

Vliv inhibičních látek na produkci methanu

Bc. Monika Poláčková

Diplomová práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí
akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Monika POLÁCHOVÁ**
Osobní číslo: **T11086**
Studijní program: **N2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Inženýrství ochrany životního prostředí**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Vliv inhibičních látek na produkci methanu**

Zásady pro vypracování:

1. Provedte literární studii na téma produkce bioplynu z odpadních lignocelulozových materiálů. Zaměřte se na využití kukuřičné siláže, metody zlepšení výtěžnosti methanu z kukuřičné siláže a produkci inhibičních látek během její předúpravy metodou tzv. termické exploze.
2. Provedte testy vlivu inhibičních vlastností vybraných látek, které vznikají během předúpravy kukuřičné siláže, na produkci methanu s reálným vzorkem z bioplynové stanice. Produkci bioplynu a jeho složení sledujte pomocí plynové chromatografie.
3. Veškeré získané výsledky přehledně zpracujte v diplomové práci.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

STRAKA F.; a kol.: Bioplyn . 1.vyd. Říčany: GAS s.r.o., 2003, ISBN 80-7328-029-9.
Vědecké práce zahrnuté v databázích Web of Science, ScienceDirect, SpringerLink, InterScience, Medline nebo SciFinder Scholar, případně práce dostupné z dalších zdrojů vědecké literatury.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Marie Dvořáčková, Ph.D.**
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání diplomové práce: **8. února 2013**

Termín odevzdání diplomové práce: **17. května 2013**

Ve Zlíně dne 8. února 2013


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Poláčeková Tloučka

Obor: 102P

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 16.5.2013

Poláčeková Tloučka

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jim dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídá k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

Veškeré právní záležitosti týkající se této práce budou řešeny podle ustanovení § 11 (1) zákona č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby.

bertu na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupném k nahlédnutí, že jeden výisk diplomové/bakalářské práce bude uložena na přístupném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výisk bude uložena u vedoucího práce.

byla jsem seznámena s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejména § 35 odst. 3.

bertu na vědomí, že podle § 60 odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona.

bertu na vědomí, že podle § 60 odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše).

bertu na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčnímu účelům.

bertu na vědomí, že pokud je v systému diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodvzdaním této součásti může být důvodem k nepřijetí práce.

Ve Zlíně 2025

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejména § 35 odst. 3

ABSTRAKT

Tato diplomová práce je zaměřena na produkci methanu ze srovnávací látky, octanu sodného a mikrokrystalické celulózy, v přítomnosti inhibičních látek, jako je furfural, kyselina gallová a kyselina tříslová v digestátu kukuřičné siláže z bioplynové stanice Pěčín v Českých Budějovicích.

Během experimentu bylo sledováno množství a kvalita produkovaného bioplynu pomocí plynové chromatografie.

Studie ukazuje, že furfural koncentrace 2 g/l prokázal inhibici a to jak v přítomnosti octanu sodného tak i mikrokrystalické celulózy. Koncentrace furfuralu pod 1 g/l (0,1 – 0,5 g/l) inhibici z octanu sodného neprokázaly. U inhibiční látky kyseliny gallové a kyseliny tříslové inhibice, u koncentrací (0,1 – 2 g/l) inhibice prokázána v přítomnosti octanu sodného nebyla.

Klíčová slova: bioplyn, methan, inhibice, lignocelulózové materiály, anaerobní fermentace

ABSTRACT

This thesis deals with a production of methane from the comparative substance from sodium acetate and microcrystalline cellulose in association with inhibitors, such as furfural, gallic acid and tannic acid in corn silage digestate from biogas Pěčín in Czech Budejovice.

During the experiment, it was observed quantity and quality of produced biogas with using gas chromatography technology.

The study shows that concentration of furfural 2 g / l proved inhibition in association of sodium acetate and in microcrystalline cellulose too. The concentration of furfural under 1 g / l (0.1-0.5 g / l) do not proved inhibition from sodium acetate. There were not proved inhibition of sodium acetate in the inhibitory substances of gallic acid and tannic acid at concentrations (0.1 - 2 g / l).

Keywords: biogas, methane, inhibition, lignocellulose material, anaerobic fermentation

Velmi ráda bych poděkovala všem, kteří přispěli svými radami ke vzniku této diplomové práce. Zvláště bych chtěla poděkovat vedoucí diplomové práce Ing. Marii Dvořáčkové, Ph.D., za odborné vedení, poskytnuté rady, čas a pozornost, kterou mi věnovala při vypracování mé diplomové práce. Dále děkuji celému kolektivu na Ústavu inženýrství ochrany životního prostředí za spolupráci a vytvoření skvělých pracovních podmínek.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné a že na diplomové práci jsem pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala.

Motto:

„Non schoale sed vitae discimus. – Neučíme se pro školu, ale pro život.“

Seneca

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 BIOPLYN	12
1.1 TVORBA BIOPLYNU.....	12
1.1.1 Anaerobní fermentace	12
1.1.2 Faktory ovlivňující proces.....	15
1.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ BIOPLYNU	15
1.3 BIOPLYNOVÉ STANICE	16
1.4 SUBSTRÁTY PRO BIOPLYNOVÉ STANICE.....	17
1.4.1 Biomasa k výrobě bioplynu	17
1.4.2 Produkce bioplynu z kukuřice.....	18
2 STRUKTURA LIGNOCELULÓZOVÝCH MATERIÁLŮ	19
2.1 LIGNOCELULÓZOVÉ ODPADY.....	21
2.1.1 Produkce metanu z lignocelulózových materiálů	21
3 PŘEDÚPRAVA LIGNOCELULÓZOVÝCH MATERIÁLŮ	23
3.1 METODY PŘEDÚPRAV LIGNOCELULÓZOVÝCH MATERIÁLŮ	23
3.1.1 Termická předúprava	24
4 INHIBIČNÍ LÁTKY	26
4.1 DERIVÁTY FURANU	27
4.2 FENOLOVÉ SLOUČENINY.....	27
5 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE	29
II PRAKTICKÁ ČÁST	30
6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	31
6.1 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A CHEMIKÁLIE.....	31
6.1.1 Přístroje a pomůcky.....	31
6.1.2 Chemikálie	31
6.1.3 Biomédium.....	32
6.1.4 Inokulum	33
6.1.5 Testované vzorky a srovnávací látky	33
Testované inhibiční látky:.....	33
Srovnávací látky:	34
6.2 METODY STANOVENÍ.....	34
6.2.1 Test inhibice produkce methanu	34
6.2.2 Stanovení sušiny.....	35
6.2.3 Stanovení ztráty žíháním.....	35
6.2.4 Stanovení pH a ORP	35
6.2.5 Stanovení produkce bioplynu pomocí plynové chromatografie	36
6.2.6 Stanovení produkce bioplynu pomocí měření tlaku.....	36
6.2.7 Stanovení celkového rozpuštěného uhlíku.....	37
7 VÝPOČTY A ZPRACOVÁNÍ NAMĚŘENÝCH HODNOT	38
8 VÝSLEDKY A DISKUZE	42

8.1	TESTY INHIBICE PRODUKCE METHANU	42
8.1.1	Test inhibice produkce methanu z octanu sodného v přítomnosti furfuralu.....	42
8.1.2	Test inhibice produkce methanu z octanu sodného v přítomnosti kyseliny gallové a kyseliny tříslové	48
8.1.3	Test inhibice produkce methanu z mikrokrystalické celulózy v přítomnosti furfuralu	56
	ZÁVĚR	61
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	63
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	66
	SEZNAM OBRÁZKŮ	67
	SEZNAM TABULEK.....	68

ÚVOD

V současné době je snaha o zavedení výroby bioplynu z lignocelulózové biomasy. Jde především o metan vyrobený z rychle rostoucích plodin či odpadní biomasy. Tyto materiály jsou složeny celulózy, hemicelulózy, ligninu a dalších organických látek. A kvůli komplexní struktuře lignocelulózové biomasy a jejím netečným vlastnostem jsou velmi odolné vůči chemickým a biologickým metodám rozkladu a příprava fermentačního média je tak mnohem komplikovanější a energeticky náročnější. Při předúpravách, které jsou nezbytným krokem, se dosáhne narušení lignocelulózové struktury, zpřístupnění celulózy a hemicelulózy. Avšak nevýhodou těchto předúprav je vznik vedlejších produktů, jako jsou inhibiční látky, které ovlivňují efektivitu fermentace.

Tato diplomová práce se zabývá studiem vlivu inhibičních látek na produkci methanu z kukuřičné siláže. Vybrané inhibiční látky, furfural, kyselina gallová a kyselina třísllová, byly testovány v přítomnosti octanu sodného a mikrokrystalické celulózy na možné inhibiční účinky.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 BIOPLYN

Bioplyn je plynným produktem procesu methanizace - anaerobní fermentace organických látek, který je tvořen převážně methanem (CH_4) a oxidem uhličitým (CO_2). Má největší význam ze všech plynných biopaliv. Jeho předností při výrobě je, že plní dvě nezastupitelné funkce [11]:

- Zpracování organického odpadu rostlinného původu s vyšší vlhkostí, někdy i doplněné o živočišné odpady či organické hnojivo, bez škodlivých účinků.
- S obsahem až 65% methanu a malého množství oxidu uhličitého, vytváří vysoce hodnotné plynné palivo.

Bioplyn patří do kategorie s pestrou skupinou různých plynných zplodin z biologických resp. biochemických procesů. V plynném produktu dobře prospívajících mikroorganismů, je suma methanu a oxidu uhličitého téměř 100 % obj., ale vždy s nadvládou methanu. Při prováděných rozkladech a syntézách, biochemickými cestami, vzniká řada jednoduchých i složitějších plynných sloučenin, např. N_2 , O_2 , Ar, H_2S a další. [1]. Jeho vlastnosti závisejí na zpracovaných substrátech a procesních parametrech anaerobní fermentace. V ideálním případě by bioplyn obsahoval jen dvě složky – methan a oxid uhličitý. V praxi je, ale bioplyn tvořen ještě příměsí minoritních plynů [14].

1.1 Tvorba bioplynu

Podstatou tvorby bioplynu je rozklad organických látek v několika fázových stupních, které mohou trvat asi 1 měsíc, při teplotách kolem 37°C . Podmínkou je nepřístupnost vzduchu a kyslíku. Tvorba bioplynu probíhá všude tam, kde bez přístupu vzduchu, dochází k rozkladu organických látek činností mikroorganismů [11].

1.1.1 Anaerobní fermentace

Anaerobní fermentace je velice efektivním prostředkem zpracování odpadů, které jsou touto cestou přeměněny na energeticky hodnotný bioplyn. Jedná se o soubor na sebe navazujících procesů, v nichž vlastní methanogeny představují pouze poslední článek v řetězci biochemické konverze [1, 6].

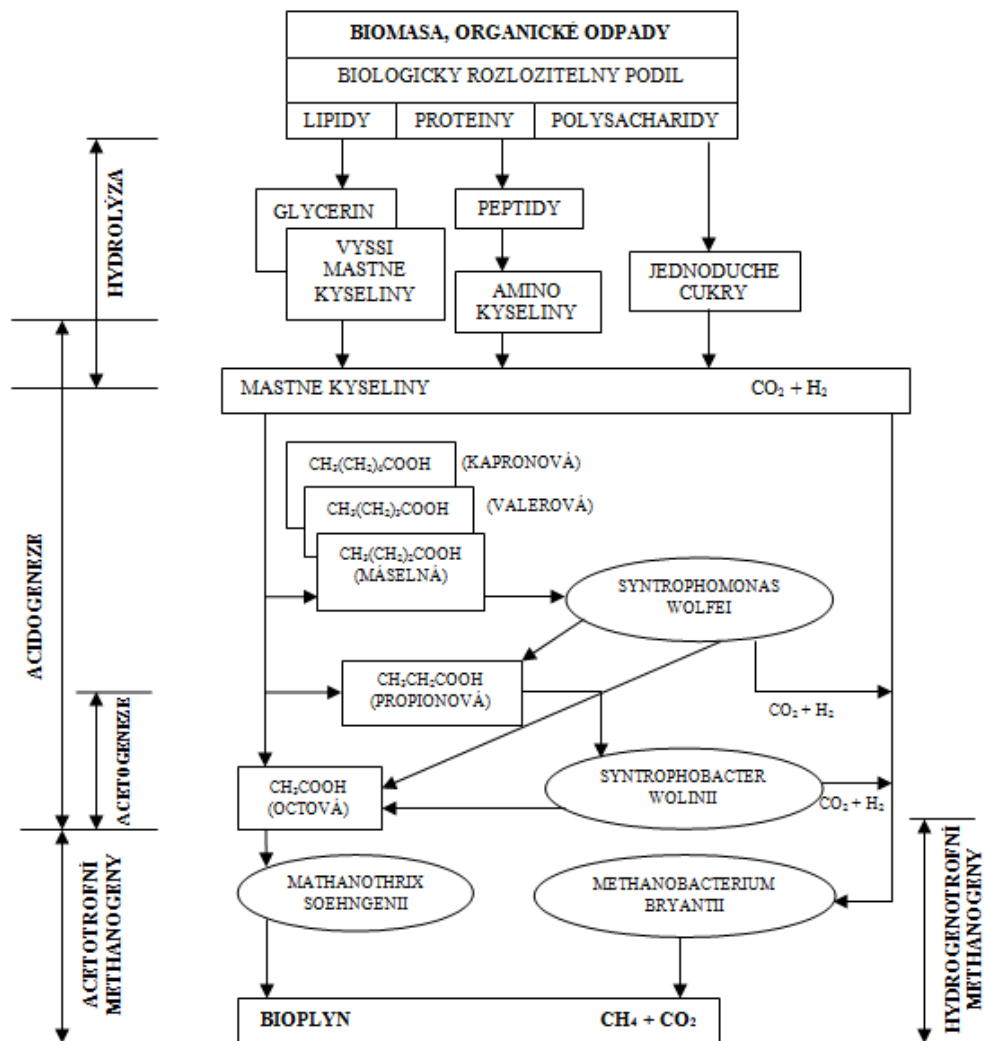
Na anaerobní fermentaci se podílí několik specifických skupin anaerobních mikroorganismů. Při tomto procesu mikroorganismy postupně rozkládají organickou hmotu bez přístupu vzduchu. Konečnými produkty jsou vzniklá biomasa, plyny (CH_4 , CO_2 , H_2 , N_2 , H_2S) a

nerozložený zbytek organické hmoty, který je již stabilizován. Anaerobní fermentace může probíhat samovolně v přírodě nebo řízenou metodou v bioplynových stanicích. Produkt jedné skupiny mikroorganismů se stává substrátem skupiny druhé, a proto výpadek jedné skupiny může způsobovat poruchy v celém systému [4, 5].

Anaerobní rozklad je souborem dílčích, na sebe navazujících procesů. Rozklad organických látek je až na konečné produkty – methan a oxid uhličitý – což vyžaduje metabolickou součinnost. Může probíhat samovolně v přírodě nebo řízenou metodou v bioplynových stanicích [5, 12, 23]. Celý proces anaerobní fermentace probíhá ve čtyřech základních fázích [5, 12]:

1. **hydrolýza** – rozklad makromolekulárních rozpuštěných a nerozpuštěných organických látek (polysacharidy, lipidy) na nízkomolekulární látky rozpustné ve vodě pomocí extracelulárních hydrolytických enzymů, produkovaných fermentačními bakteriemi. Nízkomolekulární látky, které při prvním stádiu rozkladu vznikají, jsou schopny transportu dovnitř buňky, kde probíhají další fáze.
2. **acidogeneze** - produkty hydrolýzy, nízkomolekulární látky, jsou uvnitř buňky štěpeny na jednodušší organické látky (kyseliny, alkoholy, CO_2 , H_2). Fermentací těchto látek se tvoří řada konečných redukováných produktů, které jsou závislé na charakteru počátečního substrátu a na podmínkách prostředí.
3. **acetogeneze** – probíhá oxidace vyšších produktů acidogeneze na kyselinu octovou, CO_2 a H_2 . Syntrofní acetogenní mikroorganismy produkují vodík a jsou důležitou mikrobiální skupinou, protože rozkládají organické kyseliny vyšší než octovou (hlavně propionovou kyselinu), alkoholy a aromatické sloučeniny. Jejich těsná součinnost s dalšími skupinami mikroorganismů, které spotřebovávají jimi tvořený vodík je pro ně nezbytná. Přebytek vodíku v systému inhibuje činnost těchto acetogenních mikroorganismů a tím i produkci methanogenních substrátů v systému.
4. **methanogeneze** – methanogenní mikroorganismy rozkládají své specifické substráty (metanol, kyselina mravenčí, CO_2 , CO , H_2) na produkty methan a oxid uhličitý. Substráty vhodné pro methanogenní mikroorganismy mohou v tomto stádiu zpracovávat také denitrifikační bakterie.

Vznik bioplynu při anaerobní fermentaci můžeme vidět na Obr. 1.



Obr. 1. Schéma vzniku bioplynu z biologicky rozložitelných odpadů [1].

Mezi další produkty anaerobní fermentace, patří, kromě bioplynu, dále digestát a fugát. **Digestát** je biologicky stabilizovaný substrát [13] neboli tuhý zbytek po vyhnití se sníženým obsahem biologicky rozložitelných látek. Tento materiál lze využít jako hnojivo, přísadku do kompostu nebo k úpravě povrchu terénu. A **fugát** je tekutý produkt vyhnívacího procesu a má charakter odpadní vody. Je silně zakalený a obsahuje produkty anaerobního rozkladu organických látek. Zpravidla je odváděn do čistírny odpadních vod [5].

1.1.2 Faktory ovlivňující proces

Anaerobní rozklad organických látek je ovlivňován celou řadou faktorů, které mění životní prostředí mikroorganismů a mají zásadní vliv na průběh celého procesu. Jedná se o tyto faktory [13, 23]:

- *vlhkost* – methanogenní organismy se mohou množit a pracovat ve vlhkém prostředí;
- *teplota* – tvorba methanu probíhá v širokém rozmezí teplot (4 – 90°C), ale pro udržení stability procesu je nutné zajistit konstantní teplotu;
- *hodnota pH* – pro růst methanogenních organismů, je optimální pH 6,5 – 7,5;
- *přísun živin* – pro svou buněčnou stavbu potřebují, methanogenní organismy, rozpustné dusíkaté sloučeniny, minerální látky a stopové prvky;
- *přítomnost toxických a inhibujících látek* – toxické a inhibující látky jsou takové, které negativně ovlivňují biologický proces;
- *složení substrátu* – je třeba zajistit rovnoměrný přísun substrátu, aby nedošlo k nadměrnému zatížení fermentoru.

Teplota ovlivňuje anaerobní digesci stejně jako všechny ostatní biochemické procesy. Se zvyšující se teplotou vzrůstá rychlost probíhajících procesů, ale změnou teploty a tím rychlosti probíhajících pochodů dochází k rozrušení rovnováhy procesu. Je tedy nutné udržovat konstantní teplotu. Bioplynové stanice, provozované v současné době, pracují v mezofilní teplotní oblasti, což je 35 – 42°C [13].

1.2 Chemické složení bioplynu

Bioplyn je svým chemickým složením jednoduchým i komplikovaným systémem současně. Jeho složení závisí v první řadě na druhu rozkládaného substrátu, z toho také vyplívají rozdíly ve složení bioplynu z technologických procesů (Tab. 1) [1, 12].

Tab. 1. Obsah methanu v bioplynu z různých technologických procesů [12].

Bioplyn	Obsah CH ₄ (obj %)
a) čištění odpadních vod	50 - 85
b) ze stabilizace kalů	60 - 70
c) agroindustriální odpady	55 - 75
d) skládky	35 - 55

Bioplyn se převážně skládá z CH₄ a CO₂ a menšího množství H₂, N₂, H₂S, dále určité množství vody a může obsahovat stopová množství amoniaku, mastných kyselin, argonu, chlorovodíku aj. Z dobře pracujících reaktorů obsahuje 65 – 80% CH₄ a 20 – 35% CO₂. Na obsahu methanu v bioplynu závisí jeho výhřevnost, která se obvykle pohybuje v rozmezí od 13,72 do 27,44 kJ/m³ (výhřevnost samotného methanu je 34,3 kJ/m³) [1, 12].

Bioplyn v závislosti na fermentovaném materiálu obsahuje vedle svých majoritních složek methanu a oxidu uhličitého i další příměsi. Nejvíce nečistot obsahuje bioplyn ze skládek tuhých odpadů a to hlavně sulfan, vyšší uhlovodíky, aromáty, chlorované uhlovodíky, alkoholy, ketony a je často kontaminován se vzduchem [12].

Methan, který je majoritní složkou bioplynu, je bezbarvý plyn, bez zápachu, se vzduchem tvoří třaskavou směs. Methan samotný je lehčí než vzduch, ale oxid uhličitý je těžší než vzduch, relativní hmotnost bioplynu tedy závisí na jeho složení a teplotě. Při obsahu methanu nad 53% začíná být bioplyn lehčí než vzduch. Přestože je methan i oxid uhličitý bez zápachu, bioplyn silně zapáchá. To je způsobeno hlavně obsahem sulfanu, a dalšími zejména sirnými sloučeninami, které páchnou již ve velice nízkých koncentracích. Více zapáchá bioplyn ze skládek [12].

1.3 Bioplynové stanice

Bioplynová stanice je technologické zařízení, které využívá procesu anaerobní fermentace ke zpracování biologicky rozložitelného materiálu. Výslednými produkty jsou stabilizovaný digestát a bioplyn. Digestát se nejčastěji využívá jako organické hnojivo a bioplyn je velmi kvalitní zdroj obnovitelné energie [5, 14].

V posledních letech jsme svědky vysokého nárůstu bioplynových stanic využívajících anaerobních procesů – methanizaci ke zpracování a stabilizaci různých druhů organických materiálů a biomasy. Proces anaerobní stabilizace má velkou přednost v tom, že biotechnologicky, za pomoci mikroorganismů transformuje biologicky rozložitelné organické látky na čistou energii – bioplyn. Anaerobní stabilizace může zpracovávat substráty i s vysokým obsahem vody, kdy spalování je neekonomické [1].

1.4 Substráty pro bioplynové stanice

Se stále stoupajícím počtem bioplynových stanic stoupá i poptávka po vhodných substrátech. Hlavním substrátem pro zemědělské bioplynové stanice je cíleně pěstovaná rostlinná biomasa, a to je např. kukuřičná a travní siláž.

Herrmann a Rath [27] se zaměřili na současný stav výroby bioplynu z kukuřice. Dříve byla kukuřice pěstována pro lidskou a živočišnou výživu, a ne pro výrobu bioplynu. V současné době, ale došlo k značnému rozšíření pěstování, např. v Německu, tohoto substrátu pro anaerobní fermentaci.

1.4.1 Biomasa k výrobě bioplynu

Dalšími surovinami je, které lze zpracovávat v bioplynových stanicích, je kejda, hnůj a jiné odpady z živočišné výroby, odpady z rostlinné výroby, ze stravování, biologicky rozložitelný komunální odpad a čistírenské kaly. Vhodnou kombinací substrátů lze docílit složení, které bude mít příznivý vliv na průběh procesu a tím i na výsledné množství a kvalitu bioplynu [8].

Rostlinná biomasa, kukuřičná a travní siláž, představuje přes 50% hmotnostních všech substrátů. V přepočtu na obsah energie představuje rostlinná biomasa až 80% energetického obsahu všech substrátů. Hlavním důvodem pro používání rostlinné biomasy k výrobě bioplynu je relativně vysoká produkce bioplynu z jednotky hmotnosti a zavedené agrotechnické postupy jejího pěstování, sklizně a konzervace. Problémem bioplynových stanic na rostlinnou biomasu je především nízká účinnost způsobená špatnou rozložitelností rostlinných materiálů [8].

Mužík a kolektiv [14] se zabývali výrobou bioplynu z cukrovarských řízků. Pokusy byly zaměřeny na ověření možností výroby bioplynu z vyslazených cukrovarských řízků a nejvíce využívanou surovinou pro produkci bioplynu – kukuřičnou siláží. Proces anaerobní fermentace probíhal v mezofilních podmínkách. U dvou variant bylo do směsí dávkováno

aditivum, jednalo se o biotechnologický přídatek složený ze směsi enzymů – amylázy, proteázy, lipázy a celulózy a roztok bakterií. V laboratorních podmínkách bylo dosaženo vysoké výtěžnosti methanu, zejména při kofermentaci cukrovarských řízků s kukuřičnou siláží. V pokusech se substráty složenými pouze z cukrovarských řízků a inokula se potvrdil rychlý průběh procesu a vysoká produkce methanu, 80% v bioplynu bylo vyprodukováno v rozmezí 12 – 14 dní. Podíl methanu v bioplynu se pohyboval u všech variant kolem 57%. Varianty bez kukuřičné siláže dosáhly po pětatřiceti dnech mírně nižší výtěžnosti methanu, ale po pětadesáti dnech byla i zde produkce methanu větší. Aplikace aditiva měla výraznější vliv na průběh procesu – produkce methanu byla zvýšena o 18,6%. Delší dobu zdržení potřebnou pro rozklad substrátů s podílem kukuřičné siláže i vliv biotechnologické předúpravy (dávkování aditiva) na zvýšení produkce methanu lze vysvětlit vyšším podílem celulózy v substrátech, což je právě u kukuřičné siláže. Publikace potvrzuje, že hydrolýza patří mezi nejpomalejší fáze procesu anaerobní fermentace. V pokusech se dávkování biotechnologického prostředku projevilo pozitivně a výsledky u směsí cukrovarských řízků s kukuřičnou siláží byly slibné. Výsledky ukázaly solidní potenciál využívání cukrovarských řízků pro výrobu bioplynu [14].

1.4.2 Produkce bioplynu z kukuřice

Z analýzy padesáti plánovaných bioplynových stanic vyplývá, že mezi substráty bude dominovat kukuřičná siláž. Měla by tvořit 34% z celkového množství používaných substrátů. Kukuřičné siláže se však mohou lišit ve složení, obsahu sušiny a především v anaerobní rozložitelnosti. Tyto rozdíly vyplývají z různých podmínek při pěstování a skladování. Důležitý je i druh použité kukuřice [4].

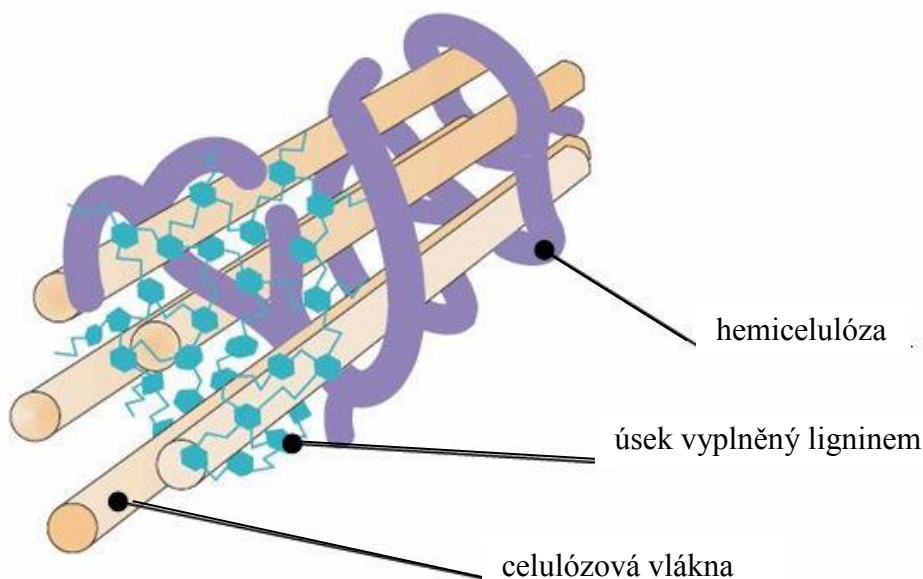
2 STRUKTURA LIGNOCELULÓZOVÝCH MATERIÁLŮ

Zatímco výroba biopaliv z rostlin se škrobovým základem je běžná a relativně jednoduchá, u rostlin, které mají lignocelulózový základ, tomu tak není. Důvodem je jejich vláknitá struktura [15]. Rostlinná biomasa je nejhojněji zastoupený obnovitelný zdroj uhlíku a energie na naší planetě. Lignocelulóza je strukturní materiál rostlin a její hlavní složky tvoří celulóza, hemicelulóza a lignin, které jsou navzájem spojeny [2, 16].

Tab. 2. Složení lignocelulózových plodin [22].

Lignocelulózový materiál	Celulóza (%)	Hemicelulóza (%)	Lignin (%)
štěpky z tvrdého dřeva	40 – 55	24 - 40	18 - 25
štěpky z měkkého dřeva	45 - 50	25 – 35	25 – 35
kukuřičná klas	45	35	15
tráva	25 - 40	35 – 50	10 – 30
papír	85 – 99	0	0 – 15
pšeničná sláma	30	50	15
listí	15 – 20	80 – 85	0
novinový papír	40 – 55	25 – 40	24 – 29
prasečí kejda	6	1,4 – 3,3	2,7 – 5,7
dobytčí hnůj	1,6 – 4,7	35,7	6,4

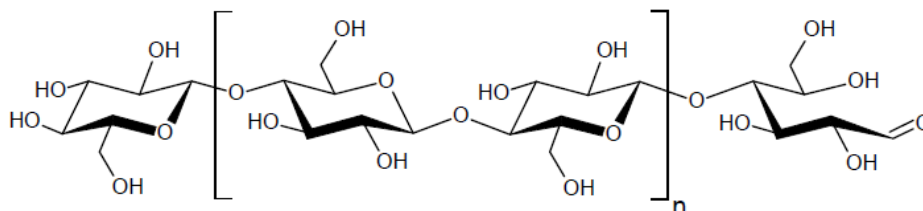
Celulózová vlákna jsou pevně spojena s ligninem vodíkovými a kovalentními vazbami. Vzájemně propletené struktury celulózy, hemicelulózy a ligninu jsou příčinou různé biologické rozložitelnosti. Hemicelulózy jsou nejnárodněji hydrolyzovány na své cukerné složky, ale obalení celulózy ligninem může za zpomalení jejího rozkladu [15].



Obr. 2. Schématické znázornění struktury rostlinné buněčné stěny [1].

Celulóza

Celulóza je vysokomolekulární polymerní struktura tvořená jednotkami glukosy, které jsou navzájem spojeny β -1,4-glykosidickou vazbou (Obr. 3).



Obr. 3. Celulóza [16].

Tyto dlouhé polymerní řetězce obsahující až 10 000 glukózových jednotek jsou svázané k sobě vodíkovými vazbami a van der Waalsovými silami do tzv. mikrofibril, v nichž se střídají vysoce uspořádané krystalické struktury a méně organizované amorfní části [2, 16].

Hemicelulóza

Hemicelulóza je komplex sacharidů, skládá se z pentózy, hexózy a cukrů kyselin. Dominantní složkou hemicelulózy v tvrdém dřevě a zemědělských rostlin je xylan. Hemicelulóza slouží jako vlákno mezi celulózou a ligninem, a takové spojení dává větší tuhost. Na

rozdíl od celulózy prakticky neobsahuje krystalické části, a proto se snadněji degraduje [2, 16].

Lignin

Lignin je po celulóze a hemicelulóze jeden z nejrozšířenějších polymerů ve volné přírodě a je přítomen v buněčné stěně. Hlavním účelem ligninu je poskytnout rostlině strukturální podporu, nepropustnost a odolnost proti mikrobiálním útokům. Je to amorfni heteropolymer, který je nerozpustný ve vodě. Je pevně svázán s celulóзовými a hemicelulóзовými vlákny a dodává celé struktuře pevnost a odolnost, a to dělá degradaci ligninu velmi těžké. Lignin jako jediná ze tří hlavních složek biomasy není zdrojem fermentovatelných sacharidů [2, 16].

2.1 Lignocelulóзовé odpady

Lignocelulóзовé odpady představují zdroj biomasy využitelný pro výrobu bioplynu. Jedná se o běžně dostupné materiály, které se vyskytují ve formě odpadů z různých odvětví průmyslu. Jak už bylo řečeno, tyto materiály jsou složeny s celulózy, hemicelulózy, ligninu a dalších organických a anorganických sloučenin. A právě celulóza a hemicelulóza představují zdroje cukrů, které lze transportovat z monosacharidů na bioplyn. Ale netečné vlastnosti lignocelulóзовých materiálů, způsobené jejich složením struktury, je dělá velmi odolnými vůči mikrobiálnímu rozkladu. Příčinou je obsah ligninu, který je odolný vůči chemickému a biologickému rozkladu [10].

2.1.1 Produkce metanu z lignocelulóзовých materiálů

Výroba methanu z lignocelulózy se skládá z předúpravy, anaerobní hydrolyzy a produkce methanu. Předúprava je založena na zpřístupnění složek materiálu enzymovému rozkladu a lepšího výtěžku methanu. Směs mikroorganismů, a téměř všechny produkty (pentóza, hexóza) a inhibující sloučeniny (furfural), se po dobu předúpravy převádějí na methan [2, 9].

Máca a kolektiv [20] se zabývali anaerobním rozkladem řepných řízky, řízky byly z cukrovaru a jako anaerobní inokulum použili směs kalů odebraných z vyhnívacích nádrží několika čistíren odpadních vod. Experiment probíhal pět měsíců v anaerobním nepřetržitě míchaném reaktoru. Podíl methanu ve vznikajícím bioplynu dosahoval hodnoty 50,7% a účinnost rozkladu dosahovala 72%. Na základě těchto výsledků, doporučují cukrovarnické řízky jako vhodný substrát.

Zheng a kolektiv [26] pracovali na své studii o produkci methanu pět let. Zaobírali se cíleně pěstovanou rostlinou biomasou a biomasou odpadní z živočišné výroby. Ze studie vyplynulo, že rychlost výroby bioplynu byla vyšší (78,4%) za použití dobytčího hnoje jako substrátu než při použití zbytků plodin.

3 PŘEDÚPRAVA LIGNOCELULÓZOVÝCH MATERIÁLŮ

Přirozené vlastnosti lignocelulózových materiálů je dělají nehybnými vůči nabourávání mikroorganismy. Cílem předúpravy je změnit vlastnosti materiálu takovým způsobem, aby byl připraven pro účinný mikrobiální rozklad. Struktura lignocelulózových materiálů je složitá a složité jsou i metody předúprav. Metoda zpracování závisí na typu a složení biomasy [15].

Hydrolyzáty získané z lignocelulózou biomasy předúpravou, mohou být použity k výrobě bioplynu. Tradiční proces předúpravy zahrnuje odstraněním ligninu a hemicelulózy, a vyrobí tak celulózu přístupnou pro enzymatický útok [3].

Je známo několik chemických a fyzikálně - chemických způsobů předúpravy rostlinných materiálů, kterými lze dosáhnout vyšší účinnosti převedení ligninu nebo celulózy a hemicelulózy do kapalné fáze ve formě nízkopolymerních sloučenin, které jsou snadněji fermentovatelné. Nejdůležitějším procesem rozkladu, převedením do roztoku, je hydrolýza. Ta probíhá v důsledku přítomnosti bakterií produkujících hydrolytické enzymy a její rychlost může být zvýšena různými způsoby předúpravy [8].

3.1 Metody předúprav lignocelulózových materiálů

Předúprava biomasy je nezbytný krok, aby došlo k maximálnímu využití biomasy a tím k zvýšení účinnosti následné hydrolýzy. Vhodně zvolená metoda zvyšuje přístupnost celulózových vláken a zvyšuje možnosti rozkladu polysacharidů na monosacharidy bez degradace materiálu a vzniku inhibičních látek. Při použití jakékoli metody předúpravy je kladen důraz na její účinnost a nenákladnost [15].

Cílem předúpravy je zdokonalení biologického rozkladu a tím zvýšení produkce methanu či hygienizace fermentovatelného materiálu [9].

Mezi hlavní metody předúprav patří [8, 15]:

- **Mechanické metody** – lze sem zařadit různé způsoby rozkladu tuhých složek materiálu, jako např. mletí, drcení, sekání aj. Zmenšením velikosti částic dojde ke zvětšení povrchu a tím k zlepšení přístupnosti organických látek v substrátu enzymatickému rozkladu. Mechanická předúprava patří mezi důležité kroky zpracování lignocelulózových materiálů. Její nevýhodou je energetická náročnost.

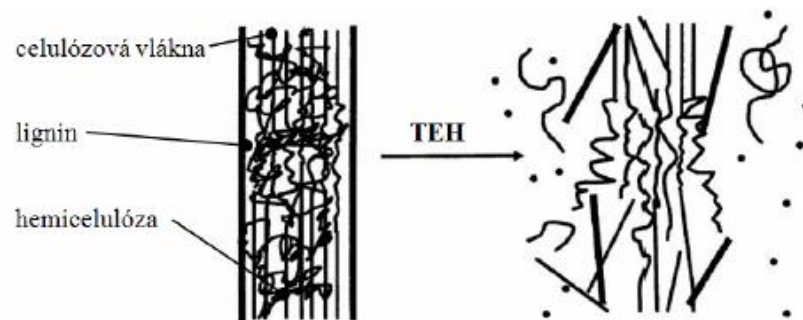
- **Chemické metody** – mezi chemické metody patří působení alkálií, kyselin nebo oxidačních činidel (např. ozon), které vede k destrukci složitých organických látek - hydrolýze. Při použití těchto technologií dochází ke korozivnímu napadání materiálu reaktoru. Dále k tvorbě toxických či inhibičních látek, což vede k nízkým výtěžnostem biopaliv. Další nevýhodou je jejich finanční náročnost. V porovnání s ostatními metodami jsou ale neúčinnější.
- **Fyzikální metody** – patří mezi ně termická hydrolýza, autohydrolýza (exploze vodní parou), ionizující záření, působení ultrazvuku a dochází k rozkladu složitých organických látek. Metody jsou založeny na temperaci biomasy. Probíhají při teplotách 150 – 180°C, nejprve se začne rozpouštět hemicelulóza, při mírném zvýšení teploty i lignin. Teploty nad 160°C jsou ale příčinou vzniku inhibičních látek.
- **Biologické metody** – tato předúprava využívá různé druhy plísní a hub. Nejlepší výtěžností je dosaženo použitím kmenu bílých hub. Výhodou této metody jsou nízké energetické nároky i vytvoření kultivačního prostředí, ale nevýhodou je časová náročnost.

3.1.1 Termická předúprava

Termicko-expanzní hydrolýza je fyzikální technologie předúpravy surovin, která se začíná instalovat v technologických provozovnách pro výrobu biopaliv. Její uplatnění lze nalézt v bioplynových stanicích, kde se používá k zvýšení biodegradability lignocelulóзовých ploidin. Principem metody je máčení lignocelulóзовých materiálů v horké vodě, která je pomocí tlaku udržována v kapalném stavu. Při teplotách vyšších jak 160°C dochází k částečnému termickému rozpouštění ligninu. Během termického zpracování nedochází k tvorbě inhibitorů fermentace. Ale při teplotách vyšších jak 220°C jsou polysacharidy štěpeny na fenolické sloučeniny, které mají toxický účinek na methanogenní organismy. Efektivita metody závisí na složení a pH substrátu, pracovní teplotě zpracování a době výdrže. Kukuřičná siláž by se měla vystavit účinku tlakové horké vody při teplotě 90°C na dobu 15 min [10].

Krátký [10] ve své studii zjišťoval vliv termicko-expanzní hydrolýzy na biodegradabilitu pšeničné slámy. Zařízení se skládalo z hydrolyzéry, kulového kohoutu a expanzní nádoby. Experimenty prováděl se suspenzí voda - sláma. Před samotnou hydrolýzou byla sláma máčena v horké vodě (60°C) po dobu 1 hodiny. Poté substrát nalil do hydrolyzéry a podrobil termicko-expanzní hydrolýze s teplotami zpracování 170 - 200°C. Závěrem experimen-

tu bylo, že tato metoda předúpravy je ekologicky příznivá a lze ji využít pro zvýšení biodegradability jakékoli biomasy [10].



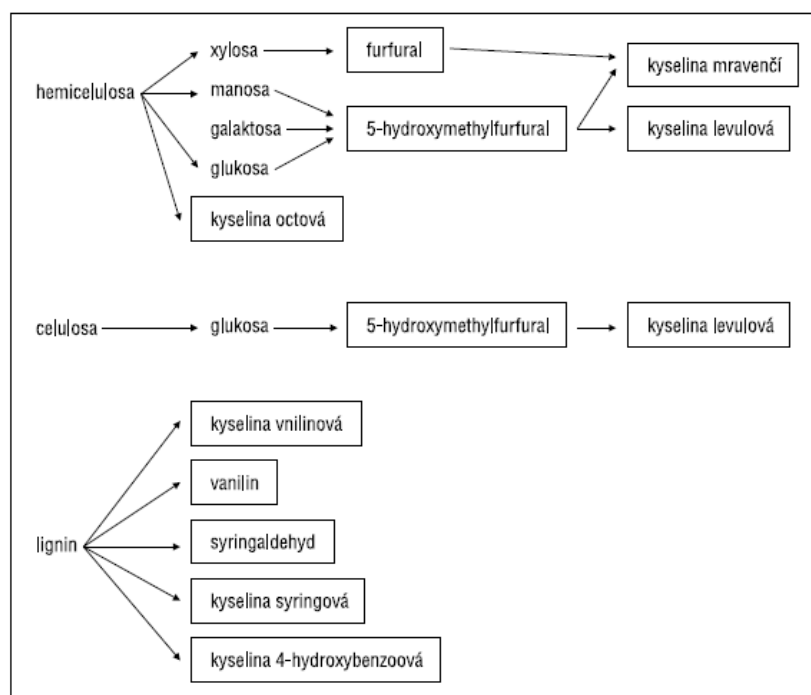
Obr. 4. Účinek termicko-expanzní hydrolýzy [10].

Metodami předúpravy lignocelulózových materiálů se zabýval i Hendriks [2], zkoušel účinek parního předčištění, předúpravu pomocí vápna, působení horké vody či amoniaku, s cílem zjistit, která metoda předúpravy bude úspěšná a ekonomicky atraktivní. Došel k závěru, že existuje malá rozdílnost mezi výkonností předúprav, ale záleží na typu materiálu, jakou metodu k němu zvolíme. Dále zjistil, že nevýhodou pro výrobu ethanolu, ve srovnání s produkcí methanu, je nízká tolerance pro inhibiční sloučeniny, jako je furfural a hydroxymethylfurfural. Methanol má vyšší snášenlivost pro inhibiční látky a je tak lepší ho využít jako palivo než ethanol.

Chandra a kolektiv [28] se zabírali zlepšením biologické rozložitelnosti a výrobou bioplynu ze substrátu pšeničné slámy pomocí hydroxidu sodného a hydrotermální předúpravy. Došli k závěru, že alkální předúpravou pomocí NaOH je produkce bioplynu 87,5% a 111,6% je větší methanová produkce methanu ve srovnání s neošetřenou pšeničnou slámou. Hydrotermální předúpravou se projevilo zvýšení produkce bioplynu o 9,2% a 20,0% v produkci methanu ve srovnání s neošetřeným substrátem.

4 INHIBIČNÍ LÁTKY

Aby mohla efektivně proběhnout enzymová hydrolyza celulózy na jednoduché sacharidy, je potřeba nejprve rozrušit komplexní matici tvořenou ligninem, celulózou a hemicelulózou. To se děje za vysokých teplot, tlaků a v přítomnosti chemických činidel, ale v průběhu těchto procesů, může vznikat řada vedlejších produktů (Obr. 5), z nichž mnohé z nich mohou mít inhibiční efekt. Množství a zastoupení takto vzniklých inhibičních látek závisí nejen na podmínkách předúpravy a hydrolyzy, ale i na typu materiálu surovin [3, 7].

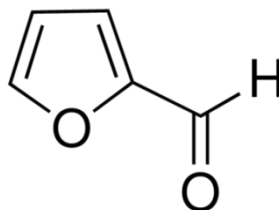


Obr. 5. Přehled a původ hlavních inhibičních látek (v rámečku) vznikajících při předúpravě lignocelulóзовého materiálu [7].

Mezi hlavní inhibiční látky patří fenolové sloučeniny, kde patří vanilin, kyselina gallová (Obr. 7), kyselina třísllová (Obr. 8), deriváty furanu jako je furfural (Obr. 6) a hydroxymethylfurfural, pocházející z degradace hemicelulózy a slabé organické kyseliny (kyselina octová, kyselina mravenčí) [3, 7].

4.1 Deriváty furanu

Barakat a kolektiv [3] studovali vliv inhibičních látek. Účelem studie bylo posoudit vliv některých vedlejších produktů, z lignocelulózové předúpravy, na výrobu methanu z xylózy. Zkoumanými vedlejšími produkty byl furfural, hydroxymethylfurfural a syringaldehyd. Ze studie vyplynulo, že vedlejší produkty předúpravy lignocelulózou biomasy, neinhibují anaerobní fermentaci, ale vedou k produkci methanu.



Obr. 6. Furfural (FUR) [19].

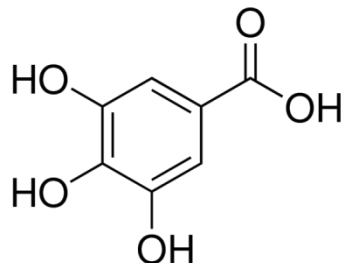
Paulová s kolektivem [7] se zabývala sledováním vlivu tří vybraných inhibičních látek (furfuralu, hydroxymethylfurfuralu a kyseliny 4-hydroxybenzoové) na růstové schopnosti tří potenciálních producentů ethanolu: kvasinek *Saccharomyces cerevisce* a *Pichia stipitibis* a bakterie *Zymomonas mobilis*. Tvrdí, že inhibiční efekt degradačních produktů lignocelulózových materiálů závisí nejen na jejich koncentraci, ale i na typu a vlastnostech produkčního mikroorganismu. Toxický efekt inhibitorů na testované kmeny klesal v pořadí furfural, hydroxymethylfurfural a kyselina hydroxybenzoová, všechny inhibitory ovlivňovaly nárůst biomasy. Jelikož testované inhibiční látky ovlivnily negativně proces, Paulová navrhuje před fermentací lignocelulózové hydrolyzáty detoxikovat nebo vybrat jiný mikroorganismus, který je v přítomnosti inhibitorů méně citlivý.

4.2 Fenolové sloučeniny

Ximenes [18] ve své práci zabýval inhibicí celulózy fenolovými sloučeninami. Jako lignocelulózový materiál byla použita kukuřičná píce, tráva, dřevo a u těchto materiálů byla provedena enzymová hydrolýza. Tato práce potvrzuje, že fenoly (vanilin, syringaldehyd, kyselina benzoová) inhibují hydrolýzu celulózy a snižují tak rychlost hydrolýzy o 50%.

Mousa a Forster [25] využili glukózu jako faktor proti inhibici. Přidáním inhibiční sloučeniny, kyseliny gallové a glukózy do vyhnívacích nádrží a testovali jejich degradaci. V koncentraci 10 a 20 mg/l měla kyselina gallová malý vliv na produkci methanu, ale v koncentraci 50 mg/l došlo ke snížení o 15% produkce methanu v bioplynu. Studie ukáza-

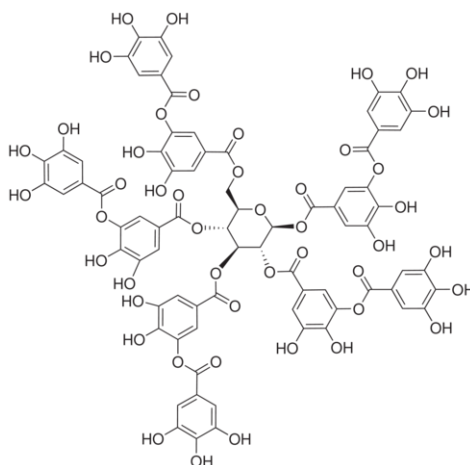
la, že glukóza dávkovaná v koncentraci 15 mg/l může způsobit obrácení inhibičního účinku kyseliny gallové, způsobila zrychlení jejího odstranění ze substrátu. Výsledky tedy ukazují, že glukóza mohla účinně působit proti inhibici kyseliny gallové.



Obr. 7. Kyselina gallová (GA) [19].

Kouroutzidou a kolektiv [24] provedli práci na téma anaerobní rozložitelnost kyseliny gallové v odpadní vodě. Práce pojednává o použitelnosti nízkonákladových metod pro posouzení schopnosti anaerobních mikroorganismů rozkládat fenolické sloučeniny nacházející se v odpadních vodách. Jako zkoušená látka byla použita kyselina gallová v koncentracích 100, 500 a 1000 mg/l. Těmito koncentracemi byl na dobu třidvacet dní kal naočkován. Rozložitelnost kyseliny gallové byla posuzována z hlediska produkce bioplynu. A výsledky naznačují, že kyselina gallová je snadno rozložitelná za anaerobních podmínek, dokonce i při koncentraci 1000 mg/l.

Hernandez a Edyvean [29] se také zabývali inhibicí fenolových látek na produkci bioplynu. Jako inhibiční fenolové látky byly testovány kyselina kávová, kyselina gallová aj. V tomto experimentu byla výroba bioplynu ovlivněna koncentrací fenolové látky, celková biodegradace fenolové látky byla okolo 63% a inhibice probíhala u koncentrací fenolových látek 800 a 1600 mg/l.



Obr. 8. Kyselina tříslová (TA) [19].

5 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE

Cílem práce bylo zjistit vliv vybraných inhibičních látek, vznikajících při tepelných předúpravách lignocelulózových materiálů, na produkci methanu v biologicky stabilizovaném substrátu z kukuřičné siláže (digestátu) se srovnávací látkou, octanem sodným či mikrokrystalickou celulózu, při anaerobní fermentaci.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6.1 Použité přístroje a chemikálie

6.1.1 Přístroje a pomůcky

Obvyklé laboratorní vybavení, a dále:

- Analytické váhy Kern 770
- Analyzátor uhlíku TOC-5000A, Schimadzu
- Centrifuga Rotanta 460R, Hettich Zentrifugen, Schoeller
- Manometr GDH200-13, Greisinger
- Míchačka magnetická MM2
- Plynotěsná injekční stříkačka Hamilton, 100 μ l
- Plynový chromatograf Agilent Technologies 7890A GC System
- pH metr inoLab 720 S2 SenTix 41, pH elektroda – Electrode Sentix 41, redox elektroda – Platin Elektrod Blue Line 31 RX, Shott
- Předvážky Kern 440-47
- Sušárna Memmert UM 100
- Termostat laboratorní ST2, POL-EKO
- Třepací vodní lázeň GFL 1092

6.1.2 Chemikálie

Byly použity chemikálie čistoty p.a., firmy Sigma Aldrich s.r.o., Lachema n.p. Brno a Penta, Fluka a.s.

CaCl_2	chlorid vápenatý
CH_3COONa	octan sodný
$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	heptahydrát síranu kobaltnatého
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	pentahydrát síranu měďnatého
$\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_2$	furfural
$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$	mikrokystalická celulóza
$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$	kyselina gallová
$\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_4$	kyselina třísllová

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	hexahydrát chloridu železitého
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	heptahydrát síranu železnatého
H_3BO_3	kyselina boritá
KH_2PO_4	hydrogenfosforečnan draselný
K_2HPO_4	dihydrogenfosforečnan draselný
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	heptahydrát síranu hořečnatého
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	tetrahydrát síranu hořečnatého
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	dodekahydrát hydrogenfosforečnanu sodného
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	síran amonný
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	tetrahydrát molybdenanu amonného
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	heptahydrát síranu zinečnatého

6.1.3 Biomédium

Na přípravu 1 l standardního biomédia byly použity zásobní roztoky A – F. K 800 ml destilované vody v odběrné baňce se přidalo 1 ml zásobních roztoků A, B, C a F, 5 ml zásobního roztoku D a 20 ml zásobního roztoku E a doplnilo se po rysku na 1000 ml.

- A) 22,5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- B) 27,5 g CaCl_2
- C) 0,25 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
- D) 10,0 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- E) fosfátový pufr o pH 7,2
 - 8,2 g KH_2PO_4
 - 21,8 g K_2HPO_4
 - 44,7 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$
- F) roztok stopových prvků
 - 0,75 g H_3BO_3
 - 3,00 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
 - 0,10 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
 - 0,50 g $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

- 0,05 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- 0,1813 g $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- 0,05 g $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

6.1.4 Inokulum

Pro testování inhibice byl zvolen digestát z kukuřičné siláže z bioplynové stanice Pěčín v Českých Budějovicích. Jednalo biologický zbytek po fermentačním procesu. Po celou dobu experimentu byl digestát uchovávan v laboratorním termostatu ST2 při stálé teplotě 39°C. Před jeho použitím byla stanovena sušina veškerých látek, ztráta žiháním a následně byl zředěn biomédiem, tak aby koncentrace sušiny připraveného inokula byla u všech testů cca 1 g/l.

6.1.5 Testované vzorky a srovnávací látky

Testované inhibiční látky byly zvoleny na základě konzultace s vedoucím diplomové práce a citovaných publikací z teoretické části. U všech níže uvedených testovaných látek byl připraven zásobní roztok o koncentraci 20 g/l. Jako srovnávací látky a zdroj uhlíku byly použity octan sodný a mikrokrytalická celulóza. Při přípravě inhibičního testu bylo naváženo 1 g srovnávací látky tak, aby výsledná koncentrace byla 10 g/l.

Testované inhibiční látky:

furfural ($\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_2$)

- furan-2-karboxaldehyd; $M=96,08$ g/mol; tekutá forma žluté barvy, čistoty 99%
- koncentrace uhlíku 62,45%

kyselina gallová ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$)

- 3,4,5-trihydroxybenzoová kyselina; $M=170,12$ g/mol; prášková forma bílé barvy
- množství uhlíku 49,38%

kyselina tříslová ($\text{C}_{76}\text{H}_{52}\text{O}_{46}$)

- $M=1\ 701,20$ g/mol; prášková forma světle žluté barvy
- koncentrace uhlíku 53,61%

Srovnávací látky:

octan sodný (CH_3COONa)

- $M=82,03$ g/mol; prášková forma bílé barvy, čistoty 97%
- koncentrace uhlíku 29,25%

mikrokrystalická celulóza ($C_6H_{10}O_5$)

- $M=162$ g/mol; prášková forma bílé barvy bez zápachu
- koncentrace uhlíku 44,44%

6.2 Metody stanovení

Experimenty anaerobní fermentace probíhaly v plynotěsných lahvích s uzávěry opatřené septem k odběru plynné fáze, profukování a měření tlaku.



Obr. 9. Testovací láhev (vlevo) a vodní lázeň (vpravo).

6.2.1 Test inhibice produkce methanu

Byly provedeny tři testy, které probíhaly nezávisle na sobě. První test byl zvolen s použitím octanu sodného v přítomnosti inhibiční látky furfuralu. U další test se dělil na dva experimenty, u obou byla použita stejná srovnávací látka (octan sodný). První experiment proběhl v přítomnosti inhibiční látky kyseliny gallové a u druhého byla použita kyselina tříslivá. A poslední test byl zvolen se srovnávací látkou mikrokrystalickou celulózou v přítomnosti furfuralu.

Pro tyto experimenty byly připraveny skleněné testovací lahve s plynotěsným septem o celkovém objemu asi 300 ml, do kterých bylo přidáno 100 ml inokula, o sušině cca 1 g/l. Dále byla přidána srovnávací látka o koncentraci 10 g/l (octan sodný nebo mikrokrystalic-

ká celulóza) a testovaná látka (furfural, kyselina gallová či kyselina třísllová) o známé koncentraci dle druhu testu.

Pro každou koncentraci testované látky (0,1 g/l; 0,2 g/l; 0,5 g/l; 1 g/l; 2 g/l) byly k dispozici tři lahve. Do nichž byla přidána srovnávací látka, k zjištění produkce methanu v přítomnosti inhibiční látky. Dalších pět lahví sloužilo k zjištění produkce bioplynu ze samotného inokula (tzv. slepý pokus) a pět lahví bylo připraveno jen se srovnávací látkou. Takto naplněné lahve, byly cca 10 minut provzdušňovány dusíkem. Po provzdušňování byl kladen důraz na okamžité uzavření lahví tak, aby nedošlo ke kontaktu s kyslíkem. Nakonec byly testovací lahve vloženy do vodní lázně se stálou teplotou 39°C a kontinuálním mícháním temperačního média při 55 ot/min.

V průběhu experimentu bylo z lahví odebíráno plynotěsnou injekční stříkačkou 100 µl plynné fáze a následně nastříknuto do plynového chromatografu odkud byly získány hodnoty methanu a oxidu uhličitého.

Na konci testu bylo u každého vzorku stanoveno pH a ORP. Každý vzorek byl na konci testu odstředěn v uzavřených kyvetách na centrifuze k získání supernatantu při 30 000 ot/min po dobu 10 minut a teplotě 25°C a následně byly vzorky naředěny ke stanovení koncentrace celkového rozpuštěného uhlíku.

6.2.2 Stanovení sušiny

Stanovení sušiny veškerých látek bylo prováděno ve skleněných miskách s víčkem, do kterých bylo odpipetováno 10 ml inokula a sušeno do konstantní hmotnosti v sušárně při 105°C. Stanovení bylo provedeno třikrát vedle sebe a koncentrace sušiny byla vyjádřena z průměru získaných hodnot v g/l.

6.2.3 Stanovení ztráty žíháním

Obsah vysušeného biologického materiálu, cca asi 0,200 g, byl vložen do vyžíhaného a předem zváženého kelímku. Kelímky s vysušeným inokulem byly žíhány v peci při 550°C po dobu 3 hodin. Ztráta těkavých látek byla vyjádřena v procentech.

6.2.4 Stanovení pH a ORP

U každého vzorku byly na konci experimentu změřeny pH a ORP. Před měřením pH byla provedena kalibrace na pufrů 4 a 7. Pro měření byla zvolena skleněná elektroda

s kapalinovým referenčním elektrolytem pro pH a redox elektroda s platinovým čidlem pro měření redox potenciálu, který byl měřen v jednotkách mV.

6.2.5 Stanovení produkce bioplynu pomocí plynové chromatografie

Produkce methanu byla sledována u testovaných vzorků třikrát vedle sebe, následně u slepého pokusu a srovnávací látky.

Plynné produkty vznikající při anaerobním rozkladu byly analyzovány na obsah CH₄ a CO₂ pomocí plynového chromatografu Aglient 7890A a vyhodnoceny v programu Chem-Station, a to třikrát týdně v intervalech 35, 57, 76 dní, dle druhu testu.

Bylo odebíráno 100 µl plynné fáze, pomocí plynotěsné stříkačky Hamilton. Vzorek byl nastříknut do vyhřátého injektoru přes septum a dále analyzován ve skleněné koloně Porapak Q, dlouhé 1828 mm.

Každá složka plynu postupovala kolonou svojí rychlostí, která se odvíjí od jejího retenčního času. Teplotně vodivostní detektor (TCD) indikoval okamžitou koncentraci separovaných látek v nosném plynu. Tímto plynem bylo Helium čistoty 4.6. Dále byly použity:

- Kalibrační plyn (Linde Gas a.s. Praha): 4,04 obj.% CH₄, 0,79 obj.% CO₂, 95,161 obj.% N₂.
- Chladicí plyn (Linde Gas a.s. Praha): vzduch.

Tab. 3. Parametry měření na GC Aglient 7890A

parametr	teplota [°C]	průtok He [ml/min]
TCD	250	53
Injektor	200	
Kolona (Porapak Q)	50	
Termostat	50	

6.2.6 Stanovení produkce bioplynu pomocí měření tlaku

Tlak vyprodukovaného plynu v lahvích byl měřen manometrem GDH200-13 přes septum. U druhého testu (octan sodný + GA, TA) byl tlak měřen a vyrovnán až na konci experimentu. U třetího testu (mikrokrystalická celulóza + FUR) byl tlak měřen a vyrovnáván po dobu celého experimentu. Tento tlak byl měřen z důvodu vznikajícího přetlaku v testovacích lahvích. [17]

Tab. 4. Technické údaje manometru GDH 200-13 [30].

měřicí rozsah	200 – 1999 mbar
přesnost	± 1 číslice
připojení tlaku	2 kovové přípojky z poniklované mosazi
frekvence měření	cca 1 měření za sekundu



Obr. 10. Digitální manometr GDH 200-13 [30].

6.2.7 Stanovení celkového rozpuštěného uhlíku

Stanovení celkového organického uhlíku (TOC) vzorků bylo provedeno na analyzátoru uhlíku Shimadzu 5000A na konci testu. Množství celkového organického uhlíku (TOC) je dáno rozdílem hodnot celkového uhlíku (TC) a anorganického uhlíku (IC).

Principem stanovení celkového uhlíku (TC) je nastříknutí vzorku do vysokoteplotního generátoru, dochází k oxidaci veškerého uhlíku ve vzorku ve spalovací trubici s platinovým katalyzátorem při teplotě 670°C v proudu kyslíku. Vzniklý oxid uhličitý je detekován a jeho obsah je kvalitativně vyhodnocen, ve formě píku a jeho výška je přímo úměrná koncentraci TC ve vzorku. Při stanovení anorganického uhlíku (IC) je vzorek nastříknut do proudu kyslíku do nádoby s kyselinou fosforečnou, kde dochází k vytěsnění oxidu uhličitého. Jako koncovka je zde použita IČ detekce jako u stanovení TC.

7 VÝPOČTY A ZPRACOVÁNÍ NAMĚŘENÝCH HODNOT

- Množství produkovaného uhlíku ve formě CH₄ na základě měření GC

$$m_{\text{cCH}_4} = \frac{M_c \cdot p}{R \cdot T} \cdot \frac{V_g}{1000} \cdot w_{(\text{CH}_4)} \cdot \frac{V_{\text{st}}}{S_{\text{st}}} \cdot \frac{S_{\text{vz}}}{V_{\text{vz}}} \cdot 1000 \quad (1)$$

m_{cCH_4}	množství vyprodukovaného uhlíku ve formě CH ₄ [mg]
M_c	atomární hmotnost uhlíku [g.mol ⁻¹]
p	tlak v den měření [kPa]
R	molární plynová konstanta [J.K ⁻¹ . mol ⁻¹]
T	termodynamická teplota v den měření [K]
V_g	plynný objem lahve [ml]
$w_{(\text{CH}_4)}$	množství CH ₄ v kalibračním plynu [%]
V_{st}	dávkovaný objem plynné fáze standardu [μl]
S_{st}	signál detektoru standardu [μV.s]
V_{vz}	dávkovaný objem plynné fáze vzorku [μl]
S_{vz}	signál detektoru vzorku [μV.s]

- Množství produkovaného uhlíku ve formě CO₂ na základě měření GC

$$m_{\text{cCO}_2} = \frac{M_c \cdot p}{R \cdot T} \cdot \frac{V_g}{1000} \cdot w_{(\text{CO}_2)} \cdot \frac{V_{\text{st}}}{S_{\text{st}}} \cdot \frac{S_{\text{vz}}}{V_{\text{vz}}} \cdot 1000 \quad (2)$$

m_{cCO_2}	množství vyprodukovaného uhlíku ve formě CO ₂ [mg]
M_c	atomární hmotnost uhlíku [g.mol ⁻¹]
p	tlak v den měření [kPa]
R	molární plynová konstanta [J.K ⁻¹ . mol ⁻¹]
T	termodynamická teplota v den měření [K]
V_g	plynný objem lahve [ml]
$w_{(\text{CO}_2)}$	množství CO ₂ v kalibračním plynu [%]
V_{st}	dávkovaný objem plynné fáze standardu [μl]
S_{st}	signál detektoru standardu [μV.s]
V_{vz}	dávkovaný objem plynné fáze vzorku [μl]
S_{vz}	signál detektoru vzorku [μV.s]

- Stanovení sušiny kalu

$$x_{105^{\circ}\text{C}} = \frac{m_1 - m_2}{V} \quad (3)$$

$x_{105^{\circ}\text{C}}$	sušina kalu [$\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]
m_1	hmotnost misky s kalem [g]
m_2	hmotnost prázdné misky [g]
V	pipetovaný objem [ml]

- Ztráta žiháním

$$y_{550^{\circ}\text{C}} = 100 - \left(\frac{m_z - m_k}{m_s} \right) \quad (4)$$

$y_{550^{\circ}\text{C}}$	ztráta žiháním [%]
m_z	hmotnost kelímku s filtrátem po žihání [g]
m_k	hmotnost prázdného kelímku [g]
m_s	hmotnost filtrátu po sušení [g]

- Hmotnost uhlík v plynné fázi pomocí měření přetlaku

$$m_h = \frac{1200 \cdot 0,1 \cdot (\Delta p \cdot V_g)}{RT} \quad (5)$$

m_h	hmotnost uhlíku v čisté produkci plynu v plynné fázi [mg]
Δp	průměr rozdílů počátečního a konečného tlaku [mb]
V_h	objem plynné fáze v lahvích [l]
0,1	přepočítávací koeficient z N/m^2 na mb z m^3 na l
R	molární plynová konstanta [$\text{J}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$]
T	termodynamická teplota v den měření [K]

- Hmotnost uhlík v kapalně fázi

$$m_l = \rho_{IC} \cdot V_l \quad (6)$$

m_l hmotnost uhlíku v kapalně fázi [mg]

ρ_{IC} průměrný přírůstek hmotnostní koncentrace anorganického uhlíku na konci testu [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]

V_l objem kapalně fáze [l]

- Celková produkce uhlíku metodou měření plynně fáze pomocí měření GC

$$m_{tg} = m_g + m_l \quad (7)$$

m_{tg} celková hmotnost vzniklého uhlíku [mg]

m_g hmotnost uhlíku v produkci plynu v plynně fázi ($\sum m_{c\text{CH}_4} + m_{c\text{CO}_2}$) [mg]

- Celková produkce uhlíku metodou měření plynně fáze pomocí měření přetlaku

$$m_{th} = m_h + m_l \quad (8)$$

m_{th} celková hmotnost vzniklého uhlíku [mg]

- Hmotnost uhlíku ve zkoušeně látce

$$m_v = \rho_{c,v} \cdot V_l \quad (9)$$

m_v hmotnost uhlíku ve zkoušeně látce [mg]

$\rho_{c,v}$ koncentrace zkoušeně sloučeniny [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]

- Stupeň biologického rozkladu v anaerobním prostředí

$$D_h = \frac{m_h \cdot 100}{m_v} \quad (10)$$

$$D_g = \frac{m_g \cdot 100}{m_v} \quad (11)$$

$$D_t = \frac{m_t \cdot 100}{m_v} \quad (12)$$

D_h	stupeň rozkladu podle složení plynné fáze pomocí měření přtlaku [%]
D_g	stupeň rozkladu podle složení plynné fáze pomocí měření GC [%]
D_t	celkový stupeň biologického rozkladu [%]

8 VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem této práce je studium vlivu vybraných inhibičních látek na produkci methanu z kukuřičné siláže.

8.1 Testy inhibice produkce methanu

Prováděné inhibiční testy probíhaly v mezofilních podmínkách při konstantní teplotě 39°C v tzv. lahvových testech.

Vzorky byly testovány třikrát vedle sebe, dále slepé pokusy (inokulum) a srovnávací látka.

Byly provedeny tři testy, s různými inhibičními látkami, a to s furfurelem (FUR), kyselinou gallovou (GA) a kyselinou tříslovou (TA). Tyto látky byly vybrány na základě publikací, podle nichž byl dále zvolen postup inhibičního testu. Jako srovnávací látka k produkci methanu byl vybrán octan sodný a mikrokrystalická celulóza.

V průběhu inhibičního testu byla sledována produkce plynů, na konci testu bylo stanoveno pH, ORP a množství celkového rozpuštěného uhlíku ve vzorku. U druhého testu (GA, TA + CH₃COONa) byla na konci testu změřen tlak v lahvách a u třetího inhibičního testu (FUR + C₆H₁₀O₅) byl tlak měřen během celého pokusu.

8.1.1 Test inhibice produkce methanu z octanu sodného v přítomnosti furfuralu

V tomto testu, byla zkoumána produkce methanu z octanu sodného v přítomnosti furfuralu (FUR) jako možné inhibiční látky. Test byl započat 7. listopadu 2012 a probíhal sedmapadesát dní.

V průběhu testu byla měřena produkce bioplynu pomocí GC Aglient 7890.

Tab. 5. Vstupní data inokula inhibičního testu – FUR a CH₃COONa.

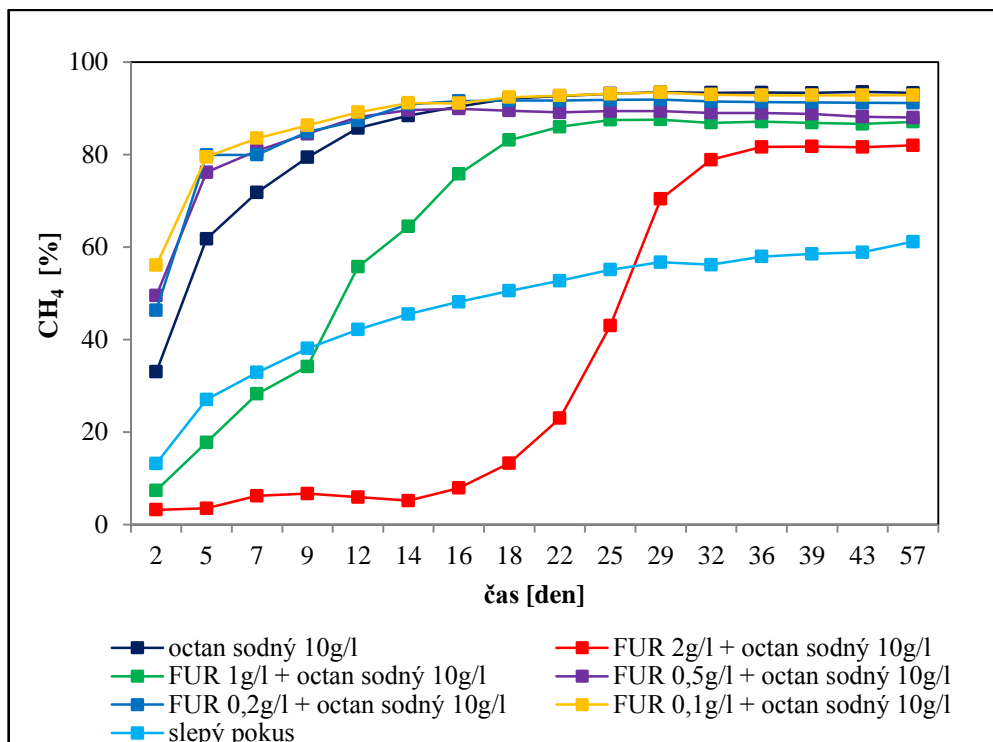
parametr	hodnota	jednotka
pH	7,84	-
ORP	-208,5	mV
sušina	1,14	g/l
ztráta žíháním	700	mg/l

Tab. 6. Obsah testovaných lahví – vstupní data testu FUR a CH₃COONa.

vzorek	m _o [g]	V _{FUR} [ml]	V _g [ml]	m _v [mg]
slepý pokus (inokulum)	-	-	203,6	-
	-	-	203,0	-
	-	-	204,3	-
	-	-	204,0	-
	-	-	207,5	-
CH ₃ COONa 10g/l	1,0045	-	201,0	292,5
	1,0054	-	204,0	
	1,0086	-	207,0	
	1,0019	-	208,6	
	1,0039	-	207,7	
FUR 2g/l + CH ₃ COONa 10g/l	1,0066	10	191,8	417,3
	1,0083		198,9	
	1,0069		194,2	
FUR 1g/l + CH ₃ COONa 10g/l	1,0047	5	199,6	354,9
	1,0061		200,2	
	1,0010		204,7	
FUR 0,5 g/l + CH ₃ COONa 10g/l	1,0087	2,5	204,3	323,7
	1,0074		207,2	
	1,0070		206,6	
FUR 0,2g/l + CH ₃ COONa 10g/l	1,0074	1	201,6	304,6
	1,0068		200,7	
	1,0004		207,5	
FUR 0,1g/l + CH ₃ COONa 10g/l	1,0066	0,5	203,5	298,7
	1,0086		204,2	
	1,0023		207,9	

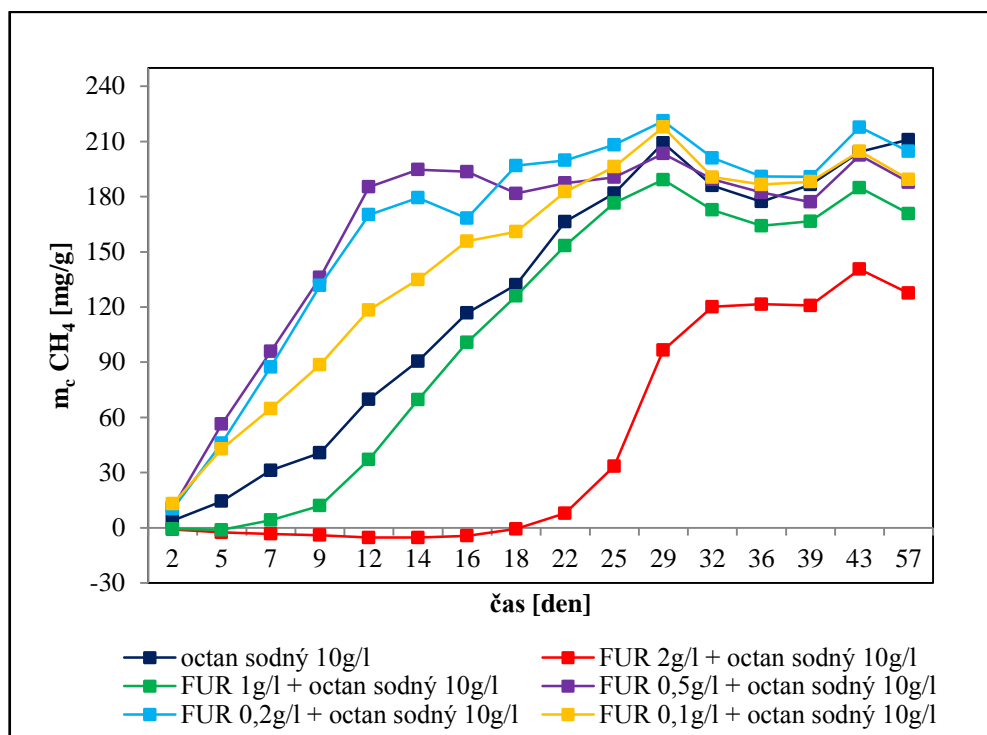
Kde:

m_o skutečná navážka octanu sodného [g]V_{FUR} objem dávkovaného zásobního roztoku furfuralu o koncentraci 20g/l [ml]V_g objem plynné fáze testovací láhve [ml]m_v hmotnost celkového vloženého uhlíku [mg]



Obr. 11. Zastoupení methanu ve vyprodukovaném bioplynu – test furfural a octan sodný.

Na obrázku (Obr. 11) je znázorněn průběh methanu v bioplynu, v jeho procentuálním zastoupení. Z grafu lze vyčíst, že vzorek furfuralu s koncentrací 2 g/l, nedosáhl ani po osmácti dnech 10% produkce methanu. Ta se zvyšuje, ale až v průběhu dalšího týdne. Až v třicátém dnu testu dosahuje produkce methanu 70%. Od třicátého druhého dne je produkce methanu, u vzorku furfuralu 2 g/l, 80%, kde se ustálí. U vzorku furfuralu, s koncentrací 1 g/l, probíhá produkce methanu pomaleji než u ostatních vzorků s nižší koncentrací. V desátém dnu má 30% produkci methanu. Od čtrnáctého dne je dosaženo 60% produkce methanu v bioplynu, která je dle praxe dostačující. Ostatní vzorky, octan sodný 10 g/l s furfurelem v koncentracích 0,1 - 0,5 g/l, mají podobné tendence. U těchto vzorků je dosaženo během pěti dnů 80% produkce methanu v bioplynu. Také vzorek octanu sodného 10 g/l, ukazuje také velice dobrou produkci methanu v bioplynu. Za pět dnů dosáhl 60% methanu a dále stoupl až na 90%. U slepého pokusu se produkce methanu v bioplynu z počáteční hodnoty 10% postupně zvyšovala a patnáctého dne se již pohybovala okolo 50%. Tento test prokazuje, že koncentrace furfuralu vyšší jak 1 g/l, působí inhibičně na tvorbu methanu ve vznikajícím bioplynu.



Obr. 12. Produkce methanu vztážená na množství vloženého uhlíku – test furfural a octan sodný.

Na grafu (Obr. 12) je znázorněna produkce methanu zohledněna na množství vloženého uhlíku na začátku inhibičního testu. U všech vzorků byla odečtena produkce methanu ve slepém pokusu. U vzorku obsahujícího 2 g/l furfuralu bylo méně methanu než u slepého pokusu, což se projevuje tak, že se produkce methanu zohledněna na množství vloženého uhlíku pohybovala osmnáct dní v záporných hodnotách. Po dvaadvaceti dnech produkce methanu narůstá a na konci pokusu dosahuje hodnoty 127,5 mg/g. I když nejlepší produkci methanu v bioplynu má vzorek furfuralu s koncentrací 0,5 g/l a 0,2 g/l, kde ve dvanáctém dni je produkce methanu v hodnotách 180 mg/g. Do této hodnoty se dostává vzorek octanu sodného a furfuralu 1 g/l pětadvacátý den. A koncentrace furfuralu 0,1 g/l dosahuje 180 mg/g dvacátý druhý den. Největší produkce methanu 210 mg/g je devětadvacátý den u vzorku octanu sodného a furfuralu 0,1 – 0,5 g/l. Uvedené hodnoty vyprodukovaného methanu jsou vypočítány z rovnice (1). V rovnici je použit k výpočtu objem plynné fáze v testovaných lahvích. Není zde zohledněna ta skutečnost, že při tak vysokém množství testovaných substrátů dochází k výraznému zvýšení plynného objemu. Toto navýšení se dá ověřit změřením tlaku, resp. přetlaku v testovaných lahvích a provést korekci objemu. Současně po měření tlaku je nutno vyrovnat tlak v lahvi a množství vyprodukovaného bio-

plynu vypočítat kumulativně. Zvýšený tlak v systému působí také proti produkci bioplynu, vysoké koncentrace zbytkového uhlíku v kapalně fázi což dokazuje následující tabulka.

Tab. 7. Hodnoty pH, ORP a obsah uhlíku v lahvích na výstupu (bez odečtení slepého pokusu) - FUR a CH₃COONa.

vzorek	pH	ORP	TC	IC
	[-]	[mV]	[mg/l]	[mg/l]
slepý pokus (inokulum)	8,21	-64,5	2070	826
	8,35	-66,5		
	8,24	-68,2		
	8,26	-79,1		
	8,34	-77,9		
CH ₃ COONa 10 g/l	8,37	-130,3	3403	2553
	8,46	-153,3		
	8,37	-138,0		
	8,31	-130,1		
	8,33	-134,7		
FUR 2g/l + CH ₃ COONa 10g/l	7,35	-138,1	3094	2238
	7,10	-133,1		
	7,27	-130,1		
FUR 1g/l + CH ₃ COONa 10g/l	7,97	-169,3	3631	2655
	7,87	-173,4		
	8,16	-162,5		
FUR 0,5g/l + CH ₃ COONa 10g/l	8,07	-143,6	3501	2537
	8,11	-156,6		
	8,16	-155,5		
FUR 0,2g/l + CH ₃ COONa 10g/l	8,36	-195,7	3499	2602
	8,23	-187,3		
	8,14	-197,3		
FUR 0,1g/l + CH ₃ COONa 10g/l	8,32	-170,5	3556	2700
	8,27	-166,6		
	-	-		

Pozn.: Nedefinované hodnoty jsou z důvodů znehodnocení vzorku během inhibičního testu.

V tabulce (Tab. 7) jsou uvedeny veškeré naměřené hodnoty pH a redox potenciálu u vzorků inhibičního testu, po ukončení pokusu a dále veškerý rozpuštěný uhlík ve vzorku (TC) a anorganický uhlík (IC). Jak jsi lze všimnout, u všech testovaných vzorků jsou naměřeny

vysoké koncentrace celkového rozpuštěného uhlíku, a to i u slepého pokusu. To může být zapříčiněno vysokým přetlakem v testovací láhvi. Lze se domnívat, že přetlak, který vznikl v lahvích, neumožnil procesu lépe probíhat a veškerý uhlík tak zůstal v kapalně fázi a nedostal se do plynné fáze.

Tab. 8. Stupeň biodegradace testovaných vzorků dle produkce bioplynu D_g a celkový rozklad D_t v anaerobním prostředí – FUR a CH_3COONa .

vzorek	m_g [mg]	m_l [mg]	m_t [mg]	D_g [%]	D_t [%]
CH_3COONa 10g/l	58,18	172,7	230,9	19,89	78,92
FUR 2gl + CH_3COONa 10g/l	61,88	141,2	203,0	14,83	48,65
FUR 1gl + CH_3COONa 10g/l	63,95	182,8	246,8	18,02	69,53
FUR 0,5gl + CH_3COONa 10g/l	65,57	171,1	236,7	20,26	73,11
FUR 0,2gl + CH_3COONa 10g/l	64,49	177,6	242,1	21,17	79,49
FUR 0,1gl + CH_3COONa 10g/l	56,94	187,4	244,3	19,06	81,79

Kde:

- D_g stupeň rozkladu podle složení plynné fáze [%]
 D_t celkový stupeň rozkladu [%]
 m_g hmotnost uhlíku v čisté produkci plynu v plynné fázi [mg]
 m_l hmotnost uhlíku v kapalně fázi [mg]
 m_t celková hmotnost vzniklého uhlíku [mg]

V tabulce (Tab. 8) jsou zahrnuty vypočtené hodnoty uhlíku v plynné (m_g) a v kapalně fázi (m_l), z posledního dne měření (76 den), a celková mineralizace. Lze vidět, že celková produkce uhlíku je menší než vložená (viz Tab. 6). Hodnoty m_g (suma uhlíku v bioplynu) nejsou korigovány na skutečný objem bioplynu. Nebyl měřen přetlak v testovacích lahvích, který vzniká, dá se tedy předpokládat, že uvedené hodnoty m_g a tím i celkové hodnoty D_g by byly jiné. Z hodnot mineralizace, podle produkce bioplynu (D_g) lze vyčíst, že ke spotřebování vloženého substrátu došlo, ale většina uhlíku zůstala spíše v kapalně fázi. Protože zde není zahrnutý přetlak, který vzniká a nebyl kompenzován, dá se zde očekávat, že by hodnoty D_g byly větší. Procentuální hodnoty celkové rozkladu substrátu (D_t) ukazují vliv na měření a vyrovnávání tlaku v testovaných lahvích, celková produkce bioplynu mohla být jiná.

8.1.2 Test inhibice produkce methanu z octanu sodného v přítomnosti kyseliny gallové a kyseliny tříslivé

Při tomto inhibičním testu, byla zkoumána produkce methanu z octanu sodného v přítomnosti kyseliny gallové (GA) a kyseliny tříslivé (TA), jako možných inhibičních látek. Test byl zahájen 16. ledna 2013 a ukončen po šestasedmdesáti dnech anaerobní fermentace.

Byla měřena produkce bioplynu (množství methanu a oxidu uhličitého) pomocí GC Agilent 7890. Na konci testu byl u každé testované láhve změřen tlak pomocí manometru, ke kterému pak bylo přihlíženo ve výpočtech.

Tab. 9. Vstupní data inokula – test GA, TA a CH_3COONa .

parametr	hodnota	jednotka
pH	7,94	-
ORP	-212,7	mV
sušina	0,98	g/l
ztráta žíháním	60,4	%

Tab. 10. Obsah testovaných lahví – vstupní data testu GA, TA a CH₃COONa.

vzorek	m ₀ [g]	V _{GA,TA} [ml]	V _g [ml]	m _v [mg]
slepý pokus	-	-	203,6	-
	-	-	203,0	-
	-	-	204,3	-
	-	-	204,0	-
	-	-	207,5	-
CH ₃ COONa (10g/l)	1,0023	-	201,0	292,5
	1,0072	-	204,1	
	1,0178	-	207,0	
GA 2g/l + CH ₃ COONa 10g/l	1,0012	10	202,6	391,3
	1,0096		201,7	
	1,0037		208,5	
GA 1g/l + CH ₃ COONa 10g/l	1,0034	5	204,2	341,9
	1,0052		209,7	
	1,0090		207,7	
GA 0,5g/l + CH ₃ COONa 10g/l	1,0058	2,5	209,7	317,2
	1,0038		201,8	
	1,0038		208,9	
GA 0,2g/l + CH ₃ COONa 10g/l	1,0078	1	204,6	302,4
	1,0071		205,2	
	1,0034		208,6	
GA 0,1g/l + CH ₃ COONa 10g/l	1,0080	0,5	206,8	297,4
	1,0085		204,7	
	1,0120		208,4	
TA 2g/l + CH ₃ COONa 10g/l	1,0005	10	209,1	399,7
	1,0112		204,0	
	1,0075		208,3	
TA 1g/l + CH ₃ COONa 10g/l	1,0043	5	205,2	346,1
	1,0072		205,0	
	1,0093		211,2	
TA 0,5g/l + CH ₃ COONa 10g/l	1,0076	2,5	201,7	319,3
	1,0088		208,5	
	1,0085		202,5	
TA 0,2g/l + CH ₃ COONa 10g/l	1,0003	1	200,7	303,2
	1,0015		207,4	
	1,0067		205,3	
TA 0,1g/l + CH ₃ COONa 10g/l	1,0058	0,5	200,5	297,9
	1,0043		202,3	
	1,0096		203,3	

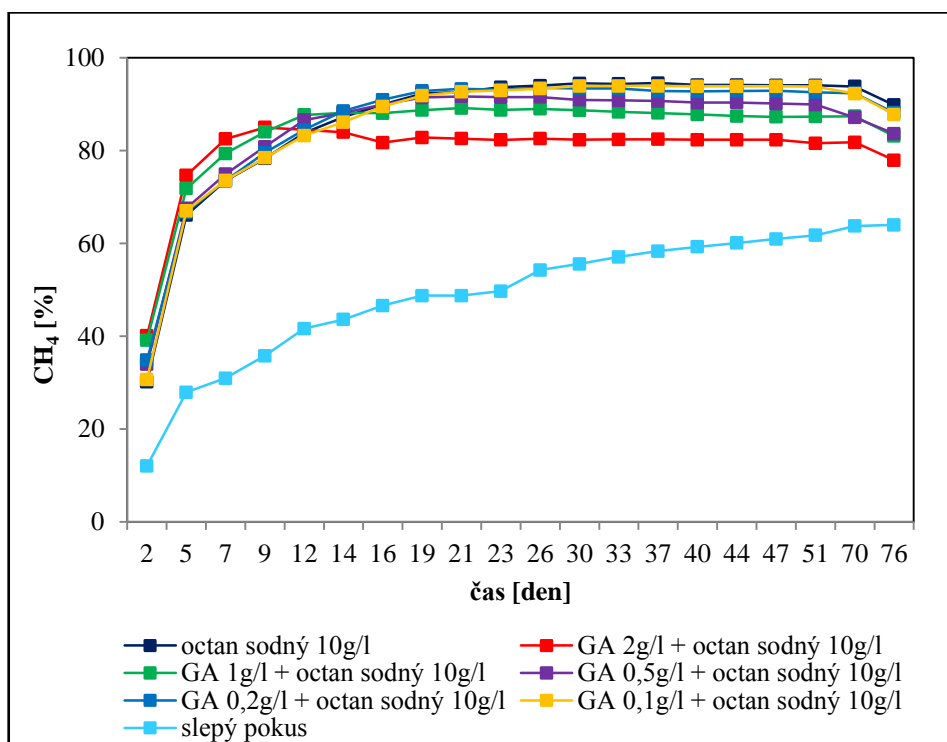
Kde:

m_o skutečná navážka octanu sodného [g]

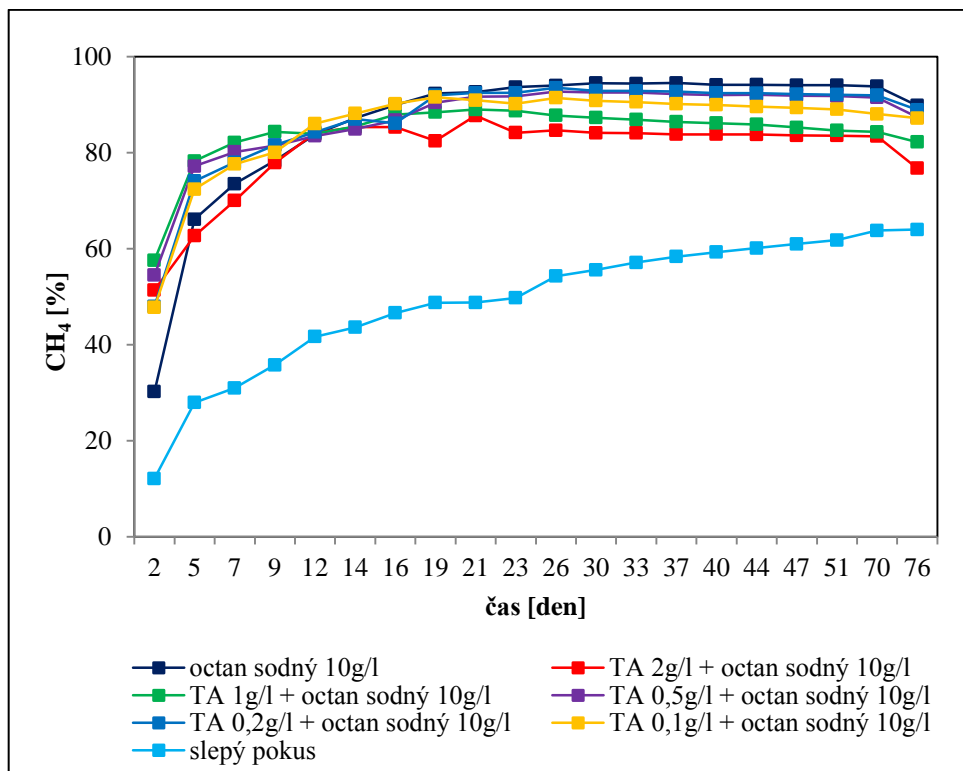
$V_{GA,TA}$ objem dávkovaného zásobního roztoku kyseliny gallové nebo tříslové o koncentraci 20g/l [ml]

V_g objem plynné fáze testovací láhve [ml]

m_v hmotnost celkového vloženého uhlíku [mg]

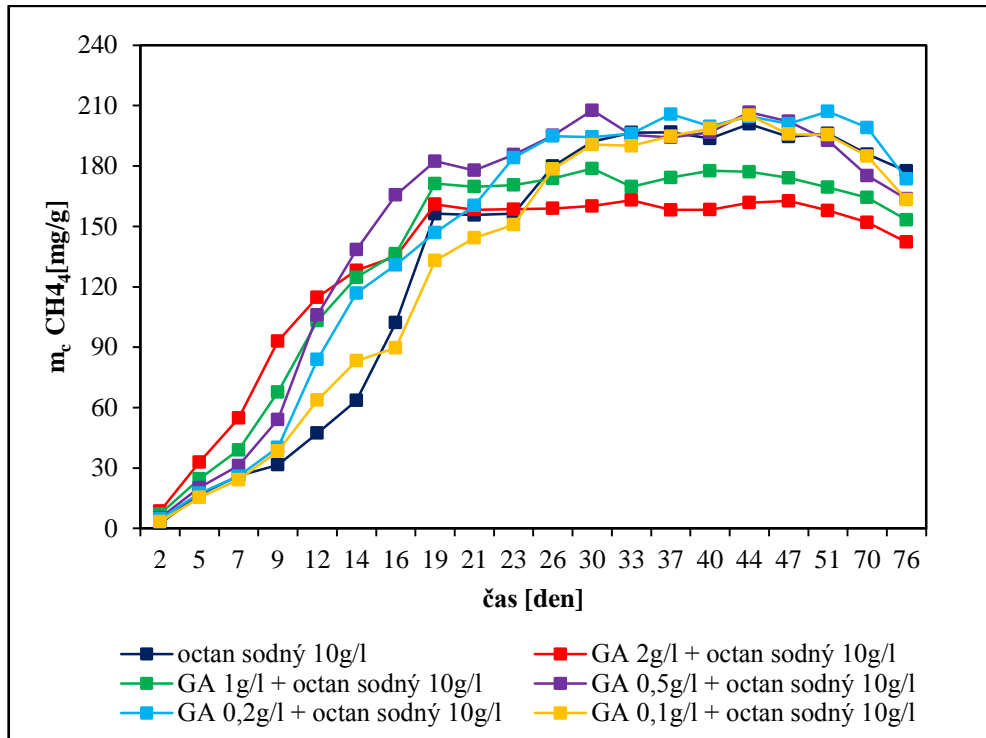


Obr. 13. Zastoupení methanu ve vyprodukovaném bioplynu - test kyselina gallová a octan sodný.

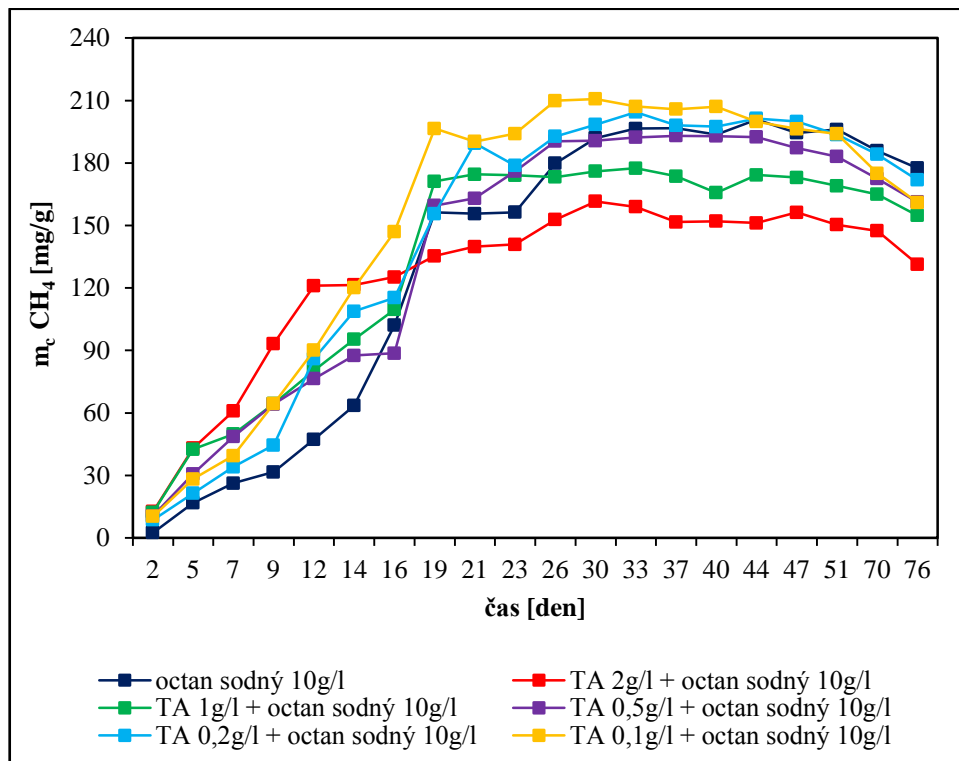


Obr. 14. Zastoupení methanu ve vyprodukovaném bioplynu – test kyselina třísllová a octan sodný.

Na obrázcích (Obr. 13 a Obr. 14) je znázorněno procentuální zastoupení methanu ve vyprodukovaném bioplynu s kyselinou gallovou a třísllovou. Tyto dvě látky, vykazují podobné tendence. Obsah methanu v bioplynu je při použití těchto látek vysoký, pohybuje se v oblasti okolo 90% od patnáctého dne anaerobní fermentace. Na konci testu (sedmdesátý den pokusu) byl přes odběrové septum odebrán vzorek k analýze plynné fáze a poté změněn tlak v uzavřených testovacích lahvích. Ve většině pokusných lahví se tlak pohyboval kolem 1 baru a více. Hodnota tlaku byla použita k výpočtu množství uhlíku v bioplynu m_h (5) a k přepočtu plynné fáze ve výpočtu obsahu uhlíku ve formě methanu (1) a oxidu uhličitého (2) v bioplynu. Otevřením uzávěru a po odpuštění bioplynu byl vyrovnán tlak v lahvích s okolní atmosférou. Opětovně bylo změřeno množství methanu a oxidu uhličitého pomocí odběru 100 μ l plynné fáze s následným nástřikem do GC ke kontrole, zda během odpuštění vyprodukovaného bioplynu nedochází ke změně koncentrace methanu a oxidu uhličitého. Bylo prokázáno, že koncentrace se výrazně nemění, odpouštěním dojde pouze ke změně objemu plynné fáze. Produkce methanu z octanu sodného, v přítomnosti kyseliny gallové a třísllové, je vysoká. Tyto výsledky jsou velice uspokojivé.



Obr. 15. Produkce methanu vztahena na množství vloženého uhlíku – test kyselina gallová a octan sodný.



Obr. 16. Produkce methanu vztahena na množství vloženého uhlíku – test kyselina třísllová a octan sodný.

Tab. 11. Hodnoty pH, ORP a obsah uhlíku v lahvích na výstupu (bez odečtení slepého pokusu) – GA, TA a CH₃COONa.

vzorek	pH	ORP	TC	IC
	[-]	[mV]	[mg/l]	[mg/l]
slepý pokus (inokulum)	-	-	2643	794
	8,10	-19,6		
	8,20	-32,6		
	-	-		
	8,20	-27,5		
CH ₃ COONa (10g/l)	8,43	-67,3	4210	2504
	8,27	-62,3		
	8,44	-68,3		
GA 2g/l + CH ₃ COONa 10g/l	8,00	-54,9	3951	2416
	8,01	-36,4		
	8,00	-50,7		
GA 1g/l + CH ₃ COONa 10g/l	8,15	-56,1	4285	2714
	8,18	-69,2		
	8,18	-62,5		
GA 0,5g/l + CH ₃ COONa 10g/l	8,24	-33,5	4520	2467
	8,22	-54,9		
	8,30	-58,5		
GA 0,2g/l + CH ₃ COONa 10g/l	8,39	-59,6	4146	2358
	8,35	-60,9		
	8,35	-76,6		
GA 0,1g/l + CH ₃ COONa 10g/l	8,38	-43,0	4004	2635
	-	-		
	8,45	-60,3		
TA 2g/l + CH ₃ COONa 10g/l	-	-	4463	2836
	8,03	-73,4		
	8,01	-85,5		
TA 1g/l + CH ₃ COONa 10g/l	8,21	-78,2	4124	2453
	8,24	-81,4		
	8,25	-81,6		
TA 0,5g/l + CH ₃ COONa 10g/l	8,34	-73,4	4187	2673
	8,37	-72,3		
	8,36	-80,1		
TA 0,2g/l + CH ₃ COONa 10g/l	8,37	-80,6	4133	2564
	8,34	-86,2		
	8,35	-72,2		
TA 0,1g/l + CH ₃ COONa 10g/l	8,40	-50,0	4262	2382
	-	-		
	-	-		

Pozn.: Nedefinované hodnoty jsou z důvodů znehodnocení biologického materiálu během testu.

Produkce methanu vztažená na množství vloženého uhlíku je významná, jak lze vidět na grafech (Obr. 15 a 16). Jak už bylo zmíněno, v přítomnosti kyseliny gallové a tříslové, nedochází při anaerobní fermentaci z octanu sodného k inhibici, ale naopak ke zvýšené produkci methanu v bioplynu.

V tabulce (Tab. 11) jsou uvedeny veškeré naměřené hodnoty pH a redox potenciálu u vzorků kyseliny gallové a tříslové, po ukončení pokusu a dále veškerý rozpuštěný uhlík ve vzorku (TC) a anorganický uhlík (IC). U všech vzorků testu jsou naměřeny vysoké koncentrace celkového rozpuštěného uhlíku, a dá se říci, že i u slepého pokusu. To může být zapříčiněno tím, že celý systém byl během pokusu uzavřený a nedocházelo k odpouštění vyprodukovaného bioplynu, který způsoboval přetlak v testovacích lahvích. Lze se domnívat, že přetlak, který vznikal v lahvích, neumožnil procesu lépe probíhat a veškerý uhlík tak zůstal v kapalně fázi a nedostal se do plynné fáze, i když zde byl tlak na konci testu kompenzován. Jak už bylo zmíněno, i samotný digestát, který obsahoval kukuřičnou siláž, mohl zapříčinit tyto značné koncentrace.

Tab. 12. Stupeň biodegradace testovaných substrátů dle produkce bioplynu D_h a celkový rozklad substrátu D_t v anaerobním prostředí – GA, TA a CH_3COONa .

vzorek	Δp [mb]	m_h [mg]	m_l [mg]	m_t [mg]	D_h [%]	D_t [%]
CH_3COONa (10g/l)	1250	115,6	171,0	286,6	39,5	98,0
GA 2g/l + CH_3COONa 10g/l	860	79,5	162,2	241,7	20,3	61,8
GA 1g/l + CH_3COONa 10g/l	1267	117,2	192,0	309,2	34,3	90,4
GA 0,5g/l + CH_3COONa 10g/l	1425	131,8	167,3	299,0	41,5	94,3
GA 0,2g/l + CH_3COONa 10g/l	1193	110,3	156,4	266,7	36,5	88,2
GA 0,1g/l + CH_3COONa 10g/l	1250	115,6	184,1	299,7	38,9	100,8
TA 2g/l + CH_3COONa 10g/l	1450	134,1	204,2	338,3	33,5	84,6
TA 1g/l + CH_3COONa 10g/l	1280	118,4	165,9	284,3	34,2	82,1
TA 0,5g/l + CH_3COONa 10g/l	1050	97,1	187,9	285,0	30,4	89,3
TA 0,2g/l + CH_3COONa 10g/l	600	55,5	177,0	232,5	18,3	76,7
TA 0,1g/l + CH_3COONa 10g/l	850	78,6	158,8	237,4	26,4	79,7

Kde:

- Δp průměr konečného tlak plynu vzorku odečtený od slepého pokusu [mb]
 D_h stupeň rozkladu substrátu z plynné fáze [%]
 D_t stupeň celkového odstranění substrátu z produkce bioplynu [%]
 m_h hmotnost uhlíku v čisté produkci plynu v plynné fázi [mg]

m_l	hmotnost uhlíku v kapalně fázi [mg]
m_t	celková hmotnost vzniklého uhlíku [mg]

Z tabulky (Tab. 12) je patrné, že s přihlédnutím na změřený tlak, který byl následně započítán do výsledků, je procento mineralizace větší, než kdyby tlak měřen nebyl. A to koreponduje s hodnotami celkového odstranění substrátu. Z tabulky lze vyčíst, že z množství vloženého uhlíku je 40% v plynné fázi a zbytek v kapalně. Dle poměru methanu ve vyprodukovaném bioplynu lze soudit, že testované látky, tj. kyselina gallová a tříslová nezpůsobují inhibici produkce methanu z octanu sodného s využitím digestátu s obsahem kukuřičné siláže z bioplynové stanice.

8.1.3 Test inhibice produkce methanu z mikrokrystalické celulózy v přítomnosti furfuralu

V posledním inhibičním testu, byla zkoumána produkce methanu z mikrokrystalické celulózy v přítomnosti furfuralu (FUR) jako možné inhibiční látky. Test byl zahájen 10. ledna 2013, by měřen pětatřicet dní a dále probíhá. Vyhodnocen bude jen jeho průběh.

Jako u předchozích testech, i zde byla měřena produkce bioplynu pomocí GC Aglient 7890. Při tomto testu byl tlak v testovacích lahvích měřen průběžně a je k tomu přihlíženo i při vyhodnocování a výpočtech, množství vyprodukovaného bioplynu.

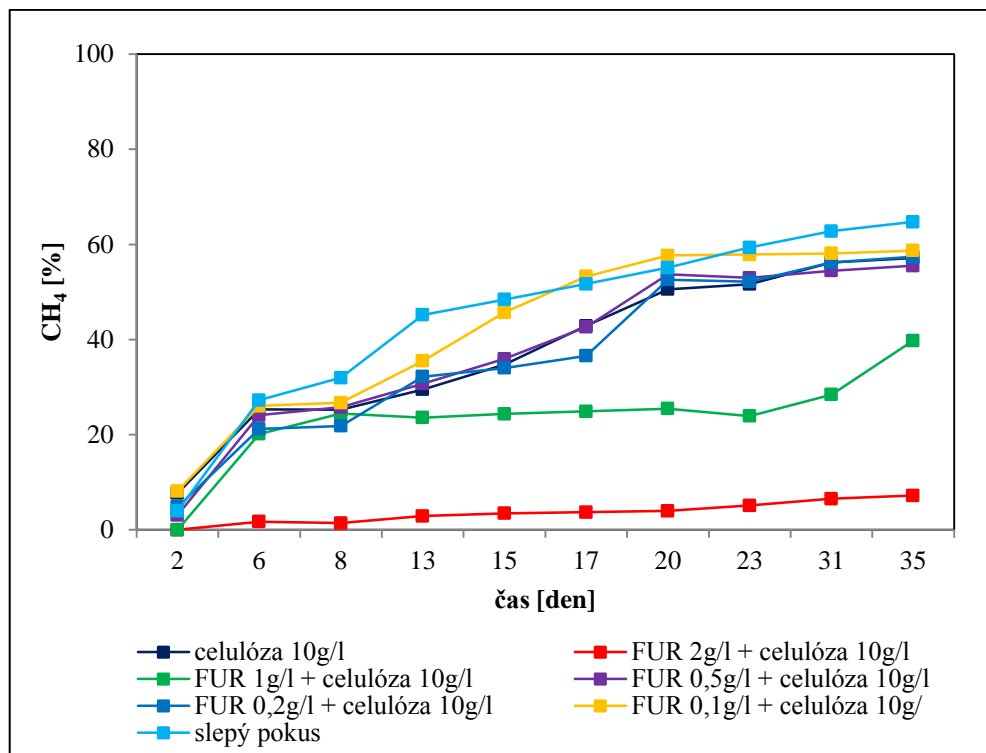
Jako srovnávací látka byla vybrána mikrokrystalické celulóza, na porovnání s prvním testem, kdy byl srovnávací látkou použit octan sodný. Je zde zkoumáno, při které fázi anaerobní fermentace dochází k inhibici.

Tab. 13. Vstupní data inokula u inhibičního testu FUR a $C_6H_{10}O_5$.

parametr	hodnota	jednotka
pH	8,34	-
ORP	-126,0	mV
sušina	1,3	g/l
ztráta žiháním	60,4	%

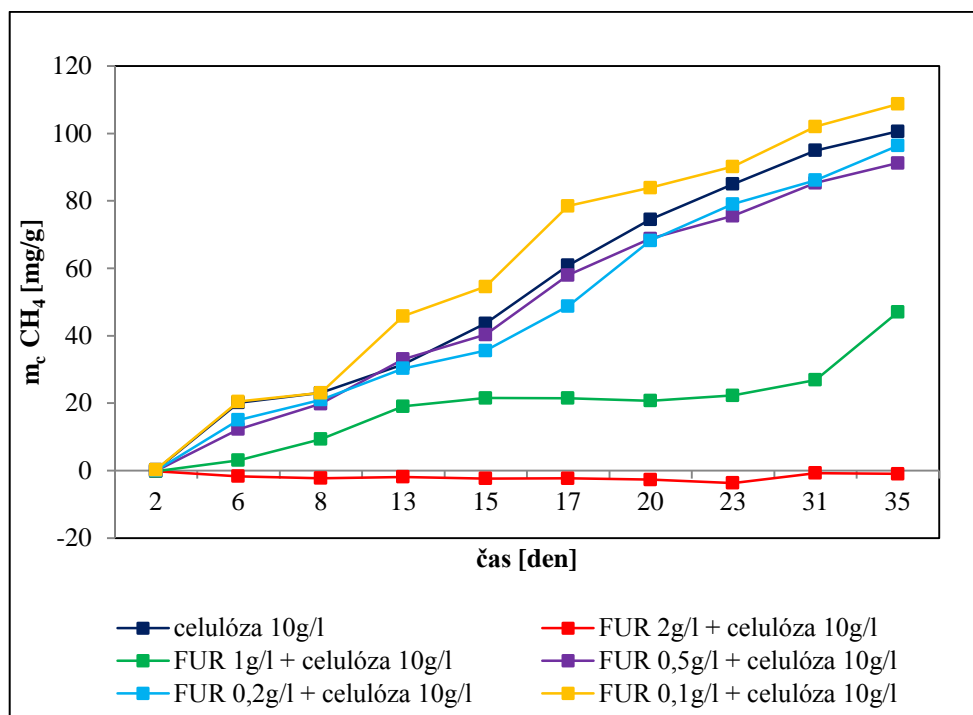
Tab. 14. Obsah testovaných lahví – vstupní data testu FUR a $C_6H_{10}O_5$.

vzorek	m_{cel} [g]	V_{FUR} [ml]	V_g [ml]	m_v [mg]
slepý pokus (inokulum)	-	-	204,0	-
	-	-	203,0	-
	-	-	204,3	-
	-	-	204,6	-
	-	-	207,5	-
$C_6H_{10}O_5$ (10g/l)	1,0086	-	201,0	444,4
	1,0055	-	207,0	
	1,0094	-	204,0	
	1,0007	-	208,6	
	1,0040	-	204,2	
FUR 2g/l + $C_6H_{10}O_5$ 10g/l	1,0035	10	208,5	569,3
	1,0073		208,3	
	1,0072		202,6	
FUR 1g/l + $C_6H_{10}O_5$ 10g/l	1,0007	5	211,2	507,8
	1,0029		205,0	
	1,0085		205,2	
FUR 0,5g/l + $C_6H_{10}O_5$ 10g/l	1,0063	2,5	202,5	475,6
	1,0051		208,5	
	1,0021		201,7	
FUR 0,2g/l + $C_6H_{10}O_5$ 10g/l	1,0070	1	205,3	456,9
	1,0078		207,4	
	1,0062		200,7	
FUR 0,1g/l + $C_6H_{10}O_5$ 10g/l	1,0071	0,5	208,4	450,6
	1,0011		204,7	
	1,0012		200,5	



Obr. 17. Zastoupení methanu ve vyprodukovaném bioplynu - test furfural a mikrokrystalická celulóza.

Na obrázku (Obr. 17) je znázorněn graf s procentuálním zastoupením methanu v bioplynu u inhibičního testu furfural s mikrokrystalickou celulózou v inokulu. Zde lze vidět, že produkce methanu je zde mnohem nižší a pomalejší, ve srovnání s prvním testem, furfural a octan sodný (viz Obr. 11). Byl zde ale měřen a vyrovnáván tlak po celou dobu testu. Všechny vzorky, kromě furfuralu s koncentrací 2 g/l, se po dobu šestého až osmého dne, pohybovaly v produkci methanu v rozmezí 20 – 30%. U vzorku furfuralu s koncentrací 2 g/l se pohybuje produkce methanu, i po pětadvaceti dnech, okolo 5%. Vzorek s koncentrací furfuralu 1 g/l se po třidvacet dní pohyboval, v produkci methanu v bioplynu, v rozmezí 20%, až pětadvacátý den vzrostla produkce methanu v bioplynu na 40%. Vzorky s koncentrací furfuralu 0,1 – 0,5 g/l se pohybují v produkci methanu v bioplynu podobně, pětadvacátý den testu, dosahují 60% produkce. Procentuální zastoupení methanu v bioplynu z inokula (slepý vzorek) se pohybuje nad mírně hodnotami procentuálního zastoupení methanu v bioplynu všech vzorků. Test ještě probíhá a na grafu (Obr. 17) je vidět stále mírně stoupající trend v poměru methanu v bioplynu. Z tohoto testu se dá předpokládat, že produkce methanu dále poroste, tento test má pomalejší tendence, pravděpodobně díky zvolené srovnávací látce, mikrokrystalické celulóze.



Obr. 18. Produkce methanu vztážená na množství vloženého uhlíku – test furfural a mikrokrystalická celulóza

Na grafu (Obr. 18) je znázorněna produkce methanu vztážená na množství vloženého uhlíku na začátku inhibičního testu. Lze předpokládat, že díky kompenzování tlaku, roste produkce methanu v plynné fázi. I u těchto vzorků byl odečten slepý pokus, z tohoto hlediska se vzorek furfuralu, s koncentrací 2 g/l, pohybuje u záporných hodnot. Vzorky furfuralu, s koncentrací 0,1 – 0,5 g/l, a vzorek mikrokrystalické celulózy, spolu korespondují. Produkce methanu se pětatřicátý den pohybuje v rozmezí 90 – 110 mg/g. A dá se předpokládat, že se bude zvyšovat. A vzorek furfuralu, s koncentrací 1 g/l, má pětatřicátý den produkci methanu 40 mg/g.

Tab. 15. Stupeň biodegradace testovaných vzorků D_h v anaerobním prostředí - FUR a $C_6H_{10}O_5$.

vzorek	Δp [mb]	m_h [mg]	D_h [%]
$C_6H_{10}O_5$ (10g/l)	1900	175,7	39,54
FUR 2g/l + $C_6H_{10}O_5$ 10g/l	950	87,9	15,43
FUR 1g/l + $C_6H_{10}O_5$ 10g/l	1300	120,2	23,67
FUR 0,5g/l + $C_6H_{10}O_5$ 10g/l	2500	231,2	48,61
FUR 0,2g/l + $C_6H_{10}O_5$ 10g/l	2300	212,7	46,55
FUR 0,1g/l + $C_6H_{10}O_5$ 10g/l	2900	268,2	59,52

Kde:

- Δp průměr rozdílů počátečního a konečného tlaku plynu [mb]
 D_h stupeň rozkladu substrátu z produkce plynné fáze [%]
 m_h hmotnost uhlíku v čisté produkci plynu v plynné fázi [mg]

V tabulce (Tab. 15) je zaznamenán průměrný tlak během měření testu, odečtený od prvního dne měření tlaku. Díky vyrovnávání tlaku v testovaných lahvích je hmotnost uhlíku v plynné fázi (m_h) mnohem větší, než u předchozích testů (viz Tab. 8 a Tab. 12). Procentuální odstranění substrátu z plynné fáze bylo u vzorku furfuralu 0,1 g/l pětatřicátý den až 59,52%, z čehož jde soudit, že po ukončení testu bude tato hodnota mnohem větší. Nejnižší procento odstranění substrátu z bioplynu má vzorek furfuralu s koncentrací 2 g/l a to 15,43%. Tato koncentrace zde působí inhibičně, což je patrné i na grafu s produkcí methanu v bioplynu (Obr. 17). Jelikož nebyl test pětatřicátým dnem ukončen, není zde uvedeno množství uhlíku v kapalně fázi (m_l) a celkové procentuální odstranění substrátu z produkce bioplynu (D_t).

ZÁVĚR

Cílem práce bylo provést testy vlivu inhibičních vlastností látek, které vznikají během předúpravy kukuřičné siláže, na produkci methanu s digestátem z bioplynové stanice. Produkce bioplynu a jeho složení bylo sledováno pomocí plynové chromatografie.

Inhibiční látky byly vybrány na základě zmíněných publikací v teoretické části. Jednalo se o furfural a fenolové sloučeniny, kyselinu gallovou a tříslovou. Jako zdroj uhlíku při inhibičních testech sloužila srovnávací látka, octan sodný a mikrokrystalická celulóza. Použitý digestát z bioplynové stanice byl zbytkem po fermentačním procesu z kukuřičné siláže.

Praktická část byla rozdělena tří experimentů, v první části byla měřena produkce methanu v bioplynu z octanu sodného v přítomnosti furfuralu. V druhé byla měřena produkce methanu v bioplynu z octanu sodného v přítomnosti kyseliny gallové a kyseliny tříslové. A poslední část se zabývala produkcí methanu v bioplynu z mikrokrystalické celulózy v přítomnosti furfuralu.

U prvního testu se u koncentrace furfuralu 2g/l projevila inhibice, u koncentrací pod 1g/l k inhibici nedošlo, což se projevilo na vyšší produkci methanu v bioplynu. Byly překvapivě vysoké koncentrace anorganického uhlíku, z čeho vyplývá, že veškerý uhlík zůstal v kapalně fázi, nedostal se do plynné. Což také souvisí i se stupněm rozkladu substrátu z produkce bioplynu D_g , jenž se pohyboval v rozmezí 20%, u všech vzorků.

V druhém testu inhibice, kyselina gallová a tříslová, nepůsobili tyto látky v koncentracích 0,1 – 2 g/l inhibičně. Vyplývá to z vysoké produkce methanu z bioplynu, která dosahovala až 90%. Na rozdíl od prvního testu, zde byl vyrovnáván tlak, i přesto byly naměřeny vysoké koncentrace anorganického uhlíku v kapalně fázi. Rozklad substrátu z přeměny na bioplyn D_h byl u všech látek přes 30% a celkový rozklad substrátu z produkce bioplynu byl D_t 80 - 100%. Dle poměru methanu ve vyprodukovaném bioplynu lze soudit, že tyto látky nezpůsobují inhibici z octanu sodného s využitím digestátu z kukuřičné siláže.

Třetí test nebyl prozatím ukončen, ale probíhá pomaleji než předchozí inhibiční testy. Dosud získané hodnoty naznačují inhibiční efekt z mikrokrystalické celulózy, v přítomnosti všech koncentrací furfuralu, nejvíce však u koncentrace 2 g/l a 1 g/l. Na rozdíl od prvního testu je zde inhibice větší než s použitím srovnávací látky octanu sodného.

Z naměřených hodnot této diplomové práce vyplývá, že všechny použité vedlejší látky z předúpravy lignocelulózových materiálů, kromě furfuralu o koncentracích 1 – 2 g/l, ne-

mají v přítomnosti octanu sodného a digestátu z kukuřičné siláže inhibiční efekt. Naopak tomu bylo u mikrokrystalické celulózy, kde byl inhibiční efekt prokázán u všech koncentrací furfuralu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] STRAKA, František. *Bioplyn*. Říčany: GAS s.r.o., 2003. ISBN 80-7328-029-9.
- [2] HENDRIKS, A. T. W. M. a G. ZEEMAN. *Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass*. *Bioresource Technology*. 2009, č. 100, s. 10-18.
- [3] BARAKAT, A., MONLAU, F., STEYER, J.-P., CARRERE, H. *Effect of lignin-derived and furan compounds found in lignocellulosic hydrolysates on biomethane production*. *Bioresource Technology*. 2012, č. 104, s. 90-99.
- [4] Česká bioplynová asociace. *Co je bioplyn?* [online]. 2012 [cit. 2012-11-17]. Dostupné z: <http://www.czba.cz/bioplyn/>
- [5] KUBÁSEK, Miroslav. *Co je to bioplynová stanice?*. *EnviWeb* [online]. 2012 [cit. 2012-12-03]. Dostupné z: http://www.enviweb.cz/page/co_je_to_bioplynka
- [6] PROCHÁZKA, Jindřich a Michal DOHÁNYOS. *Porovnání metod pro odhad produkce bioplynu z rostlinných substrátů*. *Paliva*. 2011, č. 3, s. 47-52.
- [7] PAULOVÁ, L., PATÁKOVÁ, P. a JAISAMUT, K. *Bioethanol z celulozy - vliv přítomnosti inhibičních látek na produkční mikroorganismy*. *Listy cukrovarnické a řepařské 128*. 2012, č. 7-8, s. 229 - 232.
- [8] ZÁBRANSKÁ, Jana: *Intenzifikace výroby bioplynu z rostlinných materiálů*. *Biom.cz* [online]. 2010-10-18 [cit. 2013-01-26]. Dostupné z: <http://biom.cz/cz/odborne-clanky/intenzifikace-vyroby-bioplynu-z-rostlinnych-materialu>. ISSN: 1801-2655.
- [9] DOHÁNYOS, Michal: *Zvyšování efektivity fermentace - nejnovější poznatky ve výzkumu a praxi*. *Biom.cz* [online]. 2009-02-25 [cit. 2013-01-26]. Dostupné z: <http://biom.cz/cz/odborne-clanky/zvysovani-efektivita-fermentace-nejnovejsi-poznatky-ve-vyzkumu-a-praxi>. ISSN: 1801-2655.
- [10] KRÁTKÝ, Lukáš. *Termicko-expanzní hydrolyza pšeničné slámy*. Praha, 2012. Dostupné z: <http://chps.fsid.cvut.cz/pt/2012/pdf/2508.pdf>. ČVUT Praha. Školitel Doc. Ing. Tomáš Jirout, Ph.D.
- [11] *Bioplyn*. [online]. 2011 [cit. 2012-12-05]. Dostupné z: http://www1.vsb.cz/ke/vyuka/FRVS/CD_Biomasa_nove/Pdf/Bioplyn.pdf

- [12] DOHÁNYOS, Michal a kolektiv. *Anaerobní čistírenské technologie*. Vydání první. Brno: NOEL 2000, 1998. ISBN 80-86020-19-3.
- [13] MUŽÍK, Oldřich a Jaroslav KÁRA. *Rozvoj bioplynových technologií v podmínkách ČR*. In: Anaerobní digesce [online]. 2009 [cit. 2013-02-12]. Dostupné z: <http://svt.pi.gin.cz/vuzt/publ/P2009/132.PDF>
- [14] MUŽÍK, O., KÁRA, J. a HANZLÍKOVÁ, I. *Potenciál cukrovarských řízků pro výrobu bioplynu*. Listy cukrovarnické a řepařské 128. 2012, č. 7-8, s. 246-250.
- [15] KRÁTKÝ, Lukáš. *Zařízení pro předúpravu surovin při výrobě biopaliv*. Praha, 2010. Dostupné z: <http://chps.fsid.cvut.cz/pt2010/pdf/KratkyLukas.pdf>. Práce. ČVUT. Školitel Tomáš Jirout.
- [16] PAULOVÁ, L., KAČABA, J., PATÁKOVÁ, P., RYCHTERA, M., a MELZUCH, K. *Degradační produkty vznikající při fyzikálně-chemické předúpravě lignocelulové biomasy a jejich vliv na efektivitu procesu výroby bioethanolu*. Chemické listy. 2012, č. 106, s. 626-631.
- [17] ČSN EN ISO 11734. *Jakost vod - Hodnocení úplné anaerobní biologické rozložitelnosti organických látek kalem z anaerobní stabilizace: Metoda stanovení produkce bioplynu*. Praha: Český normalizační institut, 1999.
- [18] XIMENES, E., KIM, Y., MOSIER, N., DIEN, B., LADISCH, M.. *Inhibition of cellulases by phenols*. Enzyme and Microbial Technology. 2010, č. 46, s. 170-176.
- [19] Sigma-Aldrich [online]. 2013 [cit. 2013-04-15]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/czech-republic.html>
- [20] MÁCA, J., ZÁBRANSKÁ, J. a JENÍČEK, P. *Anaerobní rozklad řepných řízků*. Listy cukrovarnické a řepařské 128. 2012, č. 2, s. 66-69.
- [21] SCHULZ, Heinz a Barbara EDER. *Bioplyn v praxi: Teorie - projektování - stavba zařízení - příklady*. Ostrava: HEL, 2004. ISBN 80-86167-21-6.
- [22] SUN, Y., CHENG, J. *Hydrolysis of lignocelulosic materials for ethanol production*. Bioresource technology 83, 2002, str. 1-11.
- [23] KUPEC, Jan. *Zpracování odpadních vod a čistírenských kalů*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2002. ISBN 80-7318-058-8.

- [24] KOUROUTZIDOU, E., GEORGAKI, I., MANTZAVINOS, D. *Anaerobic biodegradability of gallic acid found in olive mill wastewaters*. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. 2006, č. 81, s. 1595-1599.
- [25] MOUSA, L. a FORSTER. *The use of glucose as a growth factor to counteract inhibition in anaerobic digestion*. Trans IChemE. 1999, č. 77, s. 193-198.
- [26] ZHENG, Y.H. a kolektiv. *Anaerobic fermentation technology increases biomass energy use efficiency in crop residue utilization and biogas production*. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 2012, č. 16, s. 4588-4596.
- [27] HERRMANN, A. a J. RATH. *Biogas Production from Maize: Current State, Challenges, and Prospects. 1. Methane Yield Potential*. BioEnergy. 2012, č. 7.
- [28] CHANDRA, R., TAKEUCHI, H., HASEGAWA, T. a KUMAR, R. *Improving biodegradability and biogas production of wheat straw substrates using sodium hydroxide and hydrothermal pretreatments*. Energy. 2012, č. 43, s. 273-282.
- [29] HERNANDEZ, J.E. a R.G.J. EDYVEAN. *Inhibition of biogas production and biodegradability by substituted phenolic compounds in anaerobic sludge*. Journal of Hazardous Materials. 2008, č. 160, s. 20-28.
- [30] PVL: Switched on to industry. *GDH 200-13 digital manometer*. [online]. 2013 [cit. 2013-04-17]. Dostupné z: <http://www.pvl.co.uk/absolute-pressure/gdh-200-13-digital-manometer-for-over-under-pressure-differences.html>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

CH ₄	Methan
CO ₂	Oxid uhličitý
FUR	Furfural
GA	Kyselina gallová
GC	Plynová chromatografie
H ₂	Vodík
H ₂ S	Sulfan
IC	Anorganický uhlík [mg/l]
ORP	Oxidoredukční potenciál
TA	Kyselina tříslivá
TC	Celkový uhlík [mg/l]
TEH	Termicko-expanzní hydrolýza
TC	Teplotně vodivostní detektor
TOC	Celkový organický uhlík [mg/l]

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Schéma vzniku bioplynu z biologicky rozložitelných odpadů [1].....</i>	<i>14</i>
<i>Obr. 2. Schématické znázornění struktury rostlinné buněčné stěny [1].</i>	<i>20</i>
<i>Obr. 3. Celulóza [16].....</i>	<i>20</i>
<i>Obr. 4. Účinek termicko-expanzní hydrolýzy [10].</i>	<i>25</i>
<i>Obr. 5. Přehled a původ hlavních inhibičních látek (v rámečku).....</i>	<i>26</i>
<i>Obr. 6. Furfural (FUR) [19].....</i>	<i>27</i>
<i>Obr. 7. Kyselina gallová (GA) [19].....</i>	<i>28</i>
<i>Obr. 8. Kyselina tříslová (TA) [19].</i>	<i>28</i>
<i>Obr. 9. Testovací láhev (vlevo) a vodní lázeň (vpravo).</i>	<i>34</i>
<i>Obr. 10. Digitální manometr GDH 200-13 [30].</i>	<i>37</i>
<i>Obr. 11. Zastoupení methanu ve vyprodukovaném bioplynu – test furfural.....</i>	<i>44</i>
<i>Obr. 12. Produkce methanu vztahená na množství vloženého uhlíku – test.....</i>	<i>45</i>
<i>Obr. 13. Zastoupení methanu ve vyprodukovaném bioplynu - test kyselina.....</i>	<i>50</i>
<i>Obr. 14. Zastoupení methanu ve vyprodukovaném bioplynu – test</i>	<i>51</i>
<i>Obr. 15. Produkce methanu vztahená na množství vloženého uhlíku – test.....</i>	<i>52</i>
<i>Obr. 16. Produkce methanu vztahená na množství vloženého uhlíku – test.....</i>	<i>52</i>
<i>Obr. 17. Zastoupení methanu ve vyprodukovaném bioplynu - test.....</i>	<i>58</i>
<i>Obr. 18. Produkce methanu vztahená na množství vloženého</i>	<i>59</i>

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1. Obsah methanu v bioplynu z různých technologických procesů [12].</i>	16
<i>Tab. 2. Složení lignocelulózových plodin [22].</i>	19
<i>Tab. 3. Parametry měření na GC Aglient 7890A</i>	36
<i>Tab. 4. Technické údaje manometru GDH 200-13 [30].</i>	37
<i>Tab. 5. Vstupní data inokula inhibičního testu – FUR a CH₃COONa.</i>	42
<i>Tab. 6. Obsah testovaných lahví – vstupní data testu FUR a CH₃COONa.</i>	43
<i>Tab. 7. Hodnoty pH, ORP a obsah uhlíku v lahvích na výstupu (bez odečtení slepého pokusu) - FUR a CH₃COONa.</i>	46
<i>Tab. 8. Stupeň biodegradace testovaných vzorků dle produkce bioplynu D_g a celkový rozklad D_t v anaerobním prostředí – FUR a CH₃COONa.</i>	47
<i>Tab. 9. Vstupní data inokula – test GA, TA a CH₃COONa.</i>	48
<i>Tab. 10. Obsah testovaných lahví – vstupní data testu GA, TA a CH₃COONa.</i>	49
<i>Tab. 11. Hodnoty pH, ORP a obsah uhlíku v lahvích na výstupu (bez odečtení slepého pokusu) – GA, TA a CH₃COONa.</i>	53
<i>Tab. 12. Stupeň biodegradace testovaných substrátů dle produkce bioplynu D_h a celkový rozklad substrátu D_t v anaerobním prostředí – GA, TA a CH₃COONa.</i>	55
<i>Tab. 13. Vstupní data inokula u inhibičního testu FUR a C₆H₁₀O₅.</i>	56
<i>Tab. 14. Obsah testovaných lahví – vstupní data testu FUR a C₆H₁₀O₅.</i>	57
<i>Tab. 15. Stupeň biodegradace testovaných vzorků D_h v anaerobním prostředí - FUR a C₆H₁₀O₅.</i>	60

EVIDENČNÍ LIST DIPLOMOVÉ PRÁCE

Sigla	Ústřední knihovna UTB ve Zlíně
Název diplomové práce	Vliv inhibičních látek na produkci methanu
Autor diplomové práce	Bc. Monika Poláčková
Vedoucí diplomové práce	Ing. Marie Dvořáčková, Ph.D.
Vysoká škola	Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Adresa vysoké školy	Náměstí T.G. Masaryka 275, 762 72 Zlín
Fakulta	Technologická
Katedra	Ústav inženýrství ochrany životního prostředí
Rok obhájení diplomové práce	2013
Počet stran	68
Počet svazků	3
Vybavení	18 obrázků, 15 tabulek
Klíčová slova	bioplyn, methan, inhibice, lignocelulózové materiály, anaerobní fermentace