30 dnů pro mezofilní fermentaci. Za tuto dobu je zkoumaný materiál v daných podmínkách testu z převážné většiny anaerobně stabilizovaný a získané hodnoty dostatečně charakterizují materiál pro potřeby provozů využívajících anaerobní digesci.

U testů s 60 denní inkubací byla prokázána jejich dostatečná délka pro stanovení specifické výtěžnosti bioplynu. Za této doby je inkubací již dosaženo většinového výtěžku bioplynu a testovaný materiál je již z podstatné části energeticky vyčerpán. Tento poznatek se potvrdil v souladu s literárními daty (Mahrnet et al., 2005; Amon et al., 2007).

Bylo zjištěno, že u většiny takto zkoumaných materiálů je největší objem z celkové produkce plynu dosažen mezi 5. a 20. dnem od zahájení inkubace. Bylo ověřeno, že přírůstky nad 30 denní inkubací (měřeno do 60. dne) jsou pouze v hodnotách několika málo procent a nemohou tudíž výrazně ovlivnit celkový výsledek výtěžku charakteristického pro daný typ substrátu.

3.5.5. Studium problematiky manometrických metod

Jednou z využívaných metod ke stanovení methanogení aktivity vzorku organického materiálu byla metoda manometrického měření produkce plynu. Metodou bylo zkoumáno několik druhů

organického materiálu a byly provedeny série testů za účelem optimalizace pracovního postupu vlastní metody stanovení.

Podrobný popis metody je obsažen v publikovaných článcích, které jsou součástí této předkládané práce.

3.5.5.1. Faktory ovlivňující přesnost získaných výsledků

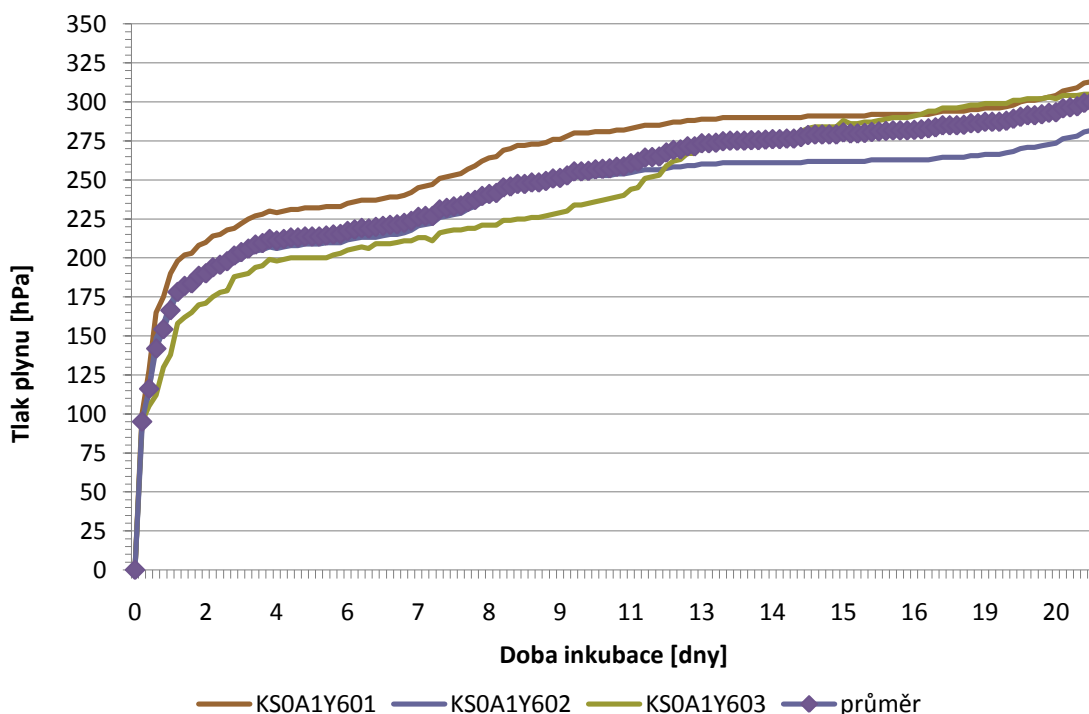
Vzhledem ke skutečnosti, že metoda pracuje s velmi malými navážkami vzorku (v řádech miligramů), které vychází z velikosti objemu reakčních lahví a tlakového rozsahu manometrických hlavice aparatury, se metoda prokázala pro stanovení výtěžnosti či pro posouzení uhlíkové bilance u materiálů nehomogenních, zejména pak u lignocelulózové biomasy, jako problematická. Provedené testy na vzorcích lignocelulózové biomasy nebyly dostatečně průkazné z důvodu nežádoucího rozptylu výsledků v daných opakováních. Hlavním důvodem této nepřesnosti stanovení byla určena problematika dosažení reprezentativních navážek vzorků.

Byla ověřena nutnost propláchnout plynným dusíkem plynnou fází v lahvi před jejím uzavřením do reakční láhve při základání testů po aplikaci suspenze vzorku. Tímto krokem je docíleno požadovaných anoxických podmínek v plynné a kapalně fázi již od počátku testu, nehrozí již zkreslení výsledků procesem mineralizace.

Na základě zjištěných poznatků lze konstatovat, že tato metoda se prokázala jako velice vhodná pro rychlé stanovení methanogenní aktivity vzorku různých typů biomasy. Zejména se její vhodnost prokázala pro analýzu materiálů o nižší koncentraci sušiny (Kolář et al., 2004; Kolář et al., 2005) , kde metoda poskytuje poměrně přesné stanovení stupně biologické rozložitelnosti, či pro stanovení látkové bilance uhlíku.

3.5.5.1.1. Vybrané měření

Graf 7: Test methanogenní aktivity (KS0A1 - OXC6N4)



Graf 7 znázorňuje průběh jednoho z mnoha provedených testů. Z něj je zřejmé, že popisovaná manometrická metoda neposkytuje pouze sumární hodnoty změny tlaku, ale také umožňuje kontinuálním záznamem dílčích tlakových změn poskytnout informace o průběhu produkce plynu v celé době trvání testu.

3.5.6. Studium problematiky volumetrických metod

Pro stanovení celkové výtěžnosti a průběžné produkce bioplynu byly využity vsádkové testy s volumetrickým měřením objemu plynu. Zvolené vsádkové aparatury disponovaly reakčním objemem, který umožnil testovat větší množství suspenze vzorku. Možnost využít pro test relativně větší navážku vzorku (v řádech gramů) umožnila lépe simulovat proces zpracování organického materiálu procesem anaerobní digesce. Jako nespornou výhodu těchto vsádkových testů je potřeba uvést jednoduchost jejich obsluhy a také jejich příznivou pořizovací cenu v případě vlastního sestavení aparatury.

3.5.6.1. Faktory ovlivňující přesnost získaných výsledků

U sestavené aparatury vzor Enki se jako hlavní problém mající přímý vliv na přesnost získaných výsledků ukázala nedostatečná těsnost hadicových spojů a kvalita propojovacích hadic. V průběhu práce byly zjištěny v několika sériích testů nižší hodnoty celkové produkce bioplynu v porovnání s hodnotami pro daný typ materiálu, které uvádí literatura. Za hlavní příčinu ztrát v produkci plynu byla určena zvýšená propustnost plynu přes stěny tlustostěnných silikonových hadic. Ty byly použity z převážné části jako plynovody.

U druhého typu volumetrické aparatury byl kromě obdobného problému zjištěn i problém s nežádoucím výparem uzavírající kapaliny.

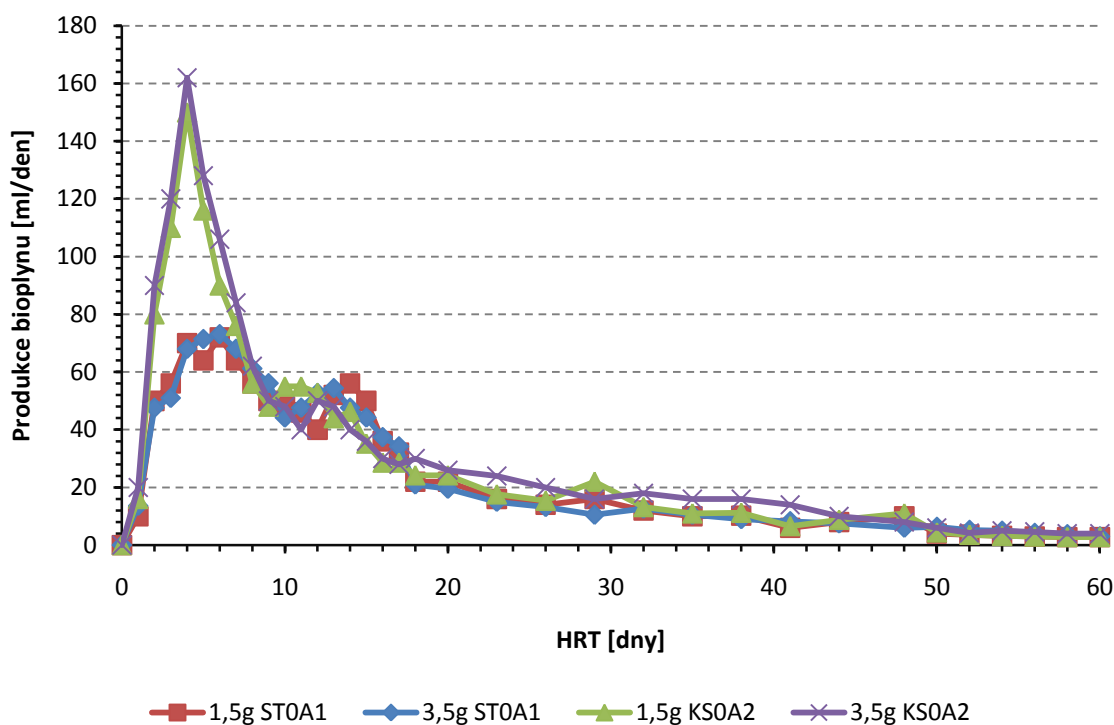
Zmíněné komplikace lze však považovat za problémy spojené s prvotní prací na aparaturách, které byly postupem práce odstraněny.

3.5.6.2. Vybraná měření fermentačních testů

Testy probíhaly na řadě organických materiálů, u kterých byla stanovována průběžná produkce plynu a celková výtěžnost plynu.

Z výsledků grafu 8 jsou patrné rozdíly v denních přírůstcích plynu testovaných substrátů. Substrát kukuřičné siláže (KSOA2) vykazoval v prvních 10 dnech fermentace největší produkci plynu. Toto jeho maximum odpovídá rozkladu snadno hydrolyzovatelných látek (mastné kyseliny, škroby), které jsou spotřebovávány v prvních dnech fermentace. Pozdější nižší objemy vypovídají o rozkladu látek již složitějších, jako jsou celulózy a hemicelulózy. Druhý substrát travní senáže (ST0A1) byl charakteristický svými nižšími maximy produkce v prvních dnech fermentace, ale zároveň byly dané produkce dosahovány po delší dobu (do 18. dne).

Graf 8: Intenzita denní produkce bioplynu (kofermentace ST0A1, KS0A2)

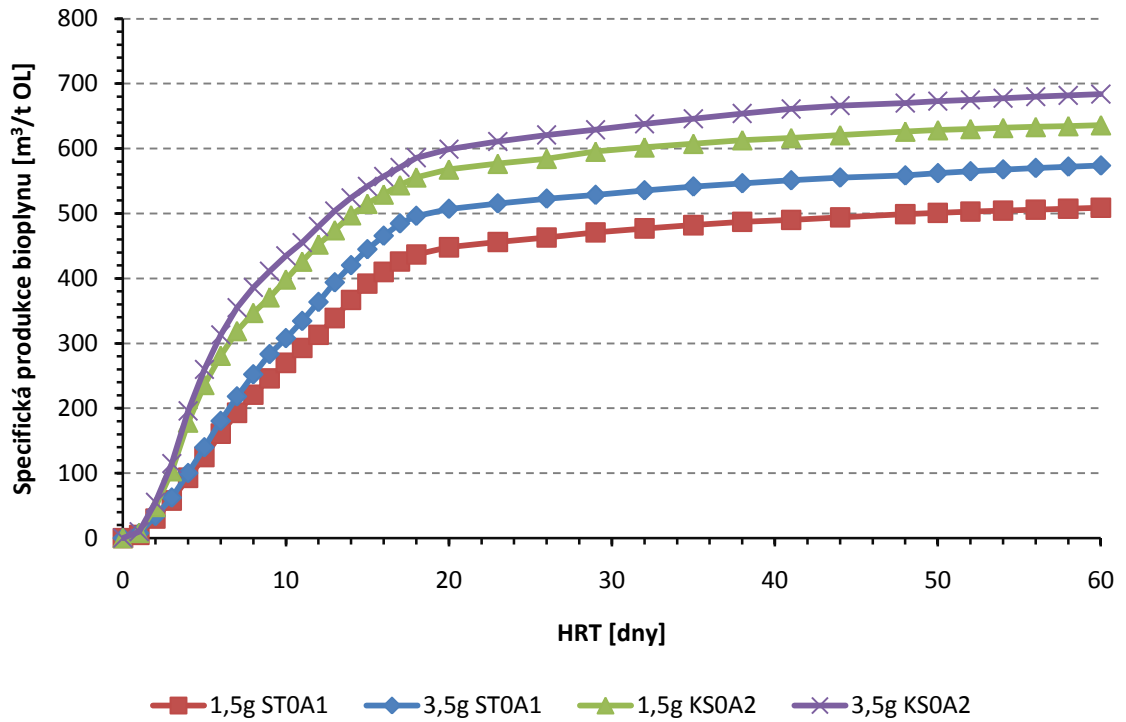


Vliv vyššího organického zatížení se projevil u obou substrátů vyššími produkcemi plynu, rozdíly v produkcích u vzorků se zatíženími 1,5g a 3,5g VLzž na litr byly do 13%. Lze předpokládat, že při zvolení vyšších zatížení by byl rozdíl v produkcích markantnější. V celkovém porovnání vychází substrát kukuřičné siláže jako materiál s vyššími výtěžky v prvních dnech fermentace.

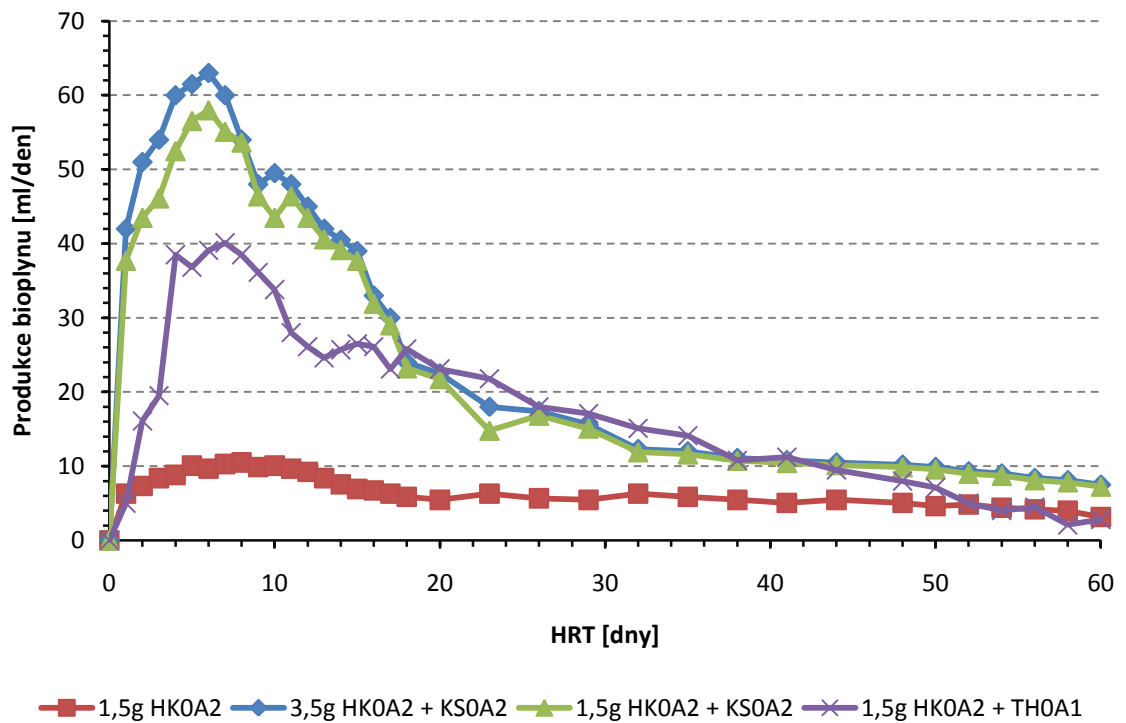
Z kumulativní specifické produkce výsledků grafu 9 je zřejmá vyšší celková výtěžnost substrátu kukuřičné siláže. Celkový specifický výtěžek vzorku KS0A2 byl u navážky 1,5g VLzž naměřen po přepočtu 630 m³ bioplynu na 1 tunu organických látek. Tento výsledek je o 7,6% nižší než výtěžek stejného vzorku při vyšším organickém zatížení. Tento rozdíl ve specifické produkci je s největší pravděpodobností způsobený chybami v navážkách materiálu, ve kterých se nepodařilo mít zcela homogenní materiál.

U vzorků travní senáže byl rozdíl ve specifické produkci větší, vzorek s navážkou 1,5g VLzž dosáhl celkového specifického výtěžku 508 m³ bioplynu na 1 tunu organických látek, vzorek s vyšší navážkou dosáhl o 11,3% vyššího výtěžku (573 m³/1t OL).

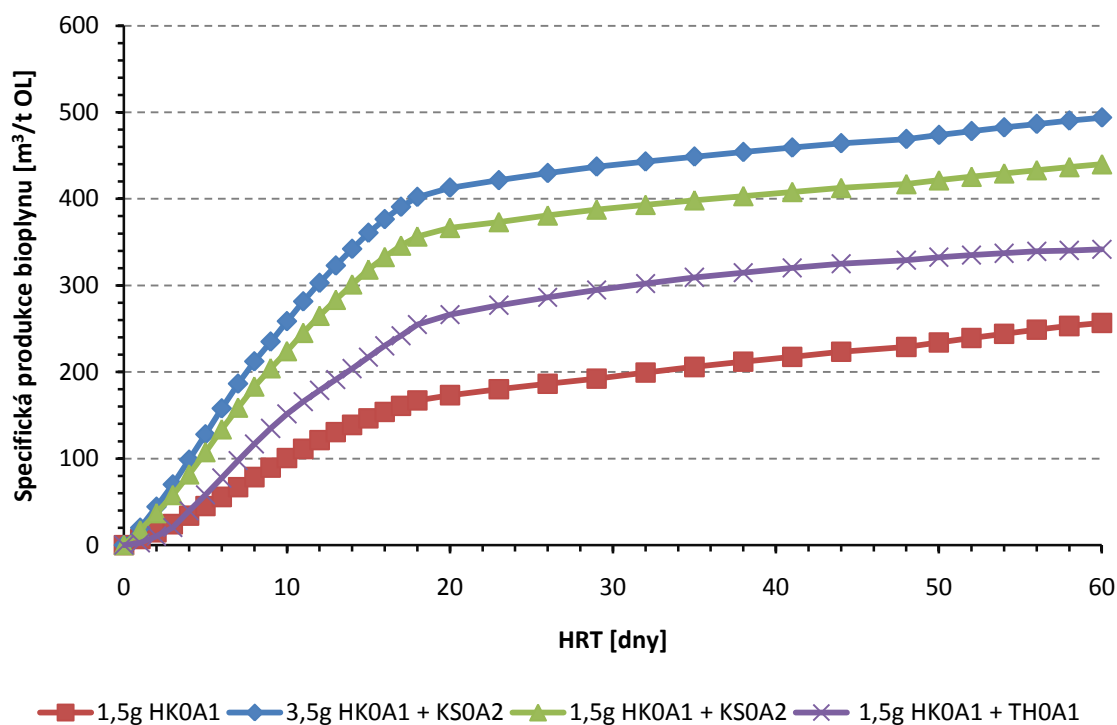
Graf 9: Specifická produkce (kofermentace ST0A1, KS0A2)



Graf 10: Intenzita denní produkce bioplynu (kofermentace HK0A2, KS0A2, TH0A1)



Graf 11: Specifická produkce (kofermentace HK0A2, KS0A2, TH0A1)



3.5.7. Studium problematiky modelu laboratorního fermentoru

Jedním z cílů studia problematiky procesu anaerobní digesce a jeho simulace v laboratorních podmínkách bylo zaměření se na výzkum více reflektující podmínky reálných provozů bioplynových zařízení. Vindis et al. (2008) popisuje využití malého sestrojeného fermentoru pro účely studia procesu. Také ostatní autoři (Binner et al., 1997; Amon et al., 2007; Mähnert et al., 2005) ke studiu problematiky uvádějí použití specifické aparatury, která vychází ze základních požadavků na laboratorní fermentory.

V průběhu studia a po zkušenostech s jednorázovými testy bylo přistoupeno k návrhu a poté i vlastní realizaci prototypu laboratorního fermentoru. Koncepce laboratorního fermentoru FAFE vycházela z konstrukcí běžných komerčně dostupných laboratorních fermentorů. Při návrhu bylo snahou zrealizovat zařízení, které bude svou funkcí účelně potřebám praxe, a to nejen žádanou funkčností, ale také svou cenou.

Při výrobě fermentoru byl využit jako hlavní konstrukční materiál nerezová ocel. Ta byla zvolena z důvodu své dostupnosti a možností svého užití. Vyrobený model fermentoru tak

disponuje žádoucími vlastnostmi (chemickou stálostí, dostatečnou pevností a robustností), ale také disponuje možností důležitou pro prototyp zařízení, a to provést na něm bez větších technologických problémů dodatečné konstrukční změny.

3.5.7.1. Faktory ovlivňující přesnost získaných výsledků

Jako nejvíce problematickým aspektem ovlivňující řádnou funkci modelu fermentoru se prokázala problematika zajištění jeho dostatečné plynotěsnosti. U horního poklopu a těsnícího ložiska hřídele míchadla byla zjištěna nežádoucí propustnost plynu. Odstranění netěsnosti poklopu se podařilo pomocí použití silnějšího těsnění a dotěsnění kontaktní hrany silikonovou vazelínou.

Těsnící ložisko, které obsahovalo silonové prvky, svou konstrukcí umožnilo pouze průběžné dotěšňování silikonovou vazelínou. Pro další použití prototypu fermentoru se předpokládá výměna daného ložiska za jiný těsnící prvek, který by k utěsnění využíval sloupec kapaliny. Jelikož fermentor při provozu není zatěžován výrazným přetlakem plynu, ale pouze velmi nízkým provozním tlakem (do 6,5 mbar), bude tíha kapalinového sloupce na utěsnění dostatečná.

3.5.7.1.1. Možnosti využití

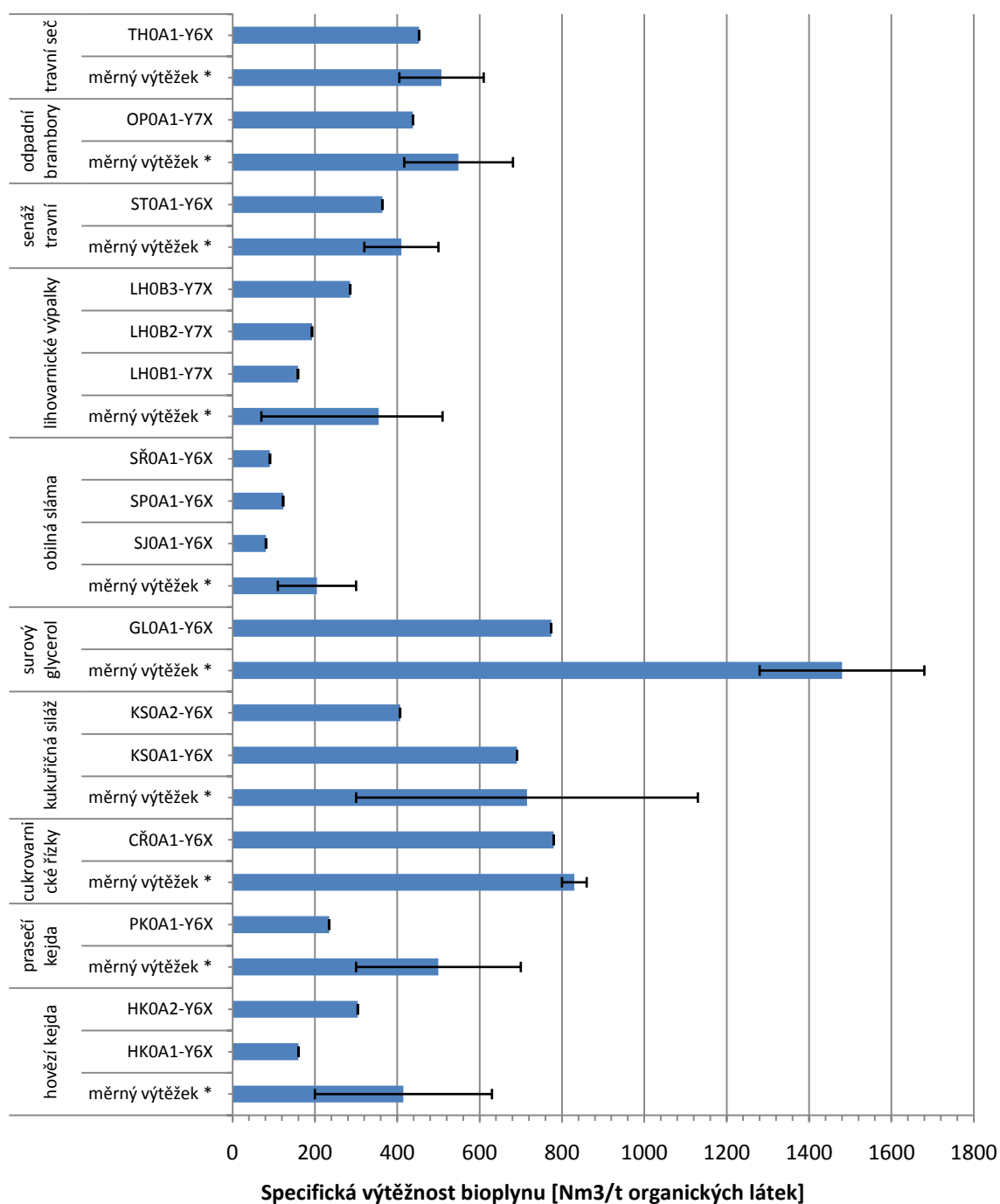
V průběhu práce s prototypem laboratorního fermentoru FAFE bylo získáno nespočet zkušeností, které jsou zdrojem k jeho dalšímu zdokonalení a technickému vývoji.

Z provedených experimentů i přes časové omezení studia, je možno konstatovat, že byla ověřena vhodnost prototypu fermentoru k simulaci provozu BPS v daných podmínkách laboratoře. Velikost fermentoru a jeho reakční objem umožňují povádět experimenty na rozhraní poloprovozního režimu, avšak s využitím měřicí techniky a aparatur příslušící práci v laboratoři.

3.5.7.2. Porovnání výsledků z laboratorních analýz s praxí

Při porovnání laboratorních výsledků s hodnotami získanými na reálných BP zařízeních byly zjištěny větší odchylky zejména v objemech výtěžků a ve stupni biologického rozkladu zkoumaného materiálu.

Graf 12: Výsledky měření výtěžnosti bioplynu



Lze usuzovat, že hlavní příčinou rozdílných hodnot stanovených laboratorních výtěžků je chyba měření, kterou lze přičíst špatné homogenitě navážek vzorků či případným únikům plynu netěsnostmi spojů používaných aparatur, ale zejména ve využití nevhodného inokula pro založení testu.

V případě porovnání hodnot stupně biologického rozkladu (jako ukazatele efektivity procesu anaerobní digesce) lze konstatovat, že většina hodnot získaných přímo z provozů bioplynových stanic je zatížena chybou, která vzniká již při samotném odběru vzorku. Nelze totiž i za dodržení všech pracovních kroků řádného odběru (zejména dostatečného promíchání procesní suspenze) vyloučit zkreslení výsledků odebráním nereprezentativního vzorku. Dalším významným faktorem zkreslujícím výsledky z praxe jsou nestejněměrné denní provozní parametry zařízení, měnící se průtok fermentorů a nestejněměrná kvalita zpracovávaných materiálů.

Během studia problematiky procesu anaerobní digesce byla jednotlivá témata dané problematiky řešena. Pro posouzení výtěžnosti bioplynu či zjištění methanogenní aktivity biomasy pro potřeby praxe bylo pracováno s několika možnými metodami.

3.5.8. Bilance použitých metod

Jako nejméně vhodné stanovení pro potřeby praxe byly zjištěny metody využívající teoretické kalkulace výtěžnosti na základě provedených elementárních analýz (Dohányos et al., 1988; Straka et al., 2007). Výsledky těchto stanovení jsou teoretickými hodnotami maximální výtěžnosti, které nezahrnují kvalitativní aspekty zkoumaného organického materiálu. Bylo ověřeno, že výsledky praktického stanovení výtěžnosti jsou v některých případech výrazně nižší, zejména pak u materiálů, které obsahují látky biologicky hůře rozložitelné.

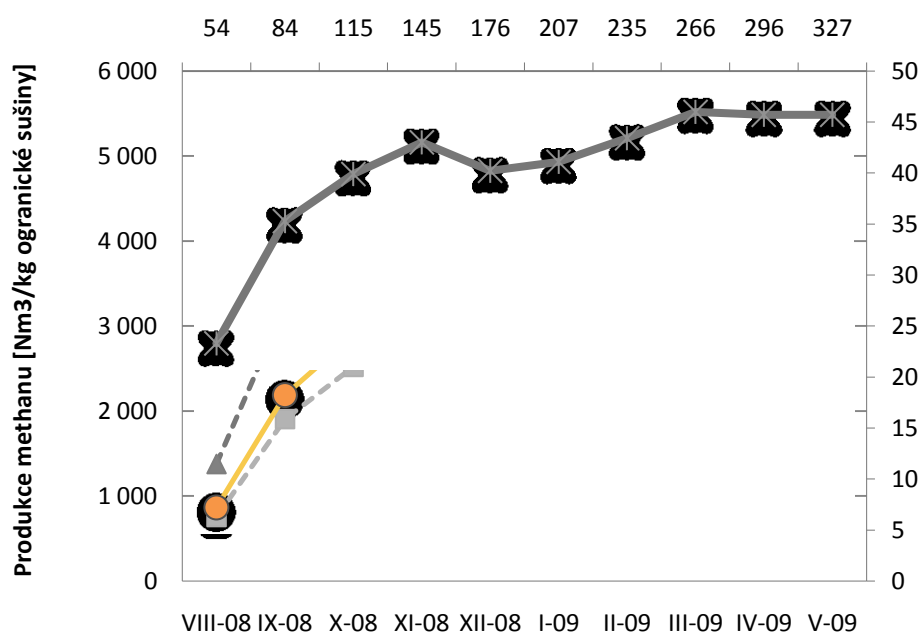
Toto omezení teoretických stanovení se někteří současní odborníci snaží vyřešit zapracováním více proměnných do výpočtů, které by zpřesnily výpočty o působení vlivů těchto látek. Dlouhodobě se touto problematikou zabývá například prof. Amon a kolektiv (Amon et al., 2007).

Lze proto doporučit jako nejvhodnější metodu pro stanovení výtěžnosti bioplynu metody praktického stanovení. Metoda vsádkového testu s volumetrickým stanovením produkce bioplynu byla ověřena jako nejvhodnější metoda pro účely praxe. Tato metoda poskytuje možnost analýzy vzorku v několika opakováních a poskytuje dostatečné podmínky pro optimální simulaci procesu.

3.5.9. Provozní zkušenosti – problematika produkce bioplynu

Důležitost správného určení výtěžnosti bioplynu jednotlivých substrátů je nesporná při projektování bioplynového zařízení či při řízení jeho provozu. Nepřesná kalkulace předpokládané potřeby organického materiálu může mít za následek nedostatečné nadimenzování základních parametrů bioplynového zařízení (např. nedostatečná kapacita reakčního objemu fermentorů či zádržná kapacita příjmových a koncových skladů, přetížení obslužné techniky atd.).

Graf 13: Porovnání skutečné a předpokládané spotřeby substrátů (BPS D)



	VIII-08	IX-08	X-08	XI-08	XII-08	I-09	II-09	III-09	IV-09	V-09
—x— skutečná produkce methanu	3 119	2 722	2 984	3 252	3 225	3 138	3 163	3 273	3 171	3 124
-□- min. pr. dle lit. dat	754	1 905	2 520	2 904	2 810	2 779	2 894	3 015	2 976	2 936
-△- max. p. dle lit. dat	1 377	3 238	4 215	4 827	4 656	4 669	4 897	5 176	5 131	5 137
—○— korigovaná hodnoty produkce	868	2 188	2 893	3 333	3 225	3 213	3 359	3 529	3 492	3 477
—x— skutečná spotřeba substrátů	23	35	40	43	40	41	43	46	46	46

Na grafu 13 je zobrazeno porovnání skutečné denní produkce methanu a vypočítané předpokládané produkce methanu. Křivka skutečné spotřeby vyjadřuje hodnoty denní produkce methanu ze zpracovaného množství substrátů. Hodnoty produkce methanu jsou přepočítané na normální podmínky. Křivky předpokládané produkce pak vykreslují produkci methanu ze skutečné spotřeby substrátů. Teoretický výpočet byl stanoven na základě hodnot

minimálních a maximálních měrných výtěžků z literárních dat (Straka et al., 2007; Amon et al., 2007; Mähnert et al., 2005; Ahring et al., 1992; Heerenklage et al., 2001, Holm-Nielsen et al., 2006; Linke, 1997). Střední hodnota měrného výtěžku byla korigována dle praktických zkušeností dodavatele technologie BPS pro daný druh substrátů a parametry zařízení BPS.

Z grafu jednoznačně vyplývá problematika teoretických výpočtů substrátové potřeby pro provoz BPS. Je zřejmé, že přesnost teoretické kalkulace bude klesat se zvyšujícím se počtem druhů substrátů a jejich poměrovém zastoupení.

Straka et al. (2007) upozorňuje na problematičnost zmíněných výpočtů, které využívají hodnot pouze měrné výtěžnosti, které nejsou korigovány dle skutečných rozptylů výtěžnosti. Zároveň nedoporučují využívat k výpočtům měrné výtěžky o maximálních hodnotách či dokonce o hodnotách vyšších než připouští výpočty teoreticky možné produkce.

Ve většině propočtových studií bývá, zřejmě z vyšší finanční nákladnosti patřičných rozborů, běžně kalkulováno pouze se základními parametry substrátů (hmotnost, objem, celková a organická sušina). Tyto parametry, jak bylo ověřeno, však mohou být v některých případech nedostačující. Nezahrnují kvalitativní vlastnosti materiálu mající přímý vliv na stupeň jeho biodegradability.

V průběhu provedených praktických testů byla prokázána výrazná rozdílnost ve výtěžcích u materiálů stejného druhu, zejména u lignocelulóзовé biomasy. Například vzorky kukuřice s přibližně stejnými hodnotami celkové a organické sušiny se ve specifické produkci projeví odlišně o více než 14,7%.

Vysvětlení rozdílnosti výtěžků u stejných druhů materiálů jsou jejich kvalitativní vlastnosti (obsah škrobů či stupeň lignifikace), ale také jejich pozvolné změny v průběhu stáří materiálu. V praxi byly zaznamenány znatelné poklesy produkce bioplynu při použití starších siláží. Bylo zjištěno, že při nahrazení roční kukuřičné siláže siláží víceletou (staří 3 roky) musela být navýšena denní dávka tohoto substrátu o více než 13,7 % (dlouhodobý měsíční průměr) z důvodu udržení stejné produkce bioplynu.

3.5.9.1. Kvalita produkovaného bioplynu u sledovaných zařízení BPS

Složení produkovaného bioplynu závisí na řadě faktorů. Mezi nejdůležitější lze v praxi zařadit vlastnosti zpracovávaných materiálů, stabilitu procesu či technologickou úpravu plynu.

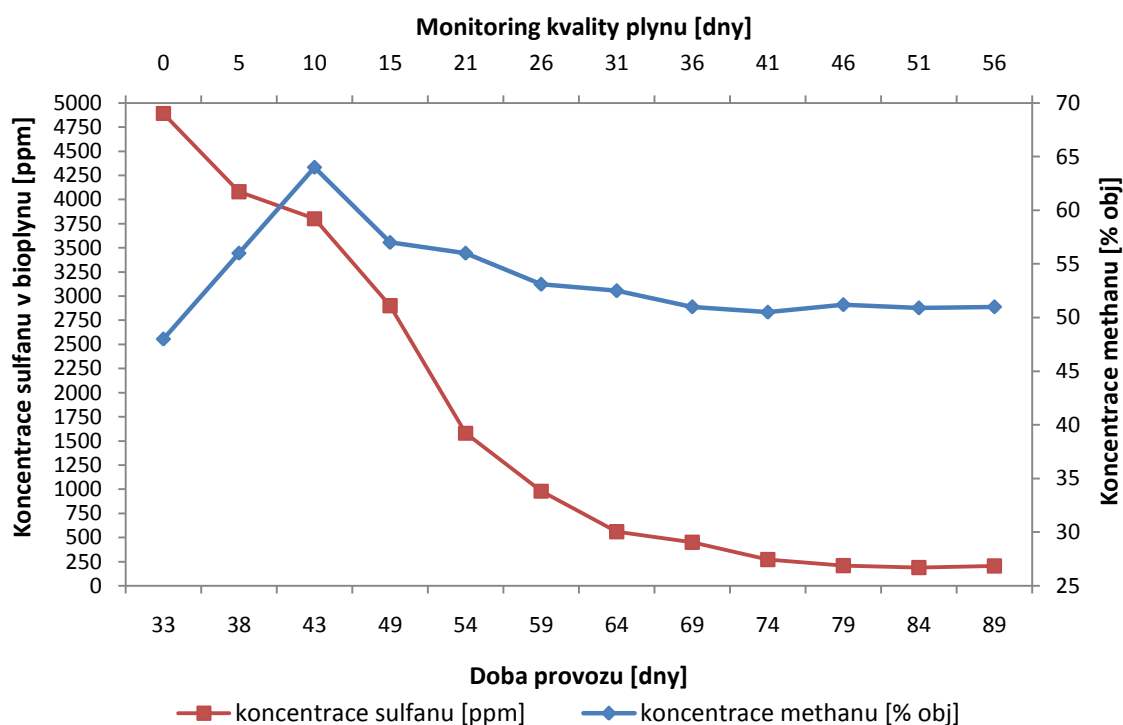
Ze zjištěných dat lze potvrdit výrazné kvalitativní změny bioplynu v samém počátku provozu BPS. V této provozní fázi byla zjištěna vysoká koncentrace methanu a sulfanu přímo související se zapracováním fermentoru. Příčin vysokých koncentrací plynů v této fázi je několik. Hlavní vliv byl přisouzen charakteru očkovacího média, lagfázi procesu a nedostatečné technologické úpravě bioplynu.

V této fázi je jediným zdrojem energie pro anaerobní proces inokulační médium. Jeho vlastnosti (vyšší obsah proteinů, tuků) se většinou odlišují od vlastností pozdější substrátové skladby a mají výrazný vliv na kvalitu produkovaného plynu (vyšší koncentrace CH_4 , H_2S , NH_3).

Také skutečnost, že v této počáteční fázi není zajištěna dostatečná úprava plynu – jeho odsíření, vede k produkci hůře využitelného bioplynu, který při zpracování poškozuje plynová zařízení (ocelová potrubí, armatury, spalovací motor KVET). Většina zemědělských bioplynových zařízení stejně jako sledovaná zařízení využívají ke snížení koncentrace plynného sulfanu systém mikroaerofilního odsíření bioplynu. Nedostatečnost tohoto systému v počáteční fázi vychází již z jeho samotné podstaty. Převážná účinnost tohoto systému je dána velikostí aktivní plochy chemolitotrofních organismů (zejména druhy *Thiobacillus*, *Beggiatoa*, *Thiotrix*), které zajišťují oxidaci plynného sulfanu (Straka et al., 2007). Bylo zjištěno, že tento jinak účinný systém v běžném provozu zde nedosahuje potřebné účinnosti právě v důsledku omezení aktivní plochy zmíněných organismů a jejich počtu.

Zmíněné organismy, které se nacházejí ve volném plynovém prostoru fermentrů, jsou v počáteční fázi provozu aktivní zejména na hladině suspenze fermentoru. Z té se až postupem času rozrůstají do okolních prostor.

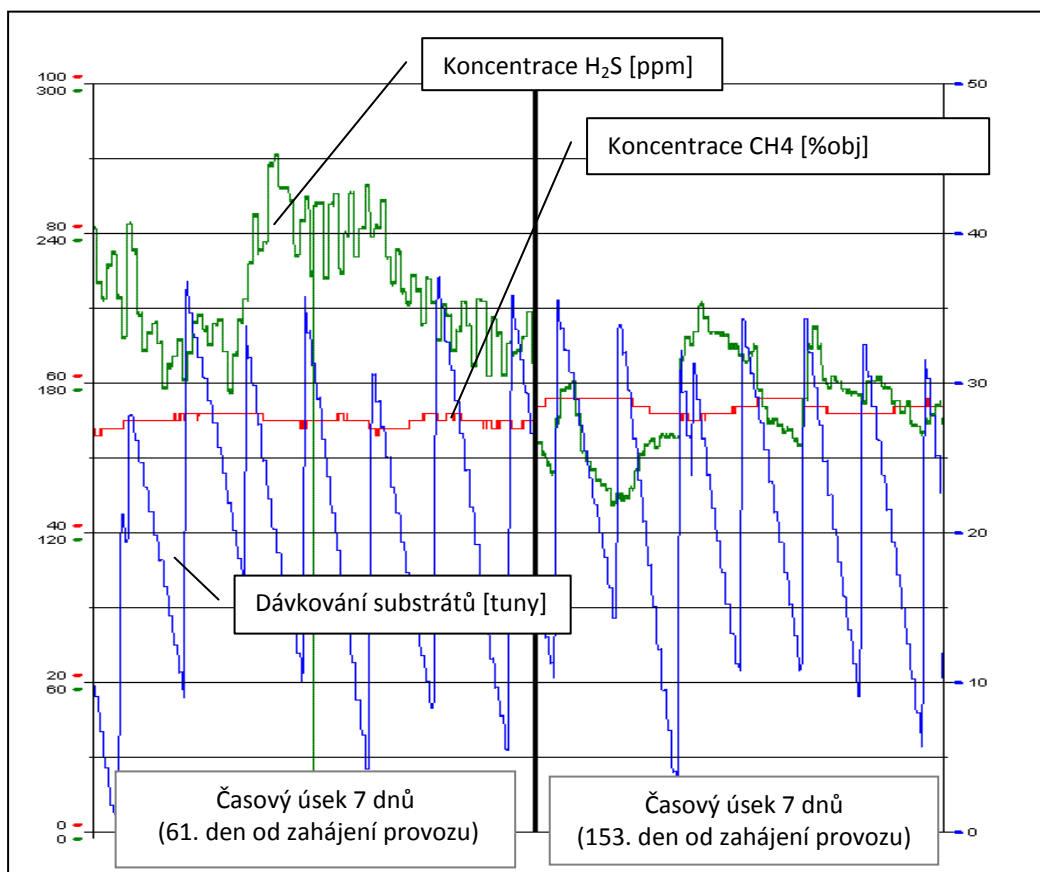
Graf 14: Graf kvalita plynu v průběhu procesu



Bylo zjištěno, že na hladině suspenze dochází k rychlejší tvorbě „aktivního povlaku“ bakterií, a to zejména z důvodu jejího strukturovaného povrchu a jeho dostatečné bakteriální kontaminace. Zvětšením plochy hladiny suspenze lze tedy zajistit zvýšení účinnosti systému odsíření v počáteční fázi provozu. Toto řešení lze využít v zařízeních, které disponují více vzájemně propojenými fermentory (dvoustupňové provozy) či provozy, kde je koncový sklad na fermentační zbytek opatřen plynotěsným zastřešením a potřebnou plynovou technikou. V těchto popsaných případech lze využít částečným napuštěním inokulačního média i do ostatních nádrží zvýšení plochy a tedy i účinnost systému v počáteční fázi.

Nedostatečnou kompenzační schopnost, kterou systém odsíření v počátcích provozu BPS má, zobrazuje také graf 15. Na grafu jsou zobrazeny křivky koncentrace plynného sulfanu, u kterých je možno rozpoznat výkyvy způsobené dávkovaným substrátem. V časovém úseku, který je blíže zahájení provozu, jsou tyto výkyvy větší než v časovém úseku vzdálenějším.

Graf 15: Kvalita plynu u provozu BPS-A - různé časové horizonty



Z porovnaných dat kvality plynu vyplývá, že při ustálených podmínkách provozu BPS, kdy jsou zpracovávány substráty dlouhodobě stejného množství a kvality, se pohybují výkyvy v koncentraci methanu v rozmezí 2 až 2,5% obj.

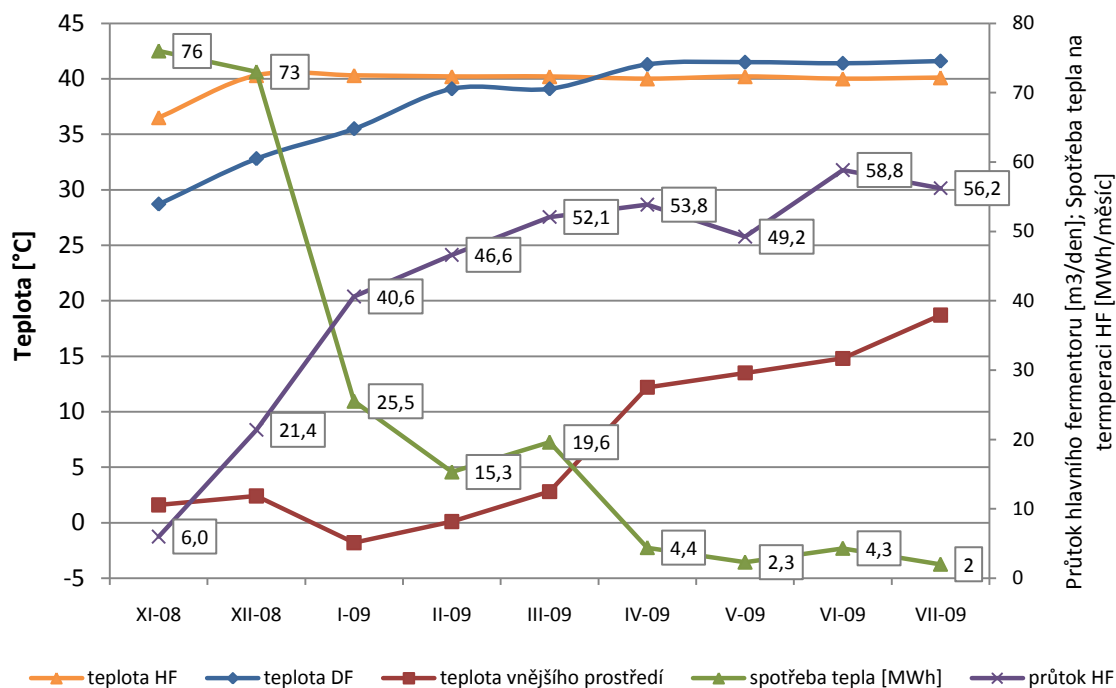
3.5.10. Teplotní optimum

Dalším faktorem, který přímo ovlivňuje proces, je jeho teplotní optimum. Bylo zjištěno, že zejména v letních měsících se u dané koncepce BP zařízení, přesněji provedení fermentačních nádrží, projevuje efekt samozahřívání suspenze. Jelikož sledovaná bioplynová zařízení jsou nejen koncepcí, ale také provozními parametry velmi podobná, byl tento efekt ve větší či menší míře zaznamenán u většiny zařízení.

Specifikum koncepce uspořádání fermentorů, kdy hlavní fermentor tvoří jakési mezikruží a dofermentor vnitřní kruh, jsou většinou (viz sledovaná zařízení) topné trubky sloužící

k vyhřívání umístěné na vnější stěně mezikruží. Dofermentor je v této koncepci vyhříván přenosem tepla přes vnitřní stěnu mezikruží z fermentoru.

Graf 16: Teplotní charakteristika provozu BPS-D



Jak je z grafu 16 patrné, fermentor (HF) byl temperován na požadovanou teplotu 40°C (±1°C), ta byla po prvotním náhřevu fermentoru dosažena a nadále udržována. Požadovaná teplota u dofermentorů byla dosažena až po delším čase (viz postup tepla). Z grafu lze však vyčíst zvyšující se teplotu dofermentorů v průběhu provozu. Jelikož zdroj tepla se nachází ve fermentoru (HF) a jeho teplota odpovídá nastavenému optimu, je možným vysvětlením zmíněné zvyšující se teploty a udržení jejích hodnot nad hodnoty HF biologickou aktivitou anaerobních společenstev

Fenomén samozhřívání fermentorů bioplynových zařízení byl již popsán či zaznamenán ve více vědeckých pracích (Lindorfer et al., 2006; Gallert et Winter, 2005; Von Stockar et Liu, 1999). Jak ve své práci uvádějí, daný problém již popsalo 40% provozovatelů zemědělských bioplynových stanic v Rakousku na různých BP zařízeních.

Lindorfer et al., (2006) se pokouší určit přímou příčinu tohoto fenoménu. Vypozoroval, že samozhřívání se projevuje zejména při zpracování energetických plodin, zejména pak celých zrn kukuřice (CCM) či zrn obilných.

Tento poznatek byl ověřen u provozu BPS-F, kdy bylo zjištěno zvýšení teploty HF po týdenní aplikaci obilného šrotu v dávce 1,5t za den. Přísun tohoto energetického materiálu (škrobu) se projevil zvýšením teploty z 40,1°C na 43,8°C. U jiných provozů byla zaznamenána samovolně se zvyšující teplota při větších dávkách kukuřičné siláže, lze tedy říci, že s růstem organického zatížení v anaerobním procesu roste i množství uvolňované tepelné energie. Ta za určitých podmínek může způsobit nežádoucí samovolný nárůst teploty ve fermentoru.

Otázce energetických plodin a jejich energetickému potenciálu se věnovala již řada vědců (Hartmann et Lewandowsky, 1999), kteří provedli sérii kalorimetrických měření, jejichž výsledkem je zjištění, že energetický potenciál těchto plodin může být odhadnut na 17MJ.kg⁻¹ celkové sušiny. Došli k závěru, že primární energie vstupních substrátů se přeměňuje na ze 73% na methan, 10,5% energie zůstává nevyužito ve formě nedegradabilních organických látek či bakteriální biomasy. Zbytek energie tvoří tepelné ztráty.

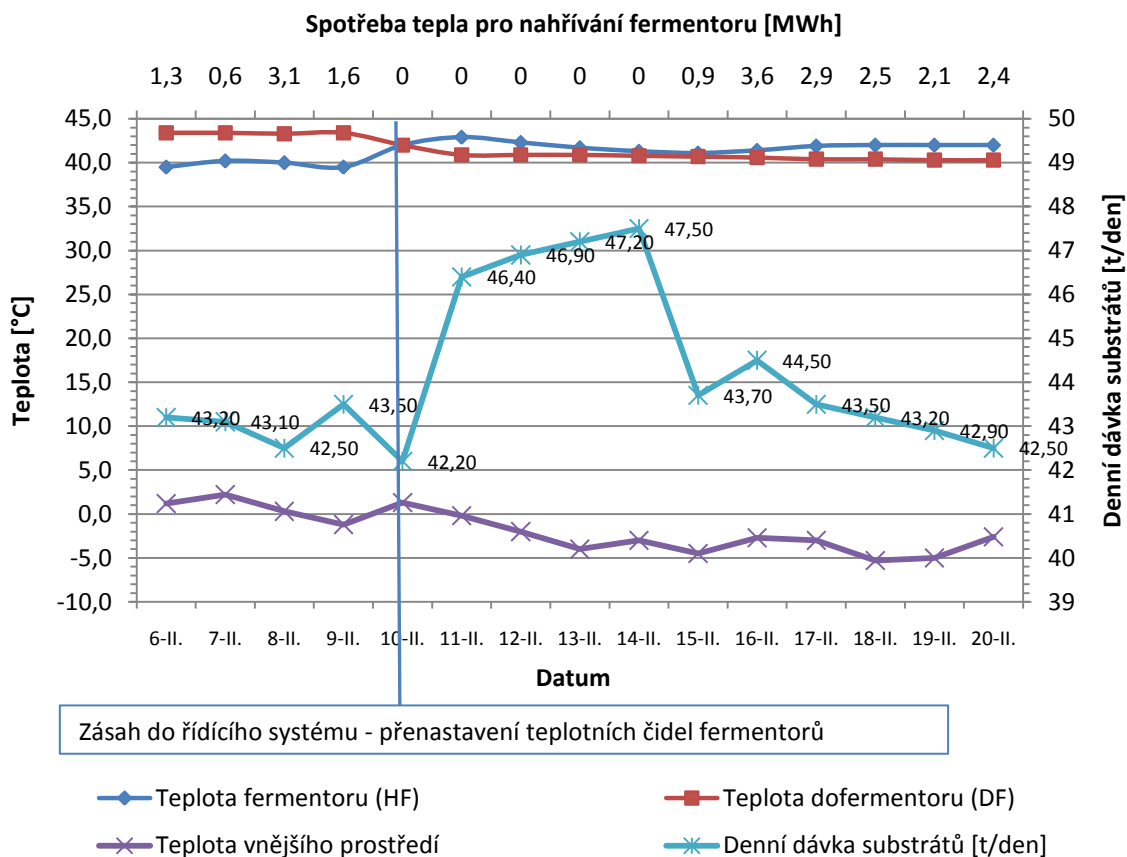
Předpokládané produkované teplo mikrobiálním rozkladem bylo vypočteno na základě stanovení reakčních entalpií ze stechiometrického rozkladu referenčních substrátů pro polysacharidy, tuky a proteiny (Galler et Winter; 2005).

Lze konstatovat, že po prozkoumání odborné literatury zabývající se daným problémem není přesná příčina problematiky samozahřívání zcela specifikována. Potenciální tepelné zdroje, které jsou nejčastěji citovány, jsou proces míchání suspenze (konverze mechanické energie na tepelnou), proces biologického odsíření (oxidace plynného sulfanu – exotermická reakce), oxidace organických látek v procesu (např. rozklad glukózy) či uvolňování tepla z neutralizace (exotermická neutralizace kyselého substrátu). Všechna tato fakta vedou k závěru, že skutečná příčina zahřívání fermentorů je spojená s bakteriálním metabolismem. Avšak tyto poznatky upravují dosavadní pohled na anaerobní mikrobionální metabolismus, který je mnohem více dějem exotermickým než bylo doposud předpokládáno.

K plnému objasnění tohoto problému je třeba provést více měření a zaměřit se na termodynamické jevy v mikrobiálním společenstvu v anaerobních systémech.

Po provozní stránce lze problému samozahřívání určitým způsobem předcházet. Vhodná úprava řídicího softwaru BPS, do kterého lze naprogramovat proměnné, které by v případě zjištění samovolně se zvyšující teploty upravily dávkování substrátů či zvýšily průtok takto postiženým fermentorem (např. recirkulace suspenze), se dá pokládat za nejvhodnější řešení.

Graf 17: Ovlivnění provozu BPS-A chybou teplotního čidla



U provozu BPS-A byla zaznamenán negativní vliv teplotního výkyvu, který byl krátkodobě zapříčiněn pochybení servisního pracovníka, které nevhodně zkalibroval teplotní čidlo fermentoru. Následný výpadek v nahřívání způsobil, jak je z grafu 17 patrné pokles teploty o 3,7°C. Snížení teploty se projevilo nižší produkcí bioplynu a současně zvýšeným organickým zatížením fermentoru, které vyplývá z vyšších denních dávek substrátů.

3.6. Charakteristika sledovaných BPS

V průběhu studia problematiky procesu anerobní digesce byly sledovány provozní provozy několika bioplynových stanic, a to již od prvotní fáze provozu – tedy jejich spuštění. Tato možnost studovat onu problematiku také i mimo laboratoř poskytla náhled na řadu problémů vyskytujících se v běžné praxi.

3.6.1. Popis sledovaných provozů

Veškerá zařízení byla stejné koncepce, technologického vybavení a hlavních stavebních prvků. Bioplynové stanice byly navrženy jako zemědělská bioplynová zařízení zpracovávající stájové odpady ze živočišných výroby a materiály z rostlinné produkce (odpady, energetické plodiny).

Zmíněné bioplynové stanice jsou provozovány v tzv. dvoustupňovém režimu fermentace, kdy hlavní proces degradace organických látek a produkce bioplynu (85 až 90%) probíhá v hlavním fermentoru, stabilizace materiálu a zbývající produkce bioplynu poté probíhá v dofermentoru.

3.6.2. Technologické řešení

Specifikem dané koncepce BPS bylo využití přepadových propojení fermentačních nádrží, které umožňovaly přirozený průtok fermentory, externí provedení kompenzačního plynojemu mimo objekty fermentorů a centralizované umístění fermentačních nádrží (koncepte tzv. kruh v kruhu).

Shodné vybavení stanic měřicí a řídicí technikou umožnilo ke studiu provozu BPS využít záznamy základních provozních parametrů, které byly a jsou měřicí technikou kontinuálně sledovány. Jednotlivé etapy provozů BPS mohly být proto vzájemně porovnány a vyhodnoceny (viz kapitola 3.6.3).

Z níže uvedené tabulky vyplývá, že provozní parametry jednotlivých zařízení vycházejí ze stejného základu a bioplynové stanice se od sebe odlišují pouze specifiky daného provozu.

Tabulka 9: Základní parametry provozů

Zařízení	BPS A	BPS B	BPS C	BPS D	BPS E	BPS F	x
Provedení fermentačních nádrží	monolytická železobetonová nádrž s pevným stropem						

Reakční objem fermentorů

Fermentor (1. stupeň)	2038 m ³						
Dofermentor (2.stupeň)	2285 m ³						

Látkové zatížení [kg organických látek/ m³ * den]

Fermentor	4,2	4,5	4,0	4,9	4,1	4,4	4,4
Celkové	1,9	2,1	1,9	2,3	1,9	2,1	2,0

Hydraulická retenční doba [dny]

Fermentor - průměrná hodnota	33,1	28,1	40,2	28,2	46,1	30,5	34,4
Dofermentor - průměrná hodnota	37,1	31,4	40,5	31,7	51,7	34,2	37,8
Celková [+/- 3 dny]	70,0	60,0	80,0	60,0	95,0	65,0	71,7

Teplotní optimum fermentorů - mezofilní (38-40°C)

Výkonové parametry

Instalovaný el. výkon [kW _{el}]	525	525	525	525	525	525	525
Čistá produkce el. energie [kWh] *	481,0	483,2	470,9	481,3	486,4	484,8	481,3
Instalovaný tepelný výkon [kW]	558,0	558,0	558,0	558,0	558,0	558,0	558,0

* průměrná hodnota za celkovou dobu provozu zařízení

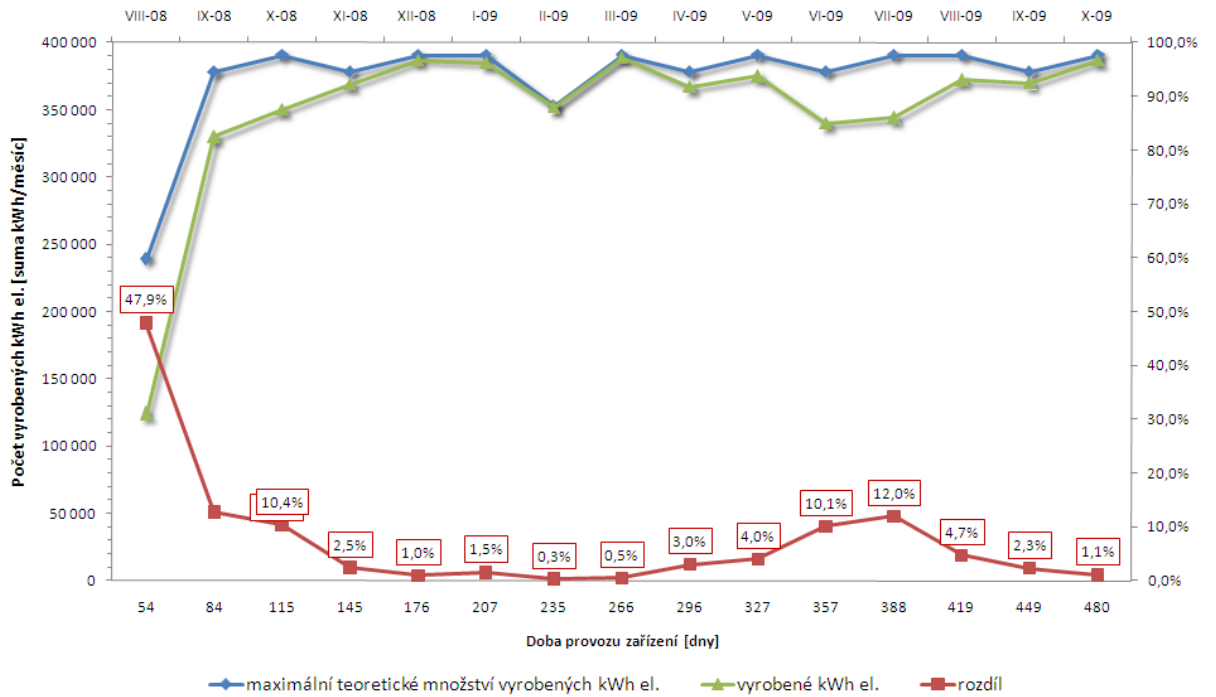
3.6.3. Provozní charakteristiky

Průběhy produkce hrubé elektrické energie jsou zobrazovány u jednotlivých provozů v sérii grafů A1. Při porovnání skutečné produkce s produkcí teoreticky maximální za kalendářní období je z většiny grafů zřejmá vysoká intenzifikace provozů. Zajímavým ukazatelem je výkyv v produkce za měsíc červenec (VII-09), který byl charakteristický pro více provozů.

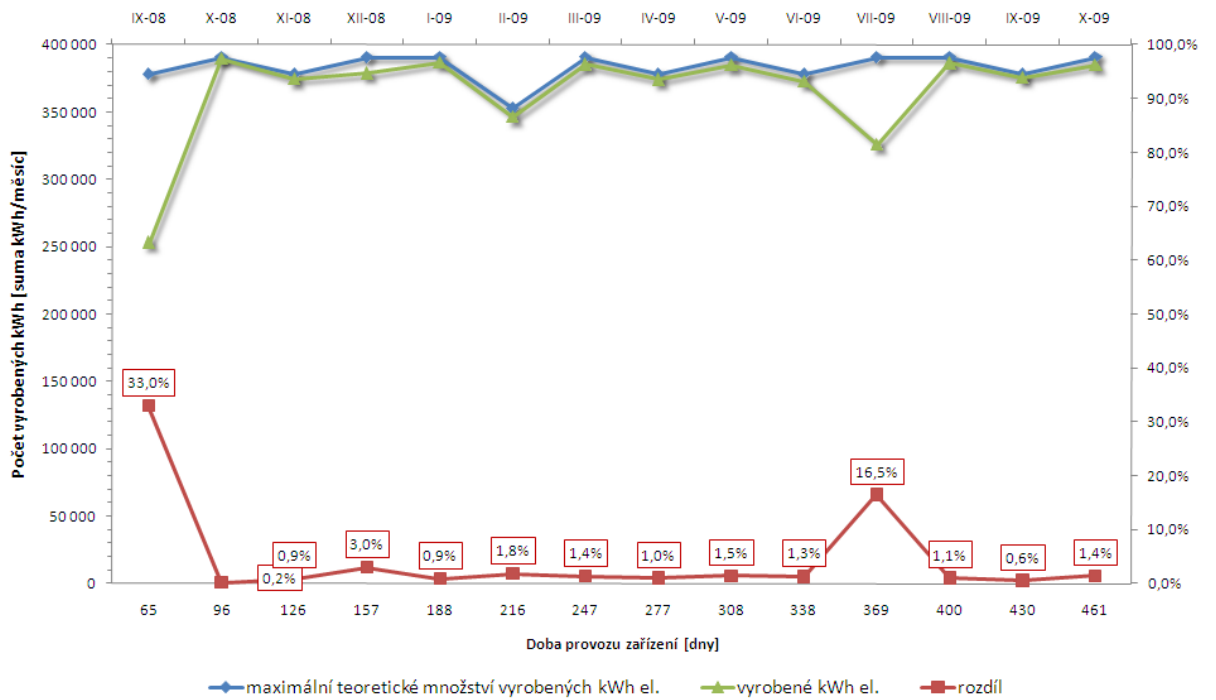
Skutečnost, že v této době neměly většinou tyto provozy k dispozici dostatek kvalitních siláží či, že skladovací prostory byly vyprazdňovány a připravovány na naskladnění nového materiálu, značně přispěla ke snaze provozovatelů využít jako substrát pro bioplynovou stanici i větší množství méně energeticky bohatého či po stránce homogenity horší materiály. Výsledkem mnohdy byla nejen nižší produkce bioplynu ,ale také technologické problémy způsobené vlastnostmi daného materiálu (výpadky míchadel).

Graf 18: Hrubá měsíční produkce elektrické energie KVET

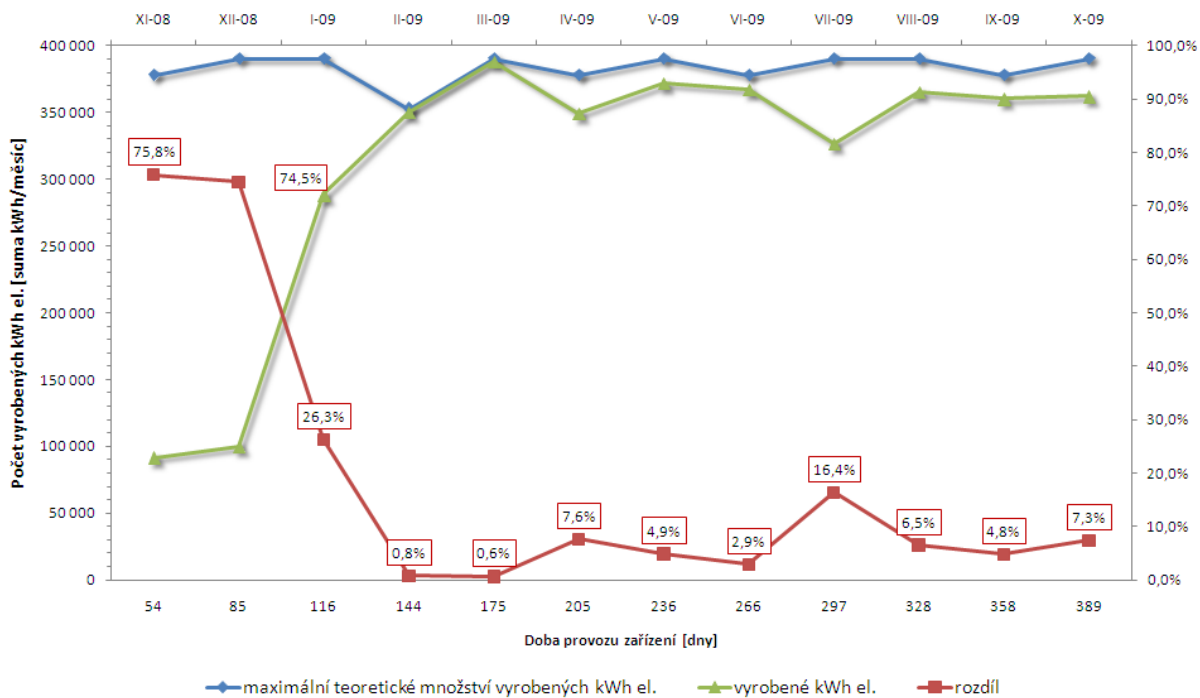
A1 BPS A



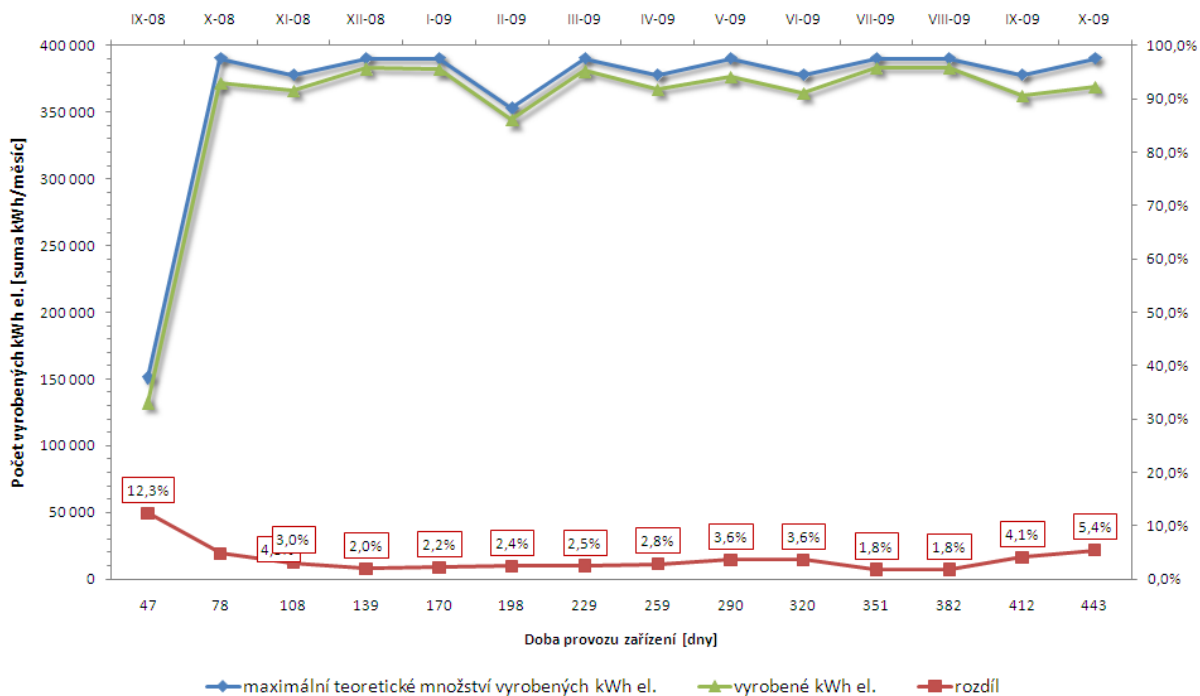
A1 BPS B



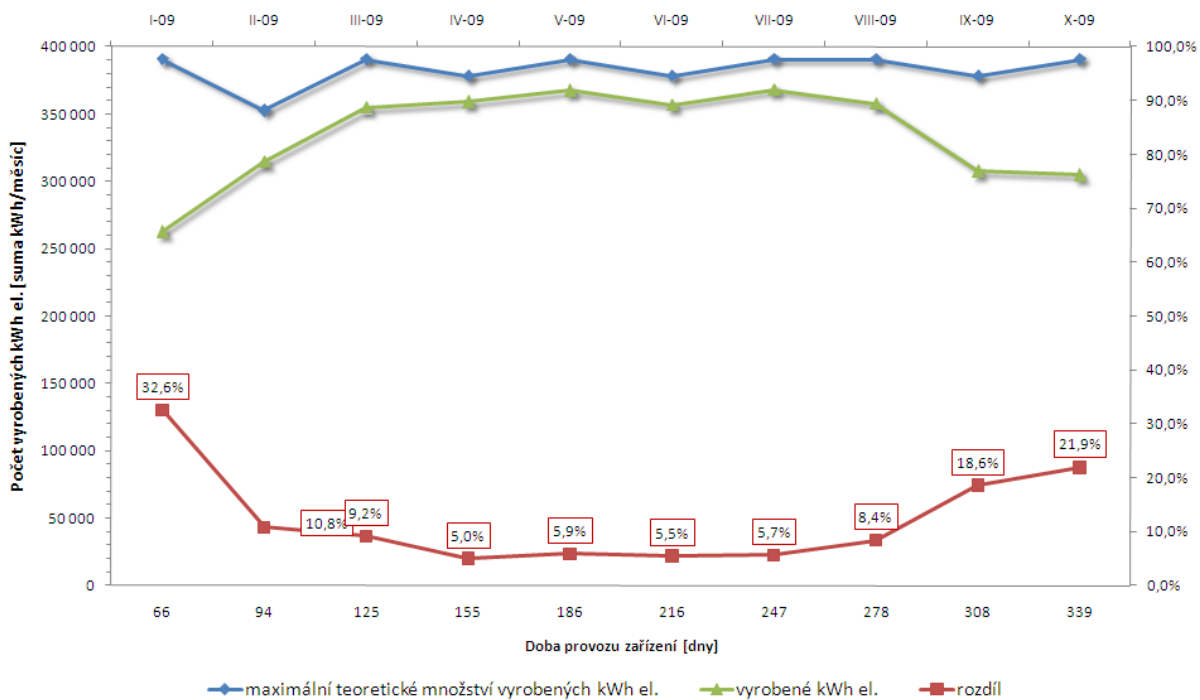
A1 BPS C



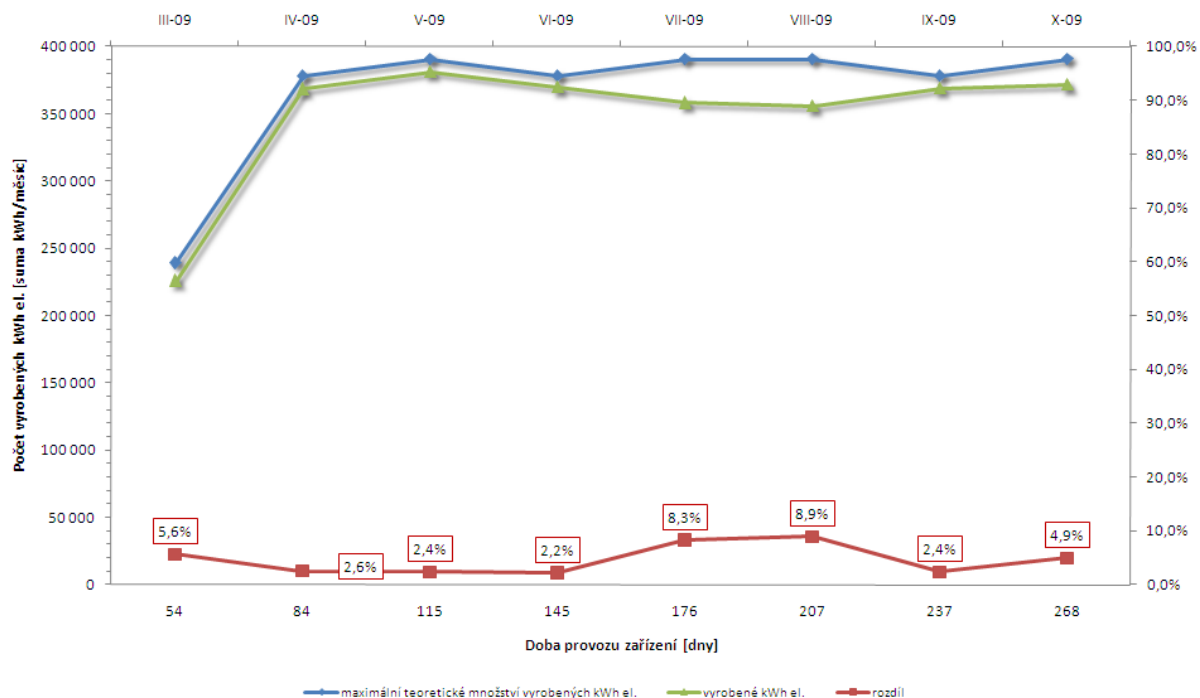
A1 BPS D



A1 BPS E



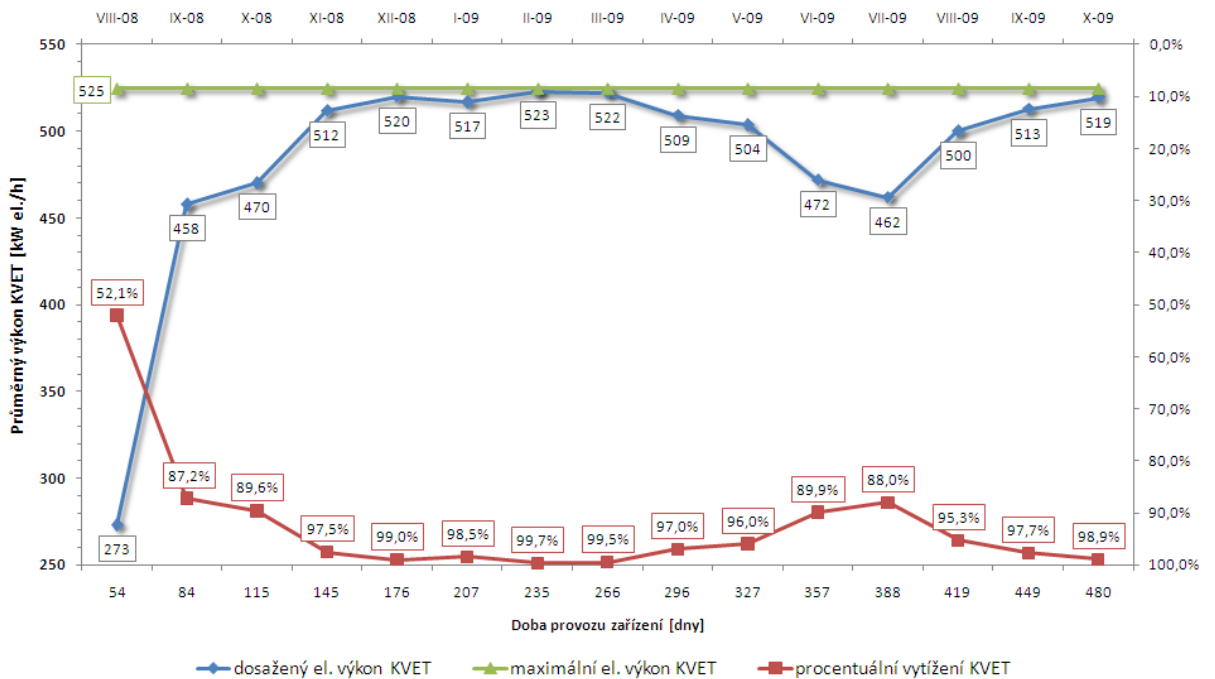
A1 BPS F



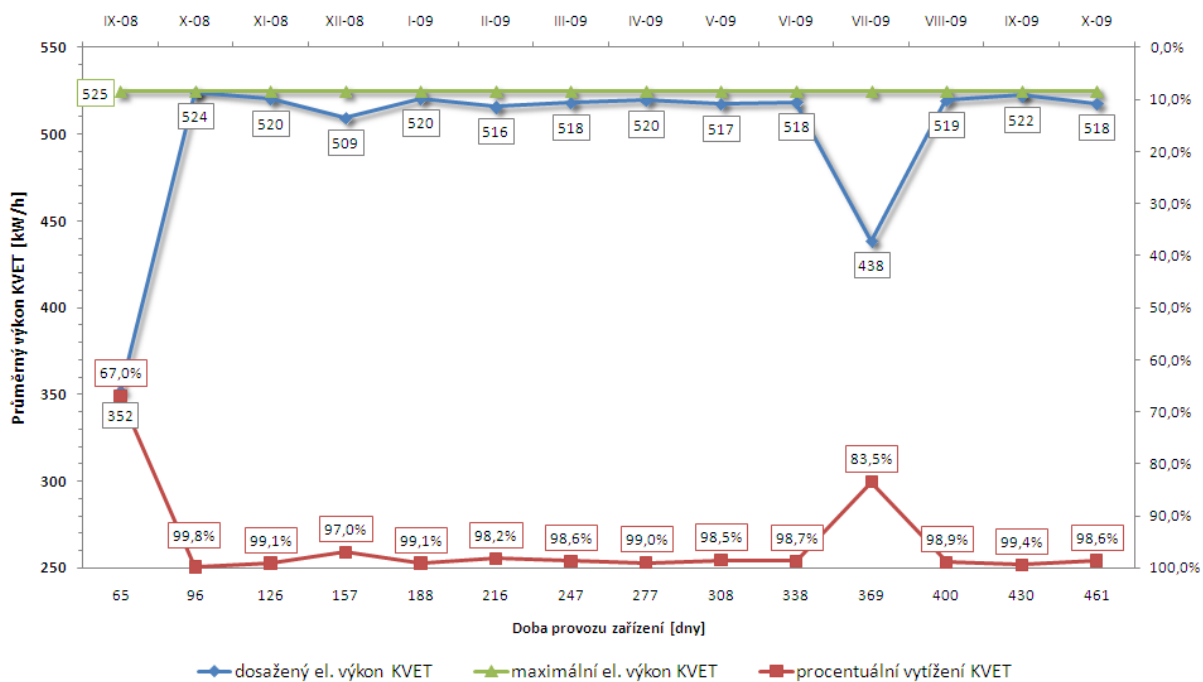
Ze série grafů A2, které znázorňují provozní vytížení kogenerační jednotky v daném zařízení, byly nízké hodnoty v počátku provozu zaznamenány u BPS-C. Zde byl pozvolný náběh a tudíž odpovídající provozní zatížení kogenerační jednotky způsoben problematickým zpracováním fermentoru. Přímou příčinou tohoto omezení byla nevhodná velikost částic dávkovaného hlavního substrátu (nedostatečně nařezaný materiál kukuřičné siláže), která způsobila pomalejší rozklad a zejména zapříčinila tvorbu plovoucích vrstev, a tím nemohlo být zvýšeno organické zatížení procesu.

Graf 19: Efektivní vytížení KVET výrobou elektrické energie

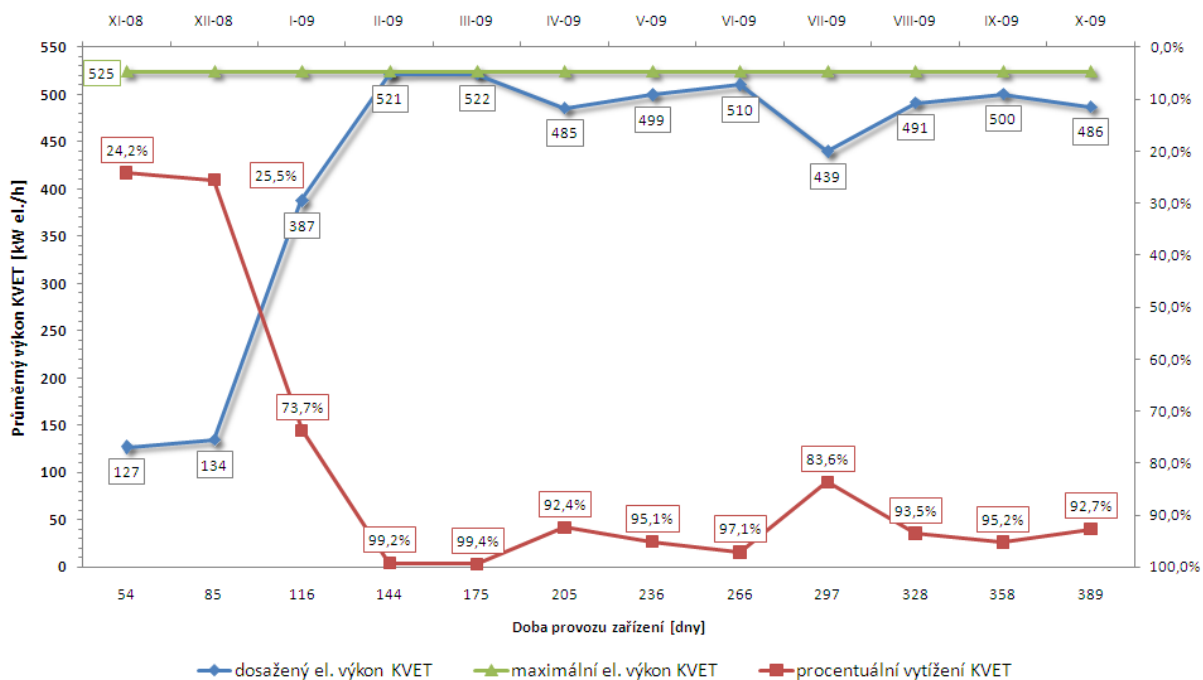
A2 BPS A



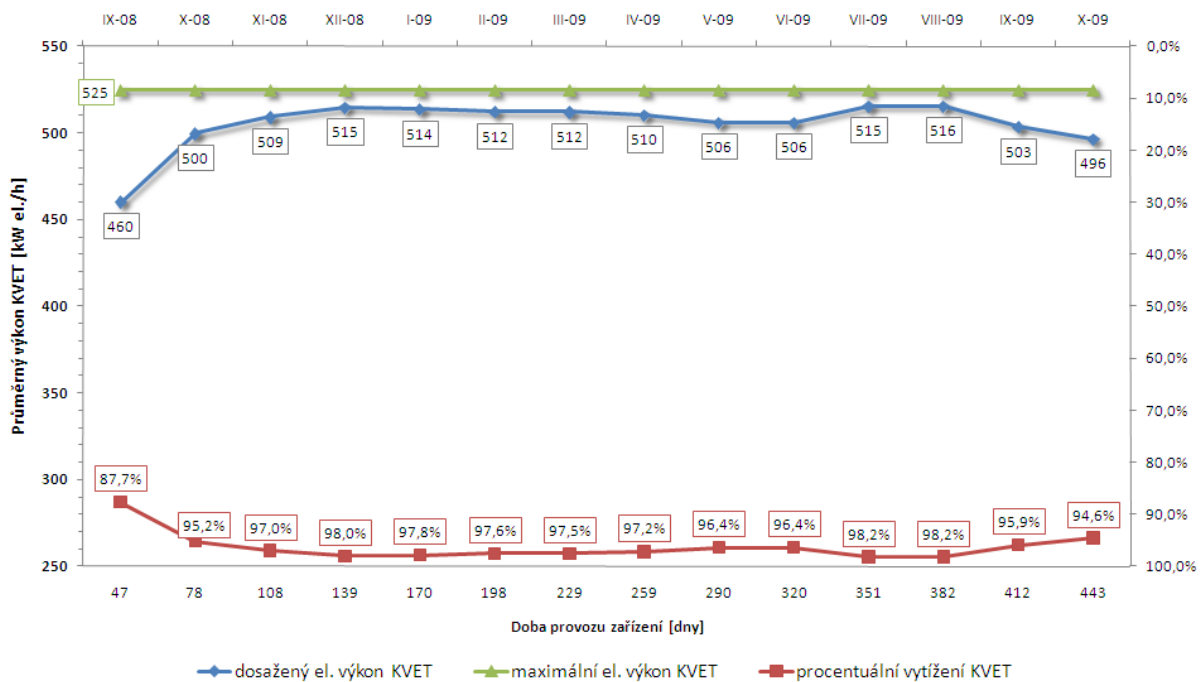
A2 BPS B



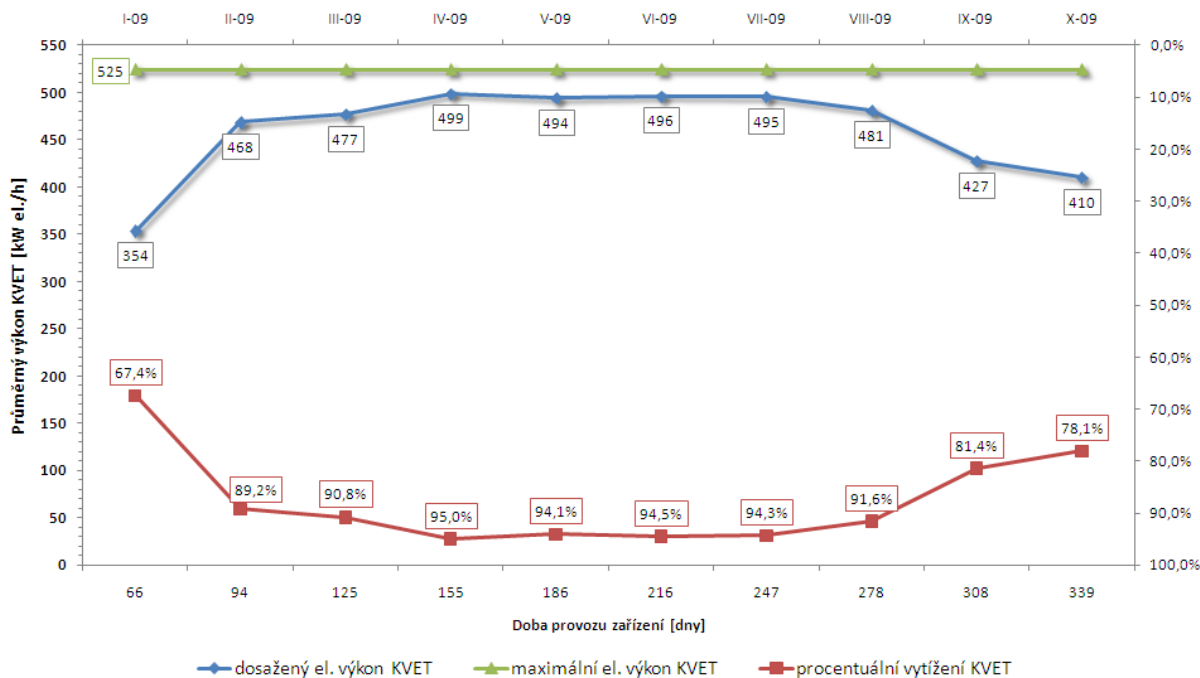
A2 BPS C



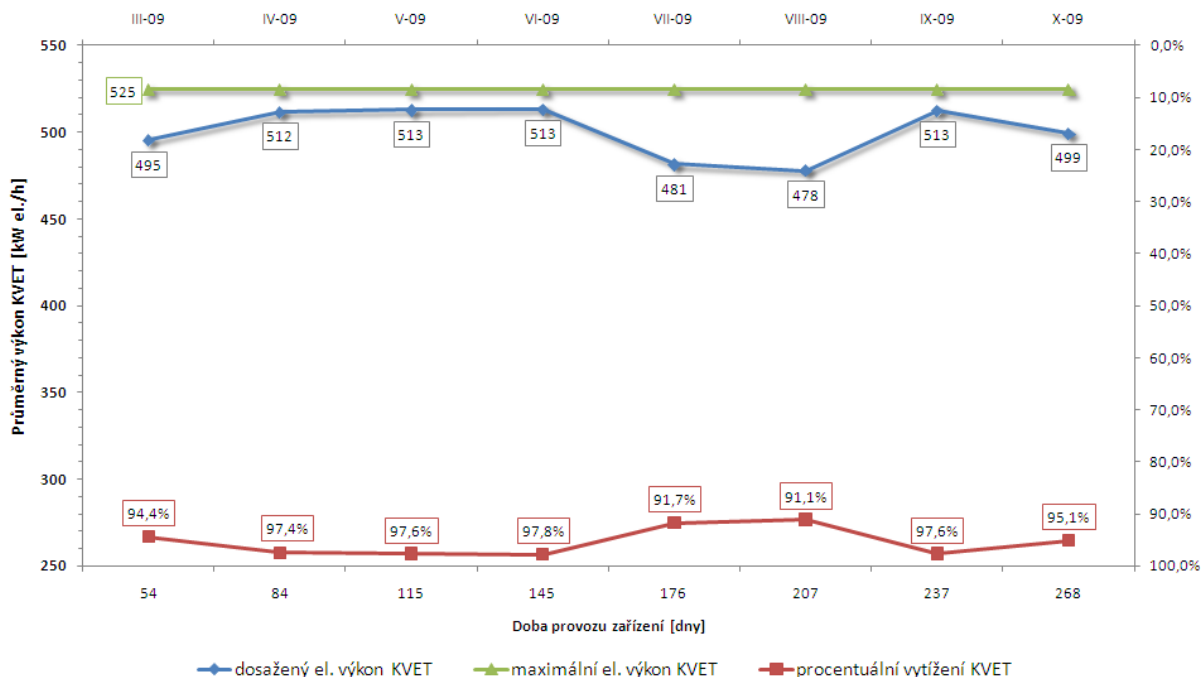
A2 BPS D



A2 BPS E



A2 BPS F

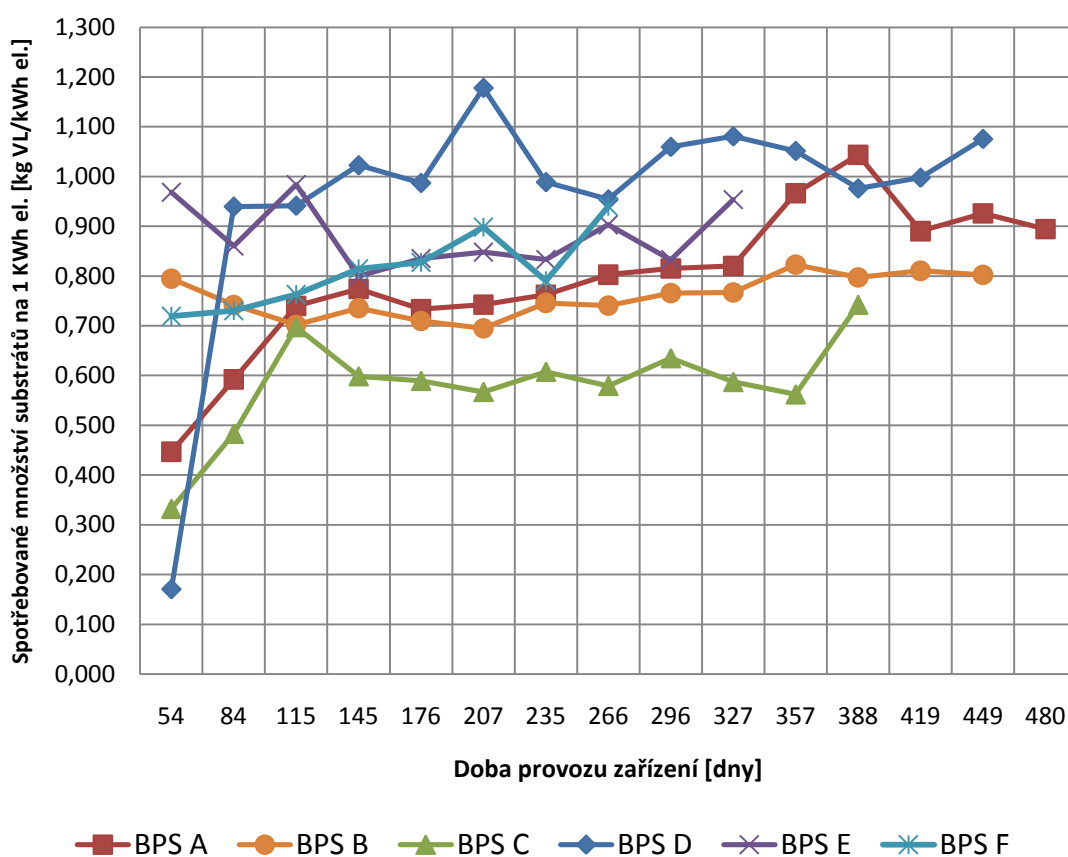


Zajímavým srovnáním BP zařízení je vyjádření jejich efektivity provozu v průměrné spotřebě sušiny substrátů na jednotku výkonu (1 kWh el.). Z výsledků porovnání je vidět jistá variabilita ve spotřebě substrátů a tudíž v předpokládaných nákladech na produkci 1 kWh el. Jako hlavním činitelem ovlivňující daný ukazatel efektivity provozu byl určen průtočný objem zpracovávaných substrátů. V rovozech, kde byly zpracovávány živočišné odpady ze stájí (zejména hovězí kejda), byl průtok znatelně vyšší než u provozů, které využívaly těchto substrátů v menší míře. Tyto vyjmenované faktory mají za následek menší využití substrátu a menší procesní efektivitu z důvodu zkrácení doby zdržení organického materiálu v procesu anaerobní digesce.

Lze konstatovat, že provozy s vyššími hodnotami spotřeby sušiny na 1 kWh el. mají sice menší procesní efektivitu, ale jejich finanční náklady na vyrobenou kWh el. jsou výrazně výhodnější. Pokud zpracováním těchto substrátů nedochází k zásadní změně provozních parametrů (doba zdržení, vysoké nároky na temperaci fermentorů), nelze jejich zpracování nedoporučit.

Ze vzájemného porovnání skutečných spotřeb sušiny substrátů na kWh elektrické energie, který popisuje graf 20, je patrná odlišnost v uváděných spotřebách. Je zřejmé, že hlavními faktory vedoucí k popsáním rozdílům jsou nejen kvalita zpracovávaných substrátů, ale také skutečnost, že veškeré BPS jsou v provozu krátce a nemuselo u nich ještě dojít k plnému zpracování. Proto lze předpokládat jistou míru ovlivnění těchto provozů kvalitou očkovacího materiálu.

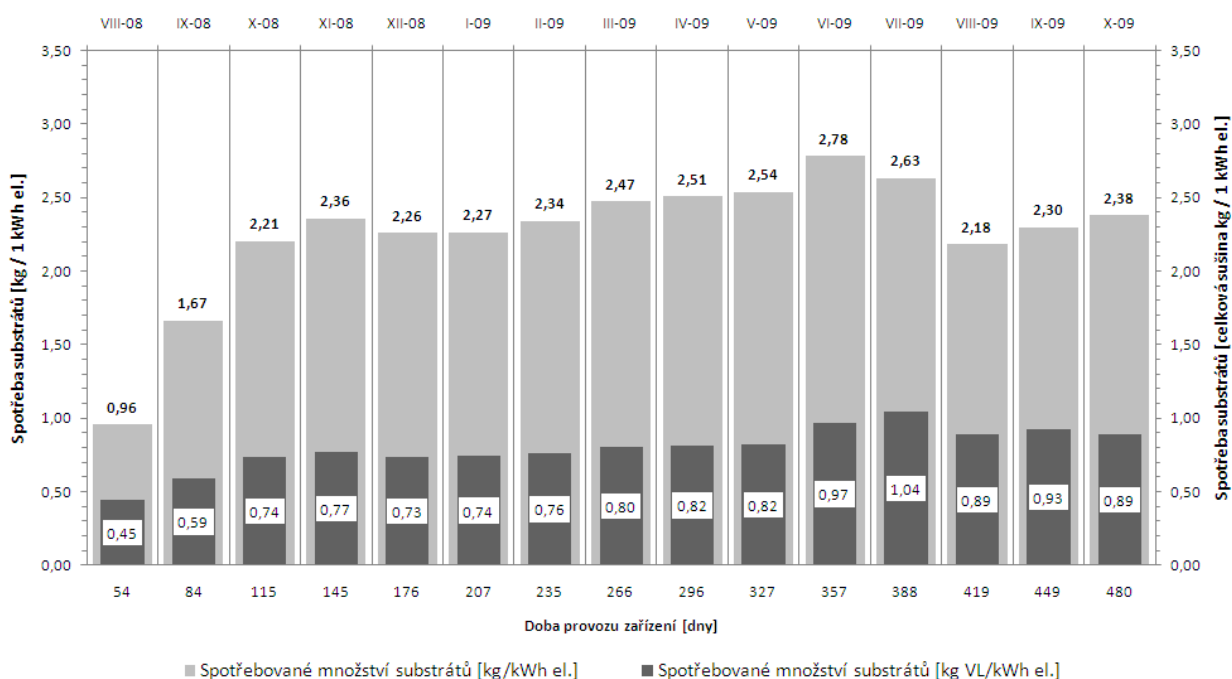
Graf 20: Celková spotřeba sušiny substrátů na kWh elektrické energie



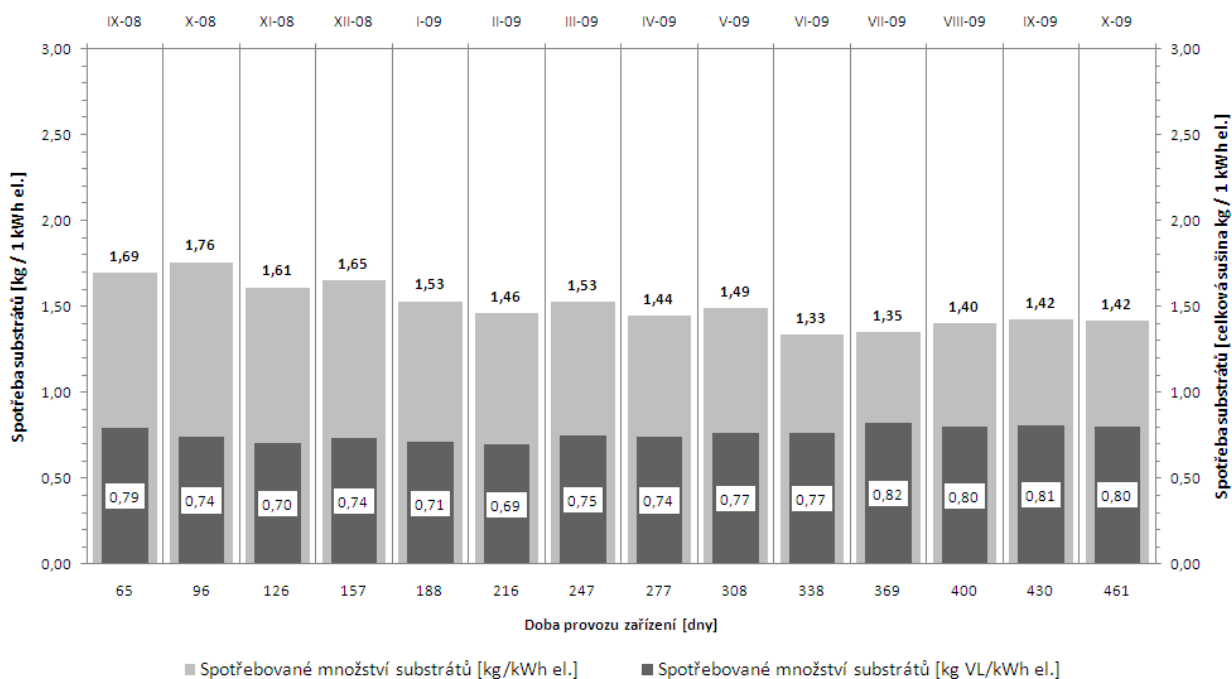
Informaci o množství přepraveného – zpracovaného materiálu zobrazují grafy série C1, ze kterých lze zjistit spotřebu substrátů (hmotnostně vyjádřenou) na 1 vyrobenou kWh elektrické energie. Rozdíly, které ze vzájemného porovnání těchto hodnot vyplývají, jsou zapříčiněny u zmíněných provozů využíváním odpadních živočišných substrátů s nižším obsahem sušiny (hovězí a vepřová kejda). U těchto provozů lze očekávat vyšší náklady odvíjející se z vyššího denního průtoku fermentory, ale také náklady spojené s likvidací většího objemu fermentačních zbytků – digestátu.

Graf 21: Spotřeba substrátů na 1 kWh elektrické energie (tonáž, sušina)

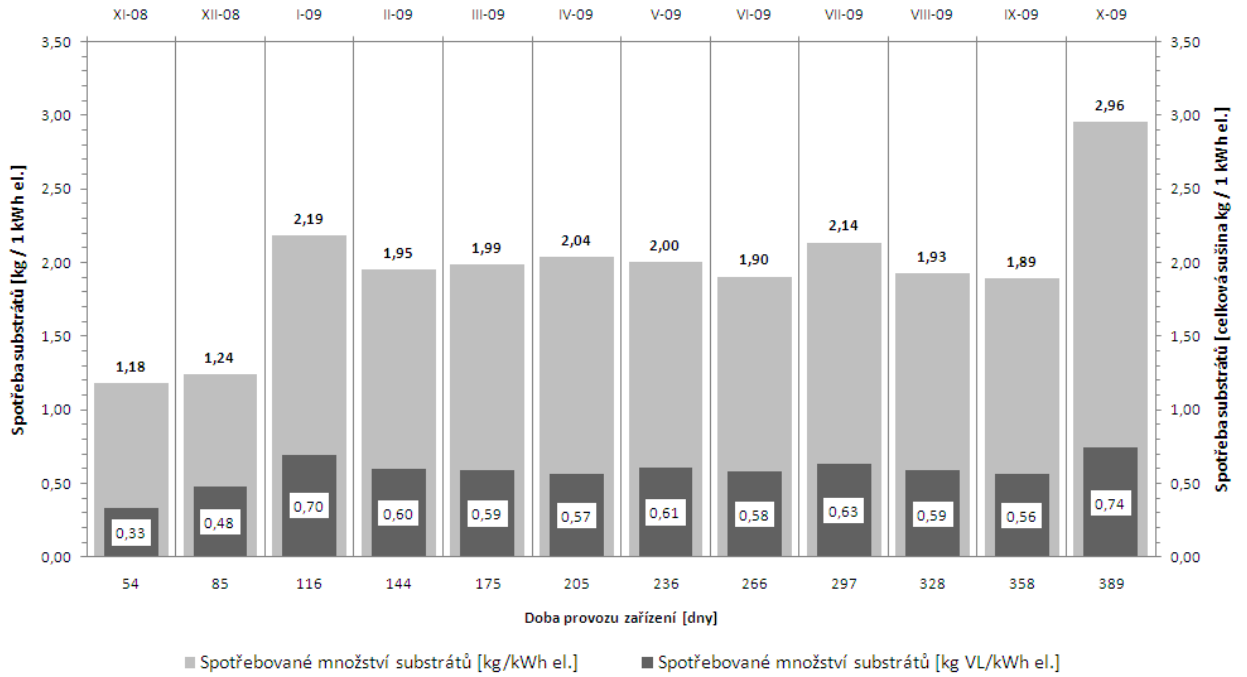
C1 BPS A



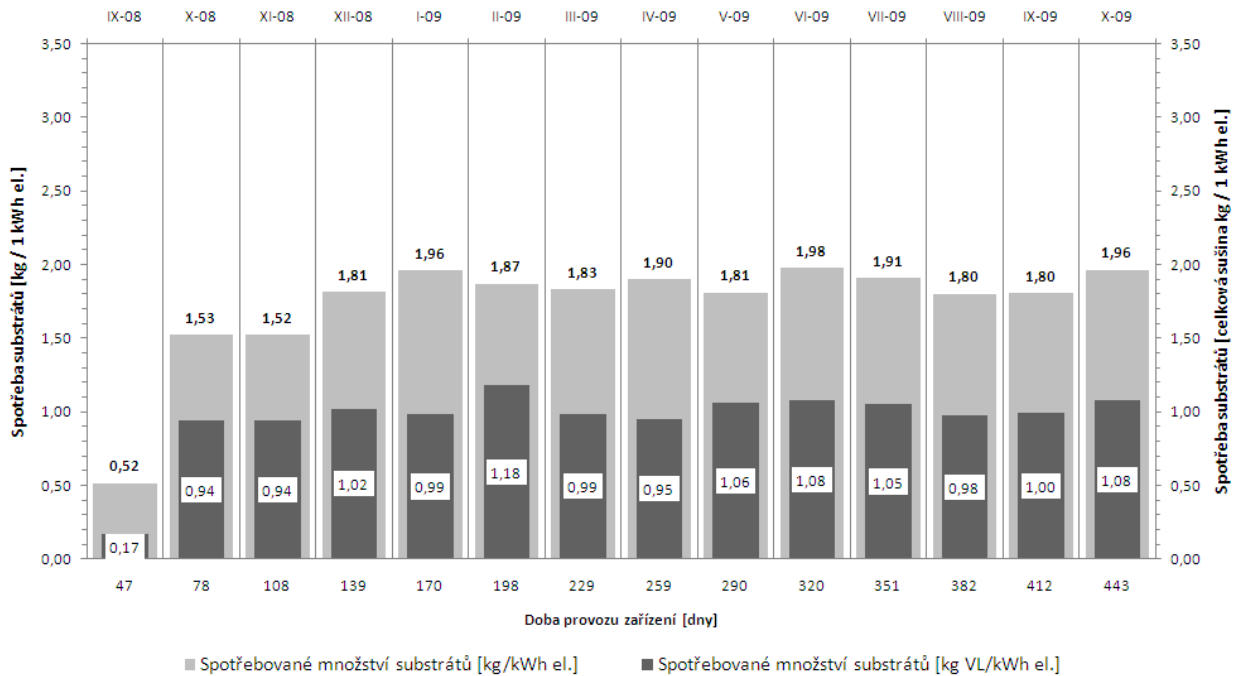
C1 BPS B



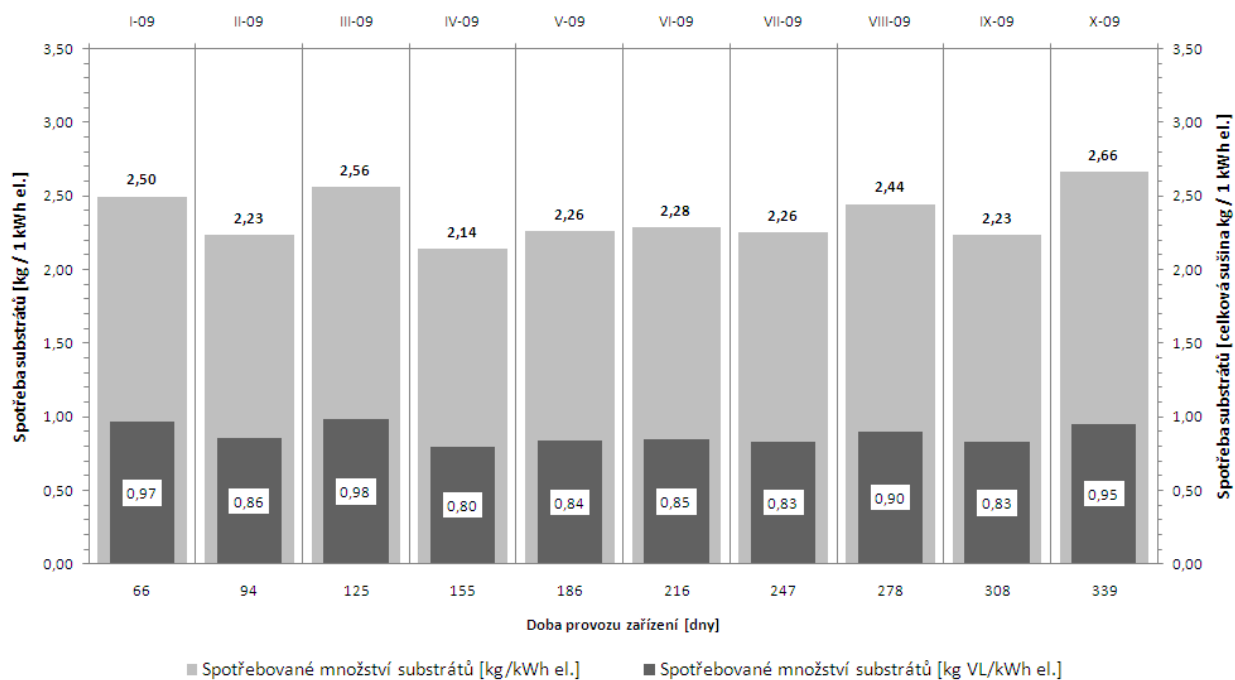
C1 BPS C



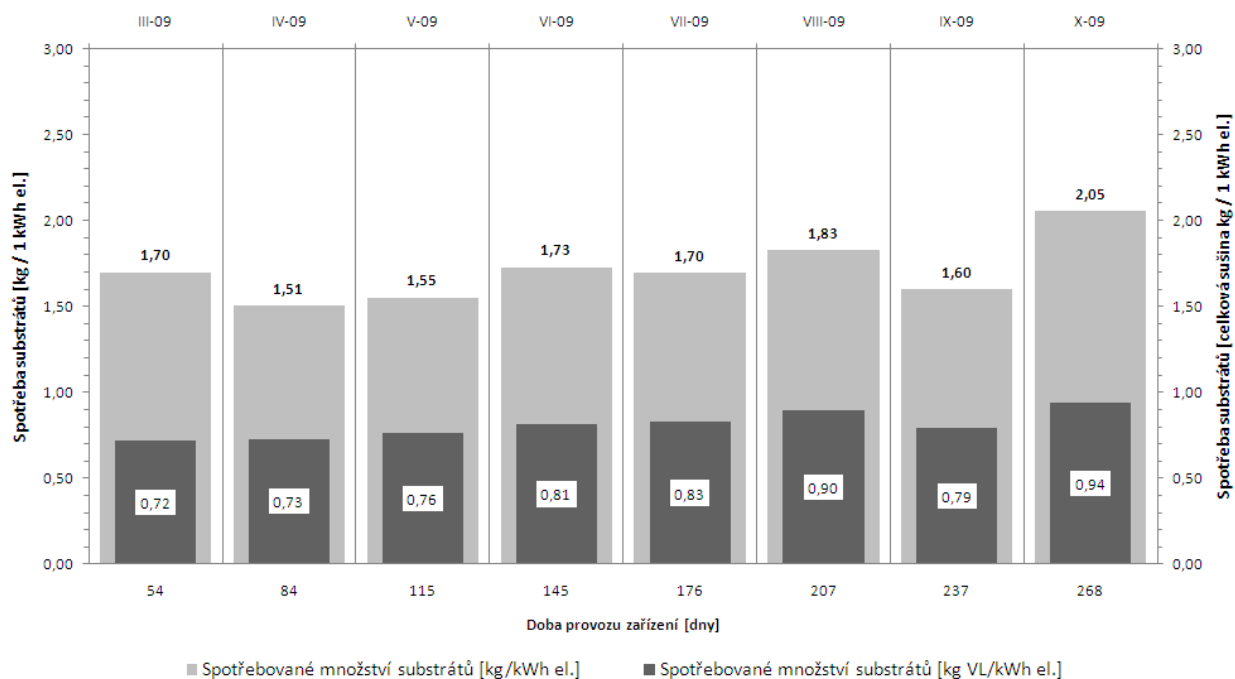
C1 BPS D



C1 BPS E



C1 BPS F



3.6.4. Závěrečná charakteristika

Popsané provozy bioplynových stanic byly sledovány od svého spuštění do současné doby provozu, celková doba sledování nepřesahuje dobu 1 roku. I za tuto provozně relativně krátkou dobu však byla zjištěna řada poznatků, které představují cenné podněty pro další možnosti současného výzkumu.

3.7. Studium problematiky procesu rychlé pyrolýzy

Z literatury se o rychlé pyrolýze dozvídáme, že se jedná o termický proces, pro jehož optimální průběh ve smyslu dostatečného výtěžku pyrolyzní kapaliny je zapotřebí teplota kolem 450 - 550°C, malá velikost částic zpracovávaného materiálu (menší nebo rovny 2 mm) a vyprodukované páry by měly být odděleny od zuhelnatělé hmoty a kondenzovány bezprostředně po své produkci proto, aby bylo zabráněno jejich sekundárnímu štěpení na další plynné produkty.

Lze konstatovat, že poslední dvě tvrzení dle současných výzkumů (Andrews et al., 1996; Bridgwater et al., 1999; Elliott, 1994) jsou nedostatečně podpořeny teoretickým i experimentálním zkoumáním. V některých odborných pramenech lze nalézt protichůdné výsledky testů, a to i v základních tvrzeních. Řada zásadních otázek pro reálné využití procesu rychlé pyrolýzy tak zůstává stále neobjasněna.

Je třeba uvést, že výzkum v oblasti termických rozkladů různých materiálů probíhá již řadu desetiletí, avšak výzkum v oblasti vývoje technologie rychlé pyrolýzy začal před pouhými 20 lety. Na počátku 90. let 20. století byl výzkum zaměřen na rozvoj speciálních pyrolyzních reaktorů, jako je například systém Vortex (Diebold et Scahill, 1997), rotující kůželový reaktor (Peacocke, 1994; Boutin et al., 1997), cyklónový reaktor (Bramer et Brem, 2002; Lede et al., 1986) nebo vakuový či fluidní reaktor (Rossi et Graham, 1997; Roy et al., 1988; Amen-Chen, 2001; Scott et Piskorz, 1982; Lappas et al., 2002). Také realizace prototypových zařízení byla významně započata až na konci devadesátých let dvacátého století, pilotní projekty byly zrealizovány ve Španělsku (Union Fenosa), Itálii (Enel) (Rossi et Graham, 1997), Velké Británii (Wellman)(McLellan, 2000), Kanadě (Pyrovac, Dynamotive) (Roy et al., 1997, 35), Finsku (Fortum)(Gust et Nieminen, 2002) a Nizozemí (BTG)(Prins et Wagenaar, 1997). Některá další demonstrační zařízení postavená například firmami Dynamotive či BTG mají za cíl využití

pyrolyzních produktů (zejména pyrolyzního oleje) nejen pro produkci energie, ale také jako suroviny pro chemický průmysl. Například firma Ensyn využívá pyrolyzní technologii k produkci aromatických látek obecně nazývaných „tekutý kouř“ k potravinářským účelům.

Musíme však zmínit skutečnost, že mnoho těchto pilotních projektů bylo pozastaveno po počátečním testování či v pozdějším provozu. Jako hlavní důvod tohoto prozatímního neúspěchu pyrolyzních technologií je uváděn nedostatek důvěry v ekonomické aspekty provozu či se tak stalo z důvodu tržního a legislativního omezení.

V této práci jsme se zaměřili na studium základních vlastností fytomasy při procesu termické degradace či problematiku jejich pyrolytické konverze na konečné produkty procesu. Cílem těchto provedených analýz bylo zodpovědět základní otázky využití fytomasy pyrolytickými procesy. Pro studium byly zvoleny základní metody termické analýzy (TG, DTA), které byly doplněny o spektrální analýzu plynných produktů termického rozkladu (FTIR).

Předpokládaným cílem studia termického rozkladu fytomasy bylo zodpovědět základní otázky problematiky pyrolytických procesů. Byly také provedeny elementární analýzy vzorků, ze kterých bylo vypočítáno spalné teplo a výhřevnost materiálů.

Studium termických vlastností

Zjištěné charakteristiky termogravimetrické analýzy poskytly údaje o termické rozložitelnosti zkoumaného materiálu či o jeho poměru prchavé hořlaviny a popelovin, který je jedním z hlavních faktorů určujících výtěžek pyrolyzních produktů.

Byly zjištěny výrazné tepelné degradace u většiny druhů fytomasy. Výrazné termické degradace materiálu byly zaznamenány již v relativně nízkých teplotách. Tato skutečnost potvrzuje snadnou termickou rozložitelnost rostlinného materiálu a velký obsah labilních látek. Značný podíl prchavé hořlaviny dává potenciál k efektivní produkci pyrolyzních produktů.

Získané poznatky termické degradace lignocelulóзовého materiálu jsou v souladu s hodnotami uváděnými v odborné literatuře. Staf et al. (2007, 2004) se zabýval sledováním změn složení a výhřevnosti produkovaného pyrolyzního plynu. K tomuto účelu kromě termického analyzátoru využíval retortový pyrolyzátor, jehož výsledky byly porovnávány s hodnotami TG-DTA. Za hlavní příčinu rozdílů, které však nepřesáhly přijatelnou mez, uvádí technickou odlišnost obou zařízení.

Lze konstatovat, že bylo dosaženo shody v parametrech stupně konverze materiálu při dané teplotě. Výsledky měření prokázaly, že majoritní podíl konverze je z více než 65% dosažen za teploty nižší než 700°C a že lze dosáhnout stupeň konverze u většiny materiálů až z 90% do teplot 1000°C při teplotních gradientech 10 – 50°C za minutu.

Je však nezbytné zdůraznit, že získané charakteristiky laboratorních termogravimetrických analýz zkoumaných vzorků jsou poznatky z průběhu pyrolytického procesu, které však nelze sumarizovat pro proces rychlé pyrolýzy. Technologická specifika procesu rychlé pyrolýzy totiž neumožňují jeho dostatečnou simulaci v laboratorních podmínkách (TG, DTA) tak, aby získané poznatky mohly být prakticky využity. Proto se pro studium kinetiky procesu rychlé pyrolýzy nejlépe osvědčily přímo technologické modely, které jsou vybaveny pyrolyzními reaktory s dostatečnou kapacitou a účinností (Bridgwater, 1995; Diebold, 1997).

Problematiku vhodných metod zkoumání procesu potvrzují značné rozptyly uváděné v kinetice reakcí či výrazné odlišnosti ve skutečných rychlostech reakcí pro jednotlivé typy biomasy, jak uvádí odborná literatura (Wang, 2006, Bramer et al., 2002).

Hlavní faktory procesu rychlé pyrolýzy

Kromě již zmíněných kritérií (velikost částic, teplota) je velmi důležitým faktorem také čas přeměny reagujících částic. Znalost tohoto faktoru se stává stěžejním poznatkem pro samotný návrh pyrolyzního reaktoru. Velikost – objem reaktoru přímo ovlivňuje zdržení reagujících částic v procesu.

Externí koeficient přenosu tepla (vztažený k typu reaktoru) má malý vliv na výtěžky produktů při teplotách rychlé pyrolýzy. Jeho vliv se projevuje u částic menších nebo rovných 3 mm. Vliv velikosti částic na výtěžek kapaliny je velmi omezený, tento fakt lze zdůvodnit účinnou rychlostí ohřevu částic (Wang, 2006).

Složení pyrolyzních produktů se odvíjí od dosažené teploty procesu. Množství monocyklických a polycyklických aromatických uhlovodíků bylo v pyrolyzních produktech určeno jako větší oproti koncentraci v dřevním plynu (Bridgwater, 1995; Diebold, 1997). Řada výzkumů v této oblasti prokázala určité snížení toxicity zkapalněných pyrolyzních produktů (pyrolyzních olejů), které nastává postupem času a je zapříčiněno jejich zvýšenou reaktivitou (Evans et Milne,

1987). Jako hlavní příčinou značné nestability pyrolyzních olejů jsou udávány organické příměsi, které se mohou chovat jako katalyzátory rozkladných reakcí.

Byly provedeny analýzy plynných pyrolyzních produktů, hlavními majoritními pyrolyzními plyny byly určeny CO_2 , H_2 , CO , CH_4 , C_2H_6 . Od podrobnějších analýz bylo odstoupeno z důvodu problematiky interpretace stanovení.

4. ZÁVĚR

Cílem předkládané dizertační práce bylo ověření stávajících metod k posouzení anaerobní rozložitelnosti organického materiálu určeného pro anaerobní digesci.

Experimentálním výzkumem metody OXI TOP se nepotvrdil předpoklad jejího využití k testování vzorků fytomasy. Metoda sice umožňuje současně zpracovávat dostatečné množství variant, a proto se jevila jako ideální pro podrobnou vědeckou práci, bohužel však přes veškerou snahu se prokázala jako metoda nevhodná. Kromě problémů s inokulem zejména proto, že reálnou fytomasu v homogenním složení v tak malých navážkách nelze zcela přesně navážít. Požadovaný vzorek fytomasy v patřičném stupni homogenity lze jen stěží v běžném zařízení připravit. Metoda však dosahuje dobrých výsledků při práci s homogenními materiály či s čistými organickými chemikáliemi.

V průběhu práce se ukázalo, že rozložitelnost organické hmoty je významná vlastnost, která je sledována nejen u anaerobní digesce, ale i v aerobní verzi při kompostování, a dokonce stupeň lability organické hmoty v půdě začal být považován za rozhodující prvek půdní mikrobiální aktivity, a tedy i potenciální půdní úrodnosti. Univerzálně pro výzkum i praxi po všech stránkách nevyhovuje zcela žádná metoda. Opustili jsme proto mikrobiologické hydrolýzy anaerobní i aerobní a začali jsme se ve výzkumném kolektivu katedry zabývat jen samotnou chemickou hydrolyzovatelností různých druhů fytomasy. Srovnali jsme hydrolytické procesy metod Roviry et Vallejo s různou koncentrací H_2SO_4 , teplotou a časem, s postupnou oxidací dle Walkley Blacka už z roku 1934, do srovnání jsme zařadili i reakční kinetiku chemické oxidace neutrálním 333 mM roztokem $KMnO_4$ dle Blaira a ukázalo se, že tato cesta je velmi slibná, protože umožňuje velké série variant, je srovnatelná s mikrobiologickými metodami, dosahuje dostatečné přesnosti a reprodukovatelnosti. Metoda je schopna poskytovat informace o zkoumaném materiálu pro procesy anaerobní i aerobní a bude ji možno využít všude tam, kde se posuzuje stabilita či lability jakékoli organické hmoty. Tato metoda je podána jako patent kolektivem mateřské katedry a po ukončení patentového řízení bude publikována.

Všechny výsledky, které obsahují i dílčí cíle mé dizertační práce, jsou obsaženy v publikacích celého výzkumného kolektivu katedry aplikovaných biotechnologií Zemědělské fakulty JU v Českých Budějovicích, kterému děkuji za vědeckou výchovu.

5. SEZNAM LITERATURY

AETM E 203 Standard test method to water using volumetric Karl Fischer Titration. Eaton, MD: American Society for Testing and Materials, 1996.

Aglevor, F.A., Besler, S., Wiselogel, A.E. Production of oxygenated fuels from biomass: impact of storage conditions. *Fuel Science and Technology International*, vol. 14, no. 4, 1996. pp. 589 – 612.

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.

Amen-Chen, C., Softwood bark vacuum pyrolysis oils-phenol-formaldehyde resols for bonding oriented strand board (OSB); Ph.D. Thesis, Laval University, Quebec, Canada, 2001.

Amon, T., Jeremic, D., Boxberger J. Neue Entwicklungen der landwirtschaftlichen Biogaserzeugung in Österreich. In: Freyer, B. (Ed.) 6. Wissenschaftstagung zum ökologischen Landbau, 6.- 8. März 2001, Freising Weihenstephan/Deutschland, 2001. s.465 - 468.

Amon, T., Kryvoruchko, V., Amon, B., Gruber, I. Anaerobic digestion of maize, clover grass and animal manures: influence of nutrient composition on methane production. in: weiske, a. (ed.) *greenhouse gas emissions from agriculture, mitigation options and strategies*, international conference february 10–12. 2004, Leibzig, Germany, pp.102–106.

Amon, T, Amon, B., Kryvoruchko, V., Zollitsch, W., K. Mayer, L. Gruber, *Biogas production from maize and dairy cattle manure—Influence of biomass composition on the methane yield* 2007 In *Agriculture, Ecosystems and Environment* 118 p. 173-182.

Anderson, G.K., Kasapgil, B. And Ince, O. Comparison of porous and non-porous media in upflow anaerobic filters when treating dairy wastewater. *Water Research*, 28, 1994. pp. 1619-1624.

Andrews, R.G., Patniak, P.C. Feasibility of utilizing a biomass derived fuel for industrial gas turbine applications. *Bio-oil production and utilization. Proceedings of the 2nd EU/Canada Workshop on thermal biomass processing*, CPL Press, Newbury, U.K., 1996. pp. 236 – 245.

Andrews, R.G., Zukowski, S., Patnaik, P.C. Feasibility of firing an industrial gas turbine using a biomass derived fuel. In: Bridgwater AV, Boocock DGB, editors. *Developments in thermochemical biomass conversion*, London, UK, Blackie Academic and Professional Press, 1997. pp. 495–506.

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.

Antal, M.J., Varhegyi, G. Cellulose pyrolysis kinetics: the current state of knowledge, *Ind. Eng. Chem. Resource*, Vol. 34, 1995. pp. 703 – 717.

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.

Archer, D.B. The microbial basis of process control in methanogenic fermentation of soluble wastes. *Enzyme Microbial Technology*, 5, 1983. pp.162-169.

ASTM D 1744 Standard test method for water in liquid petroleum products by Karl Fischer reagent. Eaton, MD: American Society for Testing and Materials, 1988.

- Aubin, H., Roy, C. Study on the corrosiveness of wood pyrolysis oils, *Fuel Science and Technology International*, Vol. 8, 1980. pp. 77 – 86.
- Azbar, Nuri, Pepi Ursillo, and Richard Speece. "Effect of Process Configuration and Substrate Complexity on the Performance of Anaerobic Processes." *Water Research*. Vol. 35, No. 3, 2000. pp. 1-13.
- 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 Microbiology*, 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.
- Bhadra, A., S. N. Mukhopadhyay, And T. K. Ghose. A Kinetic Model for Methanogenesis of Acetic Acid in a Multireactor System, *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 26, 1984. pp. 257-264.
- Binner, E., Lechner, P., Widerin, M., Zach, A. Laboratory test methods characterizing the biological reactivity of wastes In: *Landfill Processes and Waste Pretreatment*, Proceedings of the 6th International Landfill Symposium, Vol. 1, Sardinia, 1997.
- 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.
- Borja, R., Sanchez, E., Weiland, P. Influence of ammonia concentration on thermophilic anaerobic digestion of cattle manure in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Process Biochem.*, vol. 31, 1996. pp. 477-484.
- Boutin, O., et al., Temperature of ablative pyrolysis of wood. Comparison of spinning disc and rotating cylinder experiments; In *Biomass gasification and 61 pyrolysis: state of the art and future prospects*, Kaltschmitt, M., Bridgwater, A.V., Eds., CPL Press, UK, 1997, pp. 336-344.
- Bradbury, A.G.W., Sakai, Y., Shafizadeh, F. A kinetic model for pyrolysis of cellulose. *J. Appl. Polym. Sci.* Vol. 23, 1979. pp. 3271.
- Bramer, E.A., Brem, G. A novel technology for fast pyrolysis of biomass: Pyros reactor; In *Twelfth European Biomass Conference: Biomass for Energy, Industry and Climate Protection*, Amsterdam, The Netherlands: ETA-Florence and WIP-Munich, 2002.
- Braun, R., Huber, P., Meyrath, J. Ammonia toxicity in liquid piggery manure digestion. *Biotechnol Lett* 3, 1981. pp.159-164.
- Bridgwater, A., Czernik, S., Diebold, J., Meier, D., Oasmaa, A., Peacocke, G. *Fast pyrolysis of biomass: A handbook*. IEA Bioenergy Task XIII Pyrolysis Activity. Newbury: CPL Press, 1999. 188p.
- Bridgwater, A.V. An introduction of fast pyrolysis of biomass for fuels and chemicals , In: *Fast pyrolysis of biomass: A handbook*, CPL Press, Bio-Energy Research Group, UK, 2003. pp. 51-65.
- Bridgwater, A.V. Engineering developments in flash pyrolysis technology, *Proceedings of conference on bio-oil production and utilisation*, Estes Park, CO., Sempember 1994., USA, 1995. pp. 24-26.
- Bridgwater, A.V., Toft, A.J., Brammer, J.G. A techno-economic comparison of power production by biomass fast pyrolysis with gasification and combustion, *Renew Sustain Energy Rev*, Vol. 6, NO. 3, 2002. pp. 181–246.

- Brummeler, E.T. Dry anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste. PhD Thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen, The Netherlands. 1993.
- Brummeler, E.T., Dolfing, J., Lettinga, G., Zehnder, A. Methanogenesis in an Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor at pH 6 on an Acetate-Propionate Mixture. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 49, No. 6, 1985. pp.1472-1477.
- Callaghan, F.J., Wase, D.A.J. Thayanithy, K. and Forster C.F. Continuous co-digestion of cattle slurry with fruit and vegetable wastes and chicken manure. *Biomass and Bioenergy*, 22, 2002. pp.71-77.
- Callander, I.J. And Barford, J.P. Recent Advances in Anaerobic Digestion Technology. *Process Biochemistry*, 18, 1983. pp.24 – 30.
- 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.
- Cecchi, F., J. Mata-Alvarez, and F.G. Pohland (ed.). *Anaerobic Digestion of Solid Waste*, Vol 27. Water Sci. Tech., Pergamon Press, Oxford. 1993.
- Clark, R.H., Speece, R.E. The pH tolerance of anaerobic digestion. In: *Proceedings of the 5th international conference on water pollution research II-27*, 1971. pp.1-4.
- Colberg, P.J. Anaerobic microbial degradation of cellulose, lignin, oligolignols and monoaromatic lignin derivatives, In A.J.B. Zehnder (ed.), *Biology of Anaerobic Microorganisms*, John Wiley and Sons, New York, 1988. pp. 333-372.
- Colvin, J. R., Snowden, L. C., Van Den Berg, L. The Ultrastructure of the Major Species of an Enriched Methanogenic Culture Utilizing Acetic Acid. *Canadian Journal of Microbiology*. Vol. 25, 1979. pp.826-832.
- Crawford, D.L. The role of actinomycetes in the decomposition of lignocellulose. *FEMS Symp.* 34, 1986. pp. 715 – 728.
- Czernik, S., Bridgwater, A. Overview of applications of biomass fast pyrolysis oil, *Energy Duele*, Vol. 18, 2004 590–598.
- Czernik, S., Johnson, D.K., Black, S. Stability of wood fast pyrolysis oil. *Biomass and Bioenergy*, Vol. 7. No. 1-6, 1994. pp. 187-192.
- Dannenberg, S., Wudler, J., Conrad, R. Agitation of Anoxic Paddy Soil Slurries Affects the Performance of the Methanogenic Microbial Community. *FEMS Microbiology Ecology*. Vol. 22, 1997. pp.257-263.
- Demirel, B. And Yenigun, O. Two-phase anaerobic digestion processes: A Review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 77, 2002. pp.743-755.
- Diebold, J.P. A review of the toxicity of biomass pyrolysis liquids formed at low temperatures. In *Fast pyrolysis of biomass: A handbook*. CPL Press, Bio-Energy Research Group, UK, 2003. pp. 135 -160.
- Diebold, J.P. Ablative Pyrolysis of Macroparticles of Biomass, *Proceedings Specialists, Workshop on Fast Pyrolysis of Biomass*, J.P. Diebold, ed., Copper Mountain, CO, Solar Energy Research Institute, Golden, CO, SERI/CP-622-1096, 1980. pp. 237 – 252.
- Diebold, J.P., Bridgwater, A.V. Overview of fast pyrolysis of biomass for the production of liquid fuels, In *Fast pyrolysis of biomass: A handbook*, Aston University, Bio-Energy Research Group, UK, 1997. pp. 14-29.
- Diebold, J.P., Czernik, S. Additives to lower and stabilize the viscosity of pyrolysis oils during storage. *Energy and Fuels*, vol. 11, 1997. pp. 1081 -1091.
- Diebold, J.P., Schahill, J.W., Czernik, S., Phillips, S.D. Progress in the production of hotgas filtered biocrude oil at NREL. In *Proc. 2nd EU Canada Workshop on Thermal Biomass Processing*. Newbury: CPL Scientific Information Services Ltd., 1997 pp. 66 – 81.

DIN 38 414 S8 Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Schlamm und Sedimente (Gruppe S): Bestimmung der Eluierbarkeit mit Wasser, 1985.

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.

Dugba, P.N. And Zhang, R. Treatment of dairy wastewater with two-stage anaerobic sequencing batch reactor systems – thermophilic versus mesophilic operations. *Bioresource Technology*, 68, 1999. pp.225-233.

Eastmann, J.A. And Ferguson, J.F. Solubility of particulate organic during the acid phase of anaerobic digestion. *Journal Water Pollution Control Federation*, Vol. 53, 1981. pp.352-366.

Edelmann, W., Engeli, H. And Gradenecker, M. Co-digestion of organic solid waste and sludge from sewage treatment. *Water Science and Technology*, 41, 2000. pp.213-221.

Edelmann, W., Schleiss, K. And Joss, A. Ecological, energetic and economic comparison of anaerobic digestion with different competing technologies to treat biogenic wastes. *Water Science and Technology*, 41, 2000. pp.263-273.

Elder, D. J. E., Kelly, D.J. The bacterial degradation of benzoic acid and benzenoid compounds under anaerobic conditions. *Unifying trends and new perspectives, FEMS Microbiology Revue*. 13, 1994. pp. 441-468.

Elefsiniotis, P., Oldham, W.K. Influence of pH on the acid-phase anaerobic digestion of primary sludge, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, Vol. 60, 1994. pp. 89-96.

El-FADEL, M., FINDIKAKIS, A.N., LECKIE, J.O. Numerical modelling of generation and transport of gas and heat in landfills. I. Model formulation. *Waste management & research* (1996), 14:483-504. II. Model application. *Waste management & research* (1996), 14, 1996. pp. 537-551.

Elliott, D.C. Analysis and upgrading of biomass liquefaction products. Final report. Vol. 4, IEA Cooperative project D1 Biomass Liquefaction Test Facility Project. Richland, Washington: Pacific Northwest Laboratory, 1983. 87p.

Elliott, D.C. Relation of reaction time and temperature to chemical composition of pyrolysis oils. In *Pyrolysis oils from biomass. Producing, analyzing and upgrading*, ACS Symposium Series 376, 1994. pp. 55 -65.

Eriksson, K.E., Blanchette, R.A., Ander, P. *Microbial and Enzymatic degradation of Wood and Wood Components*. Springer-Verlag, Berlin, 1990.

Evans, W.C., Milne T.A. Molecular Characterization of the Pyrolysis of Biomass, 1. Fundamentals, *Energy and Fuels*, Vol. 1, No. 2, 1987. pp.123-137.

Evans, W. C., Fuchs, G. Anaerobic degradation of aromatic compounds, *Ann. Rev. Microbiol.* Vol. 42, 1988. pp. 289-317.

Fagernas, L. Chemical and physical characterisation of biomass-based pyrolysis oils. Literature review. Espoo: Technical Research Centre of Finland, 1995. 113 p.

Fang, H.H.P. And Wai-Chung Chung, D. Anaerobic treatment of proteinaceous wastewater under mesophilic and thermophilic conditions. *Water Science and Technology*, 40, 1999, pp.77-84.

Fathepure, B. Isolation and Characterization of an Aceticlastic Methanogen from a Biogas Digester, *FEMS Microbiology Letters*, Vol. 19, 1983. pp. 151-156.

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.
- Fox, P. And Pohland, F.G. Anaerobic treatment applications and fundamentals: substrate specificity during phase separation. Water Environment Research, 66, 1994. pp.716-724.
- Fuleki, D. Bio-fuel systém material testing, PyNe Newsletter, Issue NO. 7, April 1999, Birmingham, UK: Aston University, Bio-energy Research Group, 1999.
- 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.
- Gaur, S, Reed, T.B. An Atlas of Thermal Data of Biomass and Other Fuels, National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO, NREL/TP-433-7965, 1995. pp.153.
- Gerardi, M.H. The Microbiology of Anaerobic Digester, John Wiley and Sons, New Jersey, USA, 2003. p.188. ISBN 0-471-20693-8.
- Gilkes, N.R., Kilburn, D.G., Miller, R.C., Warren, R.A.J. Bacterial Cellulases. Bioresource Technology, Vol.36, 1991. pp. 21-35.
- Glasser, W. „Lignin“ Fundamentals of Thermochemical Biomass Conversion, In: R.P. Overend, T.A. Milne and L.K. Mudge, Elsevier Applied Science Publishers, 1985. pp. 61-76.
- Gonzalez-Gil, G., Kleerebezem, R., Lettinga, G. Effects of nickel and cobalt on kinetice of methanol conversion by methanogenic sludge as assessed by on-line CH₄ monitoring, Applied and Environmental Microbiology, 65, 1999. pp. 1789-1793.
- Grabovsky, M. And Bain, R. „Propertiers of Biomass Relevant to Gasification, T.B. Reed, ed., Solar Energy Research Institute, Golden, CO, SERI/TR-33-329,1979. pp. 21 – 66.
- Graham, R.G., Freel, B.A., Huffman, D.H. Bergounou, M.A. Applications of rapid thermal processing of biomass. In Advances in thermochemical biomass conversion, Blackie Academic and Professional Publishers, London, 1994. pp. 1275 – 1288.
- Gujer, W. And Zehnder, A.J.B. Conversion processes in anaerobic digestion. Water Science and Technology, Vol. 15, 1983. pp.127-167.
- Gust S. Combustion of pyrolysis liquids. In: Kaltschmitt M, Bridgwater AV, editors. Biomass gasification and pyrolysis, Newbury, UK, CPL Press, 1997. pp. 498–503.
- Gust, S., Nieminen, J.-P., Liquefied wood fuel could soon replace heavy oil!; In Wood Energy, 2002, No. 6, pp. 24-34.
- Hallgren, B. Test report of Metlab Miljo AB. Skelleftehamn: Metlab Miljo AB, 1996. 17p.
- 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.
- Heerenklage, J., Stegmann, R. Comparison of Test Systems for the Determination of the Gaspotential from waste. In: Proceedings SARDINIA'2001, Eighth Int. Waste Management and Landfill Symposium, Vol. 1, 2001. pp 563-570.

- 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 Technology. 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.
- Hill, D.T., S.A. Cobb, and J.B. Bolte. Using volatile fatty acid relationships to predict anaerobic digester failure. Trans. ASAE. 30(2), 1987. pp.496-501.
- Hill, D.T., and R.D. Holmberg. Long chain fatty acid relationships in anaerobic digestion of swine waste. Biological Wastes 2, 1988. pp. 195-214.
- Horbaj, P. Teoretický výpočet vzniku metánu z komunálneho odpadu, *Chemické listy* 98, 2004. s.137-141.
- Horiuchi, J., Shimizu, T., Kanno, T. and Kobayashi, M. Dynamic behavior in response to pH shift during anaerobic acidogenesis with a chemostat culture. Biotechnology Techniques, 1999, 13, 155-157.
- Horiuchi, J., Shimizu, T., Tada, K., Kanno, T. and Kobayashi, M. Selective production of organic acids in anaerobic acid reactor by pH control. Bioresource Technology, 82, (3), 2003. 209-213.
- Hrnčířík, J., Klíma, J., Kupec, J. Aparatura pro volumetrické sledování anaerobního rozkladu organických látek, *Chemické listy* 91, 1997. s. 877-883.
- Huffman, D. R., Vogiatzis, A. J., Bridgwater, A. V. The Characterisation of RTP Bio-Oils, In: Advances in Thermochemical Biomass Conversion (Ed. A. V. Bridgwater), Blackie Academic & Professional, London, 1994. pp. 1095-1102.
- 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.
- Hwang, S., Lee, Y. And Yang, K. Maximisation of acetic acid production in partial acidogenesis of swine wastewater. Biotechnology and Bioengineering, 75, 2001. pp.521-529.
- 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.
- Chum, H.L., Mckinley, J. Report on characterization of biomass pyrolysis liquid products. In: Research in thermo chemical biomass conversion, Phoenix, Arizona, April 1988. New York: Elsevier Appl. Sci., 1988. pp. 1177-1180.
- Chynoweth, D.P., Owens, J.M. And Legrand R. Renewable methane from anaerobic digestion of biomass. Renewable energy, Vol. 22, 2001. pp.1-8.
- Jarrel, K., Kalmokoff, M. Nutritional Requirements of the Methanogenic Archaeobacteria. Canadian Journal of Microbiology. Vol. 34, 1988. pp. 557-576.
- Jay, D.C., Rantanen, O.A., Sipila, K.H-, Nylund, N.O. Wood pyrolysis oil for diesel engines. In: 1995 fall technical conference, Milwaukee, Wisconsin, 24-27 September, 1995. New York: ASME; 1995.
- Jenkins, R.S., Morgan, J.M. And Zhang, X. Measuring the usable carbonate alkalinity of operating anaerobic digesters. Journal of Water Pollution Control and Federation, 63, 1991. pp.28-34.

- Jetten, M., Stams, A., Zehnder, A. Methanogenesis from Acetate: A Comparison of the Acetate Metabolism in *Methanotrix soehngenii* and *Methanosarcina* spp. *FEMS Microbiology Reviews*. Vol. 88, 1992. pp.181-198.
- Jewell Wj, Cummings Rj, Richards Bk. Methane fermentation of energy crops—maximum conversion kinetics and in-situ biogas purification. *Biomass & Bioenergy*, Vol. 5, 1993. pp.261–78.
- Kalyuzhnyi, S., Veeken, A. And Hamelers, B. Two-particle model of anaerobic solid-state fermentation. *Water Science Technology*, Vol. 41, 2000. pp.43 – 50.
- Kaltschmitt, M., Hartmann, H. *Energie aus Biomasse*. Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Hongkong, London, Mailand, Paris, Singapur, Springer- Verlag, 2001.
- 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.
- Kayhanian, M., Tchobanoglous, G., Mata-Alvarez, J. Development of a mathematical model for the simulation of the biodegradation of organic substrates in a high-solids anaerobic digestion process. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* Vol. 66, 1996. pp. 312–322.
- 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. s.39-42.
- 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.
- Kubíček, J. Vlastnosti biopaliv ve vztahu k jejich spalování a zplynování. In *Energie z biomasy 2003*, VUT FSI OTJEZ, 2003. s. 41-47.
- 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.
- Lafitte-Trouqué, S. And Forster C.F. Dual anaerobic co-digestion of sewage sludge and confectionery waste. *Bioresource Technology*, 71, 2000. pp.77-82.
- Lalman, J.A. And Bagley, D.M. Anaerobic degradation and methanogenic inhibitory effects of oleic and stearic acids. *Water Research*, 35, 2001. pp.2975-2983.
- Lamed, R., Bayer, E.A. The cellulosome of *Clostridium thermocellum*. *Adv. Applied Microbiology*. Vol. 33, 1988. pp. 1-46.
- Lappas, A.A., et al., Biomass pyrolysis in a circulating fluid bed reactor for the production of fuels and chemicals; *Fuel*, 2002, 81, pp. 2087-2095.
- Lédé, J., Diebold, J.P., Peacock, G.V.C., Piskorz, J. The nature and properties of intermediate and unvaporized biomass pyrolysis materials , In *Fast pyrolysis of biomass: A handbook*, CPL Press, Bio-Energy Research Group, UK, 2003. pp. 51-65.
- Lédé, J., Panagopoulos, J., Li, H.Z., Villiermaux, J. Fast Pyrolysis of Wood: Direct Measurement and Study of Ablation Rate, *Fuel*, 1985. pp. 1514-1520.

- Lédé, J., Verzaro, F., Antoine, B., Villermaux, J., Flash pyrolysis of wood in a cyclone reactor; *Chem. Eng. Process.*, 1986, 20, pp. 309-317.
- Leech, J. Running a dual fuel engine on pyrolysis oil. In: *Biomass gasification and pyrolysis, State of the Art and Future Prospects* (Eds. M. Kaltschmitt, A. V. Bridgwater), CPL Press, Newbury, UK, 1997. pp. 495-497.
- Lema, J.M. And Omil, F. Anaerobic treatment: a key technology for sustainable management of wastes in Europe. *Water Science and Technology*, 44, 2001. pp.133-14.
- Lettinga, G. And Hulshoff-Pol, L.W. UASB process designs for various types of wastewaters. *Water Science and Technology*, 24, 1991. pp.87-107.
- Lettinga, G. Digestion and degradation, air for life, *Water Science and Technology*, Vol. 44, NO 8, 2001. pp.157-176.
- 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
- Lewis, C.W., Baumgardner, R.E., Stevens, R.K., Claxton, L.D., Lewtas, J. 1988 Contribution of wood smoke and motor vehicle emissions to ambient aerosol mutagenicity. *Environment Science and Technology*, Vol. 22, pp. 968 -971.
- Lin, C.Y. Effect of heavy metals on volatile fatty acid degradation in anaerobic digestion. *Water Research*, Vol. 26, 1992. pp. 177-183.
- Lin, C.Y., Chen, C.C. Effect of heavy metals on the methanogenic UASB granule, *Water Research*, Vol. 33, No.2, 1999. pp.409-416.
- 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.
- Lynch, J.M. Substrate availability in the production of composts. *Proceedings of the International Composting Research Symposium*. H.A.J. Hoitink and H. Keener (Editors)., 1992. pp. 24 – 25.
- Mähnert, P., Heiermann, M., Linke, B. "Batch- and Semi-continuous Biogas Production from Different Grass Species". *Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal*. Manuscript EE 05 010. Vol. VII. December, 2005.
- Maestrojuan, G. M., Boone, D. R., Xun, L., Mah, R. A., Zhang, L. Transfer of *Methanogenium bourgense*, *Methanogenium marisnigri*, *Methanogenium olentangyi*, and *Methanogenium thermophilicum* to the genus *Methanoculleus* gen.. *Int J Syst Bacteriol* 40, 1990. pp. 117-122.
- Maestrojuan, G., Boone, D. Characterization of *Methanosarcina barkeri* MST and 227, *Methanosarcina mazei* S-6T, and *Methanosarcina vacuolata* Z-761T. *International Journal of Systematic Bacteriology*. Vol. 41, No. 2, 1991. pp. 267-274.
- 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.
- Mawson, A. J., R. L. Earle, And V. F. Larsen. Degradation of Acetic and Propionic Acids in the Methane Fermentation, *Water Research*, Vol. 25, No. 12, 1991. pp.1549-1554.
- Mccarthy, P.L. One hundred years of anaerobic treatment. In: Hughes et al., (eds) *Anaerobic Digestion 1981*, Elsevier Biomedical, Amsterdam, 1982 . pp. 3-22.
- 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.
- Mckinley, J.W., Overend, R.P., Elliott, D.C. The ultimate analysis of biomass liquefaction products: The results of IEA round robin #1. In: *Proc. Biomass pyrolysis oil properties and combustion meeting*, 26-28 September 1994, Estes Park, CO, Golden, CO: NREL, 1994. pp. 34 – 53.
- McLellan, R., Wellman integrated fast pyrolysis pilot plant; In *Pyrolysis Network Newsletter*, Issue No. 10, 2000, pp. 12.
- Meier, D., Oasmaa, A., Peacocke, G.V.C. Properties of fast pyrolysis liquids: status of test methods, *n Fast pyrolysis of biomass: A handbook*. CPL Press, Bio-Energy Research Group, UK, 2003. pp. 75-91.
- Milne, T.A., Brennan, A.H., Glenn, B.H. *Sourcebook of methods of analysis for biomass and biomass conversion process*, London: Elsevier Appl. Science, 1990. 327p.
- Moosbrugger, R.E., Wentzel, M.C., Ekama, G.A., And Marais, G.V. Weak acid/bases and pH control in anaerobic systems – A review. *Water SA*, 19, 1993. pp.1-10.
- Moses, C. Fuel Specification Considerations for Biomass Liquids“ *Proceedings Biomass Pyrolysis Oil Properties and Combustion Meeting*, T.B. Reed, ed., Solar Energy Research Institute, Golden, CO, NREL-CP-430-7215, 1994. pp. 362-382.
- 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*, pp 103-138, June 7-8, 2002-Lago d’Orta, Italy, Institute for Environment and Sustainability, Ispra, Italy, 2002.
- Murray, P., Zinder, S. Nutritional Requirements of *Methanosarcina* sp. Strain TM-1. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 50, No. 1, 1985. pp. 49-55.
- Narayan, R., Antal, M.J. Thermal lag, fusion and the compensation effect during biomass pyrolysis. *Ind. Eng. Chem. Res.*, Vol. 35, 1996. pp. 1711 – 1721.
- 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.
- Nyns, E.J. Biomethanation processes. In: Schonborn W. (ed), *Microbial Degradations*, Vol. 18, 1986. pp. 207-267.
- Oasmaa, A., Czernik, S. Fuel oil quality of biomass pyrolysis oils. In: *Biomass. A growth opportunity in green energy and value-added products*. Vol. 2. Kidlington:Elsevier Science, 1999. pp. 1247 – 1252.
- Oasmaa, A., Kyto, M. Pyrolysis oil combustion tests in an industrial boiler. *Pyne Pyrolysis Network*, NO. 10, 2000. 13 p.

- Oasmaa, A., Leppamaki, E., Koponen, P., Levander, J., Tapola, E. Physical characterisation of biomass-based pyrolysis liquids. Application of standard fuel oil analyses, Espoo, VTT, 1997. 46 p.
- Oasmaa, A., Leppamaki, E., Koponen, P., Levander, J., Tapola, E. Physical characterisation of biomass-based pyrolysis liquids, Application of standard fuel oil analyse, VTT Publication 306, Espoo, Finland: VTT, 1997. 30p.
- Oasmaa, A., Peacocke, C. A guide to physical property characterisation of biomass derived fast pyrolysis liquids. Espoo 2001. Technical Research Centre of Finland, VTT Publications 450, 2001. 65 p.
- Osier, E. Artaud, I. Degradation of lignin, In: G. Winkelmann, (ed), Microbial Degradation of Natural Products, Verlag Chemie, Weinheim, Germany, 1992. pp. 161-192.
- Pakdel, H., Roy, C. Hydrocarbon content of liquid products and tar from pyrolysis and gasification of wood, Energy and Fuels, vol. 5, 1991. pp 427-436.
- Patel, G. B. Characterization and Nutritional Properties of *Methanotrix concilii* sp. nov., a Mesophilic, Aceticlastic Methanogen, Canadian Journal of Mikrobiologie, Vol. 30, 1984. pp. 1383-1396.
- 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 Mikrobiologie, 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.
- Pavlostathis, S.G. And Giraldo-Gomez, E. Kinetics of anaerobic treatment. Water Science Technology, Vol. 24, 1983. pp.35 – 59.
- Peacocke, G.V.C. Ablative pyrolysis of biomass; Ph.D. Thesis, Aston University, Birmingham, UK, 1994
- Peacocke, G.V.C., Bridgwater, A.V. Transport, handling and storage of biomass derived fast pyrolysis liquid. In Progress in Thermochemical Biomass Conversion, Vol.2, 2000. pp. 1482 – 1499.
- Pirt, S.J., Lee, K.J. Enhancement of methanogenesis by traces of oxygen in bacterial digestion of biomass. FEMS Microbiol. Lett. 18, 1983. pp. 153-161.
- 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.
- Powers, W.J., Wilkie, A.C., Van Horn, H.H., Nordstedt, R.A. Effects of hydraulic retention time on performance and effluent odor of conventional and fixed-film anaerobic digesters fed dairy manure wastewaters. Trans. ASAE 40 (5), 1997. pp.1449–1455.
- Preston, J.F., Rice, J.D., Chow, M.C. Pectinolytic bacteria and their secreted pectate lyases: agents for the maceration and solubilization of phytomass for fuels production, Biomass and Bioenergy, Vol. 5, No 4, 1993. pp. 215-222.
- Prins, W., Wagenaar, B.M., Review of the rotating cone technology for flash pyrolysis of biomass; In Biomass gasification and pyrolysis: state of the art and future prospects, Kaltschmitt, M., Bridgwater, A.V., Eds., CPL Press, Newbury, UK, 1997, pp. 316-326.
- Prochnow, A., Heirermann, M., Drenckhan, A., Schelle, H. Seasonal Pattern of Biomethanisation of Grass from Landscape Management Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal. Manuscript EE 05 011. Vol. VII. December, 2005
- Putnam, K.P., Bombick, D.W., Avalos, J.T., Doolittle, D.J. Comparison of the cytotoxic and mutagenic potential of liquid smoke food flavourings, cigarette smoke condensate and wood smoke condensate. Food and Chemical Toxicology, Vol. 37, 1999. pp. 1113 – 1118.
- Radlein, D, Piskorz, J., Scott, D.S. „Fast Pyrolysis of Natural Polysaccharides as a Potential Industrial Process“, JAAP, Vol.19, 1991. pp. 41-63.

- Radlein, D. The production of chemicals from fast pyrolysis biooils In *Fast pyrolysis of biomass: A handbook*. CPL Press, Bio-Energy Research Group, UK, 2003. pp. 164 -187.
- Rajeshwari, K.V., Balakrishnan, M., Kansal, A., Kusum Lata, And Kishore, V.V.N. Stateof-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 4, 2000. pp.135-156.
- 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.
- Reed, T.B. Contact pyrolysis in a pyrolysis mill In *Research in thermochemical biomass conversion, Elsevier Applied Science*, London, 1988. pp. 192 – 202.
- Rick, F., Vix, U. Product standards for pyrolysis products for use as fuel in industrial firing plants. In: Bridgwater, A.V., Grassi, G. (eds) *Biomass pyrolysis liquids upgrading and utilization*. London and New York: Elsevier Applied Science. Seelze, 1991. 123 p.
- Richards, B.K., Cummings, R.J., White, T.E., Jewell, W.J. Methods for kinetic analysis of methane fermentation in high solids biomass digesters. *Biomass and Bioenergy* 1 (2), 1991. pp.65–73.
- Richards, G.N. Chemistry of Pyrolysis of Polysaccharides and Lignocellulosics,“ *Advances in Thermochemical Biomass Conversion*, A.V. Bridgwater, ed., Blackie Academic and Professional, London, 1994. pp.727-745.
- Rintala, J.A. And Lepisto, S.S. Pilot-scale thermophilic anaerobic treatment of wastewaters from seasonal vegetable processing industry. *Water Science and Technology*, 36, 1997. pp.279-285.
- Rossi, C., Frandi, R., Bonfitto, E., Jacoboni, S., Pistone, L., Mattiello, M., Combustion tests of bio-oils derived from biomass slow pyrolysis. In: *Advances in thermochemical biomass conversion* (Ed. A. V. Bridgwater), Blackie Academic & Professional, London, 1993. pp. 1205-1213.
- Rossi, C., Graham, R., Fast pyrolysis at ENEL, in *Biomass gasification and pyrolysis: state of the art and future prospects*; Kaltschmitt, M., Bridgwater, A.V., Eds., CPL Press, UK, 1997, pp. 300-306.
- Roy, C., Morin, D., Dube, F., The biomass pyrolysis process; In *Biomass gasification and pyrolysis: state of the art and future prospects*; Kaltschmitt, M., Bridgwater, A.V., Eds., CPL Press, UK, 1997, pp. 307-315.
- Rozzi, A. Alkalinity considerations with respect to anaerobic digesters. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent.*, 56, 1991. pp.1499-1514.
- Rozzi, A. And Dipinto, A.C. Start up and automation of anaerobic digesters with automatic bicarbonate control. *Bioresource Technology*, 48, 1994. pp.215-219.
- Salminen, E., Rintala, J., Lokshima, L.Y. And Vavilin, V.A. Anaerobic batch degradation of solid poultry slaughterhouse waste. *Water Science and Technology*, 41, 2000. pp.33-41.
- Sand, W., Bock, E., White, D.C. Applied Electron Microscopy on the Biogenic Destruction of Concrete and Blocks - Use of the Transmission electron Microscope for Identification of Mineral Acid Producing Bacteria. *Proceedings of the Eight International Conference on Cernent Microscopy*. April7-10. Orlando, FL, 1987
- Scott, D.S., Piskorz, J., The flash pyrolysis of Aspen-Polar wood; *Can. J. Chem. Eng.*, 1982, 60, pp. 666-674.
- Sedláček, M. *Metody rozboru kalů a pevných odpadů*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 1978.
- Sekiguchi, Y., Kamagata, Y. And Harada, H. Recent advances in methane fermentation technology. *Current Opinion in Biotechnology*, 12, 2001. pp.277-282.
- 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.

- Shihadeh, A., Hochgreb, S. Impact of biomass pyrolysis oil process conditions on ignition delay in compression ignition engines, *Energy*, Vol. 16, NO. 3, 2002. pp. 552–561.
- Schink, B. Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61, 1997. pp.262-280.
- Schink, B., Brune, A., Schnell, S. Anaerobic degradation of aromatic compounds, In G. Winkelmann, (ed), *Microbial Degradation of Natural Products*. Verlag Chemie, Weinheim, Germany, 1992. pp. 219-242.
- Schlegel, M., Kanswohl, N., Rössel, D., Sakalauskas, A. Essential technical parameters for effective biogas production, 2008, In *Agronomy Research* 6(Special issue), p 341-348.
- Schraa, G. And Jewell, W.J. High rate conversions of soluble organics with the thermophilic anaerobic attached film expanded bed. *Journal of Water Pollution Control and Federation*, 56, 1984. pp.226-232.
- Sipila, K., Kuoppala, E., Fagernas, L., Oasmaa, A. Charakterisation of biomass-based flash pyrolysis oils, *Biomass and Bioenergy*, vol. 14, no. 2, 1998. pp. 103 – 113.
- Solera, R., Romero, L.I. And Sales, D. The evolution of biomass in a two-phase anaerobic treatment process during start-up. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 16, 2002. pp.25-29.
- Soltes, E.J., Lin, J.C. Hydroprocessing of biomass tars for liquid engine fuels. In: *Progress in Biomass Conversion*. New York: Academic Press, 1984. pp.1-69.
- Song, Y.C., Kwon, S.J. And Woo, J.H. Mesophilic and thermophilic co-phase anaerobic digestion compared with single-stage mesophilic and thermophilic digestion of sewage sludge. *Water Research*, 35, 2004. pp.3441-3447.
- Speece, R. E. *Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewaters*. Nashville, TN: Archae Press. 1996.
- Stam, A.J. Thermal Degradation of Wood and Cellulose, *Ind. Eng. Chem.*, Vol. 48, No. 3, 1956. pp. 413-417.
- Straka, F. et al. *Bioplyn - příručka pro výuku, projekci a provoz bioplynových systémů*. GAS s.r.o., Praha, 2006. 706s.
- Straka, F., Kunčarová, M., Lacek, P. Optimalizace vsázek pro bioplynové stanice při použití biomasy, živočišných odpadů nebo dalších možných vedlejších živočišných produktů (Technická zpráva zakázky ÚVP č. 781/128/12) 2007, Praha, Ústav pro výzkum a využití paliv a.s., p. 33
- Suppes, G.J., Natarajan, V.P., Chen, Z. Autoignition of select oxygenated fuels in a simulated diesel engine environment. In: *AICHE 1996 National Meeting*, 26. Febr. 1996, New Orleans, 1996. 74 p.
- 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.
- Theander, O. „ Cellulose, Hemicellulose, and Extractives, „ *Fundamentals of Thermochemical Biomass Conversion*, R.P. Overend, T.A. Milne, and L.K. Mudge, eds., Elsevier Applied Science Publishers, 1985. pp. 35-60.
- 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.
- Uemera, S., Harada, H. Inorganic Composition and Microbial Characteristics of Methanogenic Granular Sludge Grown in a Thermophilic Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 43, 1995. pp.358-364.
- 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 Mikrobiologie*, Vol. 22, 1976. pp.1312-1319.
- Van Lier, J.B., Rebac, S. And Lettinga, G. High rate anaerobic wastewater treatment under psychrophilic and thermophilic conditions. In: *Proceedings of the IAWQ-NVA International Conference on advanced wastewater treatment*, Amsterdam, 23-25 September, 1996.
- Van Lier, J.B., Van Der Zee, F.P., Tan, N.C.G., Rebac, S. And Kleerebezem, R. Advances in high rate anaerobic treatment: staging of reactor systems. *Water Science and Technology*, 44, 2001. pp.15-25.
- Van Soest, P.J. *The Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2nd edition, Cornell University Press Ithaco, NY, 1996. pp. 476.
- Van den Berg, L., G. B. Patel, D. S. Clark, and C. P. Lentz. "Factors Affecting Rate of Methane Formation from Acetic Acid by Enriched Methanogenic Cultures." *Canadian Journal of Microbiology*. Vol. 22. 1976. Pp. 1312-1319.
- Veeken, A.H.M. And Hamelers, B.V.M. Effect of substrate-seed mixing and leachate recirculation on solid state digestion of biowaste. *Water Science and Technology*, 41, 2000. pp.255-262.
- Vindis, P., Mursec, B., Rozman, C., Janzekovic, M., Cus, F. Biogas production with the use of mini digester. 2008, In *Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering*, Vol. 28, Issue 1, p. 99 – 102.
- 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, X. *Biomass fast pyrolysis in a fluidized bed - Product cleaning by in-situ filtration*; Ph.D. Thesis, Universiteit Twente, The Netherlands, 2006.
- Wang, X., et al., Biomass pyrolysis in a fluidized bed reactor: Part II. Experimental validation of model results; *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2005, pp. 8786-8795.
- 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.
- Wellinger, A., Edelmann, W., Favre, R., Seiler, B., Woschitz, D. *Biogashandbuch –Grundlagen, Planung und Betrieb landwirtschaftlicher Biogasanlagen*. Verlag Wirz AG, Aarau, 1984. ISBN 3-85983-028-7.
- White, J.K., Ren, Q., Robinson, J.P. A framework to contain a spatially distributed model of the degradation of solid waste in landfills. *Waste Management & Research* 21, 2003. pp.330-345.
- 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.
- Wiegant, W.M., Claassen, J.A., And Lettinga, G. Thermophilic anaerobic digestion of high strength wastewaters. *Biotechnology and Bioengineering*, XXVII, 1985. pp.1374-1381.
- Weiland, P. Results and bottle necks of energy crop digestion plants 2005, Workshop "ENERGY CROPS & BIOGAS" Utrecht, 22 September 2005
- Williams, R.T., Crawford, R.L. Methanogenic Bacteria, Including an Acid-Tolerant Strain, from Peatlands, *Appl Environ Microbiol.*, Vol. 50, NO.6, 1985. pp. 1542-1544.
- Wu, J.H.D., Demain, A.L. Proteins of the *Clostridium thermocellum* cellulase complex responsible for degradation of crystalline cellulose. In J-P. Aubert, P. Béguin, and J. Millet, (ed.), *Biochemistry and Genetics of Cellulose Degradation*, FEMS, Symposium 43, Academic Press, London, 1988. pp. 118-131.

- Xing, J., Criddle, C. And Hickey, R. Effects of a long-term periodic substrate perturbation on an anaerobic community. *Water Research*, 31, 1997. pp.2195-2204.
- 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.
- 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.
- Yenigun, O., Kizilgun, F. Yilmazer, G. Inhibition effects of zinc and copper on volatile fatty acid production during anaerobic digestion, *Environmental Technology*, Vol. 17, 1996. pp. 1269-1274.
- 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.
- Zábranská, J., Dohányos, M., Jeníček, P., Růžičková, H., Vránova, 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.
- Zehnder, A., Huser, B., Brock, T., Wuhrmann, K. Characterization of an Acetate-Decarboxylating Non-Hydrogen-Oxidizing Methane Bakterium, *Archives of Mikrobiology*, Vol. 124, 1980. pp. 1-11.
- Zinder, S.H. Microbiology of anaerobic conversion of organic wastes to methane: recent developments. *American Society for Microbiology*, 50, 1984. pp.294-298.
- Zinder, S.H. Physiological ecology of methanogens. In: Ferry J.G. (ed.), *Methanogenesis: Ecology, Physiology, Biochemistry and Genetics*. Chapman and Hall, New York, 1993. pp. 128-206.
- Zoetmeyer, R.J., V.D. Heuvel, J.C. And Cohen, A. pH influence on acidogenic dissimilation of glucose in an anaerobic digester. *Water Research*, 16, 1982. pp.303-311.

SJ0A1	senáž jetelová	46,4	43,9	94,6								
ST1C1	senáž travní	34,9	30,3	86,8	47,7	13,4	0,4	2,8	0,2	0,8		
ST2C1	senáž travní	31,0	28,5	91,9		11,5						
ST4C1	senáž travní	43,9	39,8	90,7								
ST0A1	senáž travní	36,3	33,2	91,5	45,6	1,9	0,3	1,9	0,2			
SV0A1	senáž vojtěšková	39,0	35,3	90,5								
SV5C1	senáž vojtěšková	28,6	24,2	84,7								
GP2C1	GPS - žito	34,4	32,1	93,3								
SJ0A1	sláma ječná	90,4	85,1	94,1								914
SP0A1	sláma pšeničná	85,0	80,8	95,1	47,0	0,4	0,3	0,9	0,2			641
SŘ0A1	sláma řepková	85,0	71,9	84,6		0,2	0,3	1,2	0,2			918
TH0A1	travní hmota	22,8	21,6	94,8	45,5	1,4	0,4	9,7	0,3	3,8		
TH0A2	travní hmota	18,0	17,2	95,6	44,9	0,8	0,5	1,6	0,2			
TH0B1	travní hmota	22,2	21,6	97,3	45,4	1,5	0,5	8,2	0,2	2,4		
TH0B2	travní hmota	31,0	29,2	94,2	43,1	2,7	0,6	7,3	0,4	3,2		776

- 1) % hm. - údaj v původní hmotě
- 2) %hm. - údaj ve 100 % sušině
- 3) údaj v jednotkách g/kg v 100% sušině
- 4) údaj v jednotkách pH

Výsledky provedených testů methanogenní aktivity

p.č.	IN	Test	Série testu	m 1)	c 2)	reakční objem	t [°C]	doba inkubace [dny]	míchání	metoda	h. p. 3)	s	x 3)	specifický výtěžek 4)
1	IN0A1	CŘ0A1-Y6-01	OXC6N1	1,6	1,5	250	35	21	ano	OXC	294	12	293	780
2		CŘ0A1-Y6-02	OXC6N1	1,6	1,5	250	35	21	ano	OXC	306			
3		CŘ0A1-Y6-03	OXC6N1	1,6	1,5	250	35	21	ano	OXC	278			
4	IN0A1	GLOA1-Y6-01	OXC6N2	34,1	1,5	250	35	21	ano	OXC	306	12	290	774
5		GLOA1-Y6-02	OXC6N2	34,1	1,5	250	35	21	ano	OXC	288			
6		GLOA1-Y6-03	OXC6N2	34,1	1,5	250	35	21	ano	OXC	277			
7	IN0A1	HK0A1-Y6-01	OXC6N2	15,2	2,0	500	35	21	ano	OXC	173	9	160	160
8		HK0A1-Y6-02	OXC6N2	15,2	2,0	500	35	21	ano	OXC	158			
9		HK0A1-Y6-03	OXC6N2	15,2	2,0	500	35	21	ano	OXC	150			
10	IN0A1	CMS0A1-Y6-01	OXC6N4	6,7	2,0	500	40	21	ano	OXC	237	8	227	227
11		CMS0A1-Y6-02	OXC6N4	6,7	2,0	500	40	21	ano	OXC	225			
12		CMS0A1-Y6-03	OXC6N4	6,7	2,0	500	40	21	ano	OXC	218			
13	IN0A1	KS0A1-Y6-01	OXC6N4	2,5	1,5	500	35	21	ano	OXC	521	19	518	691
14		KS0A1-Y6-02	OXC6N4	2,5	1,5	500	35	21	ano	OXC	540			
15		KS0A1-Y6-03	OXC6N4	2,5	1,5	500	35	21	ano	OXC	494			
16	IN0A1	KS0A2-Y6-01	OXC6N4	2,3	1,5	500	35	21	ano	OXC	305	5	305	407
17		KS0A2-Y6-02	OXC6N4	2,3	1,5	500	35	21	ano	OXC	299			
18		KS0A2-Y6-03	OXC6N4	2,3	1,5	500	35	21	ano	OXC	312			
19	IN0A1	LI0A1-Y6-01	OXC6N5	1,5	2,0	500	35	21	ano	OXC	250	11	235	235
20		LI0A1-Y6-02	OXC6N5	1,5	2,0	500	35	21	ano	OXC	231			
21		LI0A1-Y6-03	OXC6N5	1,5	2,0	500	35	21	ano	OXC	223			
22	IN0A1	PK0A1-Y6-01	OXC6N5	27,0	2,0	500	35	21	ano	OXC	206	3	209	209
23		PK0A1-Y6-02	OXC6N5	27,0	2,0	500	35	21	ano	OXC	214			
24		PK0A1-Y6-04	OXC6N5	27,0	2,0	500	35	21	ano	OXC	207			
25	IN0A2	OPOA1-Y7-01	OXC7N1	5,4	2,0	500	35	21	ano	OXC	450	9	438	438
26		OPOA1-Y7-02	OXC7N1	5,4	2,0	500	35	21	ano	OXC	436			
27		OPOA1-Y7-03	OXC7N1	5,4	2,0	500	35	21	ano	OXC	429			
28	IN0A2	SJOA1-Y7-01	OXC7N1	2,3	2,0	500	35	21	ano	OXC	289	9	294	294
29		SJOA1-Y7-02	OXC7N1	2,3	2,0	500	35	21	ano	OXC	307			
30		SJOA1-Y7-03	OXC7N1	2,3	2,0	500	35	21	ano	OXC	286			
31	IN0A5	TH0A2-Y6-01	OXC6N3	4,6	2,0	500	35	21	ano	OXC	186	10	175	175
32		TH0A2-Y6-02	OXC6N3	4,6	2,0	500	35	21	ano	OXC	162			
33		TH0A2-Y6-03	OXC6N3	4,6	2,0	500	35	21	ano	OXC	178			
34	IN0A4	SVOA1-Y6-01	OXC6N6	2,8	2,0	500	40	21	ano	OXC	214	7	205	205
35		SVOA1-Y6-02	OXC6N6	2,8	2,0	500	40	21	ano	OXC	197			
36		SVOA1-Y6-03	OXC6N6	2,8	2,0	500	40	21	ano	OXC	204			
37	IN0A4	SJOA1-Y6-01	OXC6N6	1,2	2,0	500	40	21	ano	OXC	83	6	81	81
38		SJOA1-Y6-02	OXC6N6	1,2	2,0	500	40	21	ano	OXC	73			
39		SJOA1-Y6-03	OXC6N6	1,2	2,0	500	40	21	ano	OXC	88			
40	IN0A4	SPOA1-Y6-01	OXC6N6	1,2	2,0	500	40	21	ano	OXC	133	8	123	123
41		SPOA1-Y6-02	OXC6N6	1,2	2,0	500	40	21	ano	OXC	122			
42		SPOA1-Y6-03	OXC6N6	1,2	2,0	500	40	21	ano	OXC	114			
43	IN0A4	SŘ0A1-Y6-01	OXC6N6	1,4	2,0	500	40	21	ano	OXC	105	10	91	91
44		SŘ0A1-Y6-02	OXC6N6	1,4	2,0	500	40	21	ano	OXC	80			
45		SŘ0A1-Y6-03	OXC6N6	1,4	2,0	500	40	21	ano	OXC	87			

46	IN0A2	HK0A2-Y6-01	NIE6N1	13,2	2,0	450	40	60	ne	NIEL	272	11	273	304
47		HK0A2-Y6-02	NIE6N2	13,2	2,0	450	40	60	ne	NIEL	260			
48		HK0A2-Y6-03	NIE6N3	13,2	2,0	450	40	60	ne	NIEL	288			
49	IN0A5	TH0A1-Y6-01	NIE6N2	3,1	1,5	450	40	60	ne	NIEL	301	16	306	453
50		TH0A1-Y6-02	NIE6N2	3,1	1,5	450	40	60	ne	NIEL	328			
51		TH0A1-Y6-03	NIE6N2	3,1	1,5	450	40	60	ne	NIEL	289			
52	IN0A6	ST0A1-Y6-01	NIE6N2	4,4	3,5	450	40	60	ne	NIEL	551	18	573	364
53		ST0A1-Y6-02	NIE6N2	4,4	3,5	450	40	60	ne	NIEL	573			
54		ST0A1-Y6-03	NIE6N2	4,4	3,5	450	40	60	ne	NIEL	596			
55	IN0A1	THA2+HKA1-1	NIE6K1	15,6	3,5	450	40	60	ne	NIEL	715	8	726	461
56		THA2+HKA1-2	NIE6K1	15,6	3,5	450	40	60	ne	NIEL	734			
57		THA2+HKA1-3	NIE6K1	15,6	3,5	450	40	60	ne	NIEL	729			
58	IN0A6	KSOA2-Y6-04	NIE6N2	2,1	1,5	450	40	60	ne	NIEL	551	18	573	849
59		KSOA2-Y6-05	NIE6N2	2,1	1,5	450	40	60	ne	NIEL	573			
60		KSOA2-Y6-06	NIE6N2	2,1	1,5	450	40	60	ne	NIEL	596			
61	IN0A6	KSOA2-Y6-07	NIE6N2	4,9	3,5	450	40	60	ne	NIEL	639	12	637	404
62		KSOA2-Y6-08	NIE6N2	4,9	3,5	450	40	60	ne	NIEL	621			
63		KSOA2-Y6-09	NIE6N2	4,9	3,5	450	40	60	ne	NIEL	650			
64	IN0B1	HKOB1-Y7-01	ENK7N1	26,3	3,5	450	40	60	ne	ENKI	290	11	306	194
65		HKOB1-Y7-02	ENK7N1	26,3	3,5	450	40	60	ne	ENKI	310			
66		HKOB1-Y7-03	ENK7N1	26,3	3,5	450	40	60	ne	ENKI	317			
67	IN0B1	KSOB1-Y7-01	ENK7N1	9,2	3,5	800	40	60	ne	ENKI	0	0	0	0
68		KSOB1-Y7-02	ENK7N1	9,2	3,5	800	40	60	ne	ENKI	0			
69		KSOB1-Y7-03	ENK7N1	9,2	3,5	800	40	60	ne	ENKI	0			
70	IN0B1	KSOB1-Y7-04	ENK7N1	9,2	3,5	800	40	60	ne	ENKI	0	0	0	0
71		KSOB1-Y7-05	ENK7N1	9,2	3,5	800	40	60	ne	ENKI	0			
72		KSOB1-Y7-06	ENK7N1	9,2	3,5	800	40	60	ne	ENKI	0			
73	IN0B2	TU0B1-Y7-01	ENK7N2	14,8	3,5	800	40	60	ne	ENKI	1 100	112	1162	415
74		TU0B1-Y7-02	ENK7N2	14,8	3,5	800	40	60	ne	ENKI	1 067			
75		TU0B1-Y7-03	ENK7N2	14,8	3,5	800	40	60	ne	ENKI	1 320			
76	IN0B2	LH0B1-Y7-01	ENK7N2	57,1	3,5	800	40	60	ne	ENKI	423	18	446	159
77		LH0B1-Y7-02	ENK7N2	57,1	3,5	800	40	60	ne	ENKI	468			
78		LH0B1-Y7-03	ENK7N2	57,1	3,5	800	40	60	ne	ENKI	447			
79	IN0B2	LH0B2-Y7-01	ENK7N2	41,8	3,5	800	40	60	ne	ENKI	548	17	541	193
80		LH0B2-Y7-02	ENK7N2	41,8	3,5	800	40	60	ne	ENKI	518			
81		LH0B2-Y7-03	ENK7N2	41,8	3,5	800	40	60	ne	ENKI	557			
82	IN0B2	LH0B3-Y7-01	ENK7N2	23,7	3,5	800	40	60	ne	ENKI	783	14	802	286
83		LH0B3-Y7-02	ENK7N2	23,7	3,5	800	40	60	ne	ENKI	817			
84		LH0B3-Y7-03	ENK7N2	23,7	3,5	800	40	60	ne	ENKI	805			
85	IN0B3	PS0B1-Y7-01	ENK7N3	90,3	3,5	800	40	60	ne	ENKI	520	33	485	173
86		PS0B1-Y7-02	ENK7N3	90,3	3,5	800	40	60	ne	ENKI	495			
87		PS0B1-Y7-03	ENK7N3	90,3	3,5	800	40	60	ne	ENKI	441			
88	IN0B3	PS0B2-Y7-01	ENK7N3	52,8	3,5	800	40	60	ne	ENKI	560	44	620	221
89		PS0B2-Y7-02	ENK7N3	52,8	3,5	800	40	60	ne	ENKI	637			
90		PS0B2-Y7-03	ENK7N3	52,8	3,5	800	40	60	ne	ENKI	662			

- 1) navážka vzorku [g]
- 2) koncentrace testované suspenze [g/V]
- 3) naměřená produkce bioplynu [ml]
- 4) specifická produkce bioplynu [ml/g organické sušiny]

Aparatura ENKI



Detailní zobrazení komponentů



Prototyp laboratorního fermentoru FAF A01



7. PUBLIKACE ZPRACOVANÉ V PRŮBĚHU PRÁCE

Rok 2005

Kolář L., Kužel S., Hanušová A., Gergel J., Ledvina R., Šindelářová M., Silovská Š., Štindl P., 2005: The use of Spectroquant MERCK BOD photometric test to evaluate the stability of organic matters in soil. *Plant Soil Environ.*, 51, (1): 46-50.

Kolář L., Vaněk V., Kužel S., Štindl P., Šindelářová M., 2005: Potřeba vápenatých hmot k vápnění s ohledem na labilní organické látky v půdě. Sborník z 11. mezinárodní konference „Racionální použití hnojiv“, ČZU Praha, 79-86.

Kolář L., Kužel S., Klimeš F., Štindl P., Gergel J., Šindelářová M., 2005: The use of Spectroquant MERCK COD and BOD photometric Tests to evaluate biodegradability of organic matters in water, soil and in substrata for anaerobic Digestion. VÚRV Vodňany Sborník z konference „Toxicity and Biodegradability of Matters Important in Water Management“, 39-42

Štindl P., Silovská Š., Kolář L., Kužel S., 2005: Stanovení rozložitelnosti organické hmoty při výrobě bioplynu anaerobní digescí. Mezinárodní konference Agroregion, ZF JU Č. B.

Kužel S., Kolář L., Klimeš F., Štindl P.: Test of methanogenic activity in two modifications of apparatus OXI TOP CONTROL AN 12 MERCK. 9th International conference on Environment and Mineral Processing. VŠB-TU Ostrava, 23.6.-25.6. 2005, s. 343-347.

Kužel S., Kolář L., Tříška J., Štindl P.: Perspectives of Czech Agriculture in „Less Favoured Areas“. Proceedings from international conference Innovation and utilization in the Visegrad fours „Research and development from idea to product“ Nyíregyhaza, Hungary, October 2005, 397-402 s.

Štindl P., Silovská Š., Kolář L., Kužel S., 2005: Stanovení rozložitelnosti organické hmoty při výrobě bioplynu anaerobní digescí. Mezinárodní seminář „Využití fyto-masy pro energetické účely“, Sborník VÚZE Praha + ZF JU Č. B., 86-92

Rok 2006

Kolář L., Ledvina R., Kužel S., Klimeš F., Štindl P., 2006: Soil Organic Matter and its Stability in Aerobic and Anaerobic Conditions. *Soil Water Res.*, 1, (2): 57-64

Štindl P., Silovská Š., Kubíčková A., Kolář L., Kužel S., 2006: Chemické složení biomasy a hygienické aspekty využívání přírodních surovinových zdrojů bioenergie. Agroregion, ZF JU Č. B.

Štindl P., Kolář L., Kužel S., 2006: Spalné teplo biomasy a jeho výpočet z elementárního složení. Agroregion, ZF JU Č. B., sekce II, 136-140

Kubíčková A., Štindl P., Silovská Š., Kolář L., Kužel S., 2006: Energetické dřeviny ve srovnání s energetickými stébelninami a vliv hnojení na kvalitu biomasy z hlediska energetických technologií. Agregion, ZF JU Č. B., sekce II, 131-135

Kužel S., Kolář L., Štindl P.: Chemická charakteristika biomasy, spalné teplo a hygienické aspekty jejího využití. Mezinárodní konference „Biodegradabilní odpady“, MZLU Brno, 6, ISBN 80-7157-994-7

Kužel S., Kolář L., Ledvina R., Klimeš F., Štindl P.: Soil organic matter and its stability in aerobic and anaerobic conditions. IX. Congress of the European Society for Agronomy. Bibliotheca Fragmenta Agronomica, Pulawy – Warszawa, vol. 11, part II, 399

Kužel S., Kolář L., Štindl P.: Comparison of energetic woody plants and energetic culm crops according to computational heating value from elementary composition IX. Congress of the European Society for Agronomy. Bibliotheca Fragmenta Agronomica, Pulawy – Warszawa, vol. 11, part II, p. 679, PL ISSN 0860-4088

Kužel S., Kolář L., Štindl P., 2006: Hygienic and technologic problem of fertilized energetic crops. Book of Proceedings. Bibliotheca Fragmenta Agronomica, Pulawy – Warszawa, vol. 11, part. II, p. 681. PL ISSN 0860-4088

Rok 2007:

Kužel S., Kolář L., Štindl P. (2008): Stability of Soil organic matter in aerobic and anaerobic conditions. Agronomijas Vēstis. Latvian Journal of Agronomy, 10, LLU: 47-51, ISSN 1691-3485

Kužel S., Kolář L., Štindl P. (2008). Usage of energetic crops as alternative sources of Energy in Czech Republic. Agronomijas Vēstis. Latvian Journal of Agronomy, 10, LLU: 15-19, ISSN 1691-3485.

Rok 2008:

Kolář, L., Kužel, S., Peterka, J., Štindl, P., Plát, V.: Agrochemical Value of organic matter of fermenter wastes in biomass. Plant Soil Environ., 54, 2008, (8): 321-328.

Kajan M., Štindl P., Procházka J.: Experiences with anaerobic digestion in the Czech Republic, příspěvek na konferenci: The future for Anaerobic Digestion of Organic Waste in Europe, Norimberk, 2008.

Rok 2009:

Kolář, L., Kužel, S., Štindl, P., Peterka, J., Batt J.: Agrochemical value of the liquid phase of wastes from fermenters during biomass production as mineral fertilizer and effect of the application of IFBB procedure. Plant Soil Environ., 55, 2009 (v oponentním řízení)