

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních  
zdrojů**

**Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin**



**Anaerobní digesce rostlinné biomasy**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Miloslav Imlauf**

**Vedoucí práce: prof. Ing. Pavel Tlustoš, CSc.**

**Konzultant: Ing. Pavel Míchal**

**© 2015 ČZU v Praze**

### Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Anaerobní digesce rostlinné biomasy" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 16. 4. 2015

---

## Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval mému vedoucímu bakalářské práce panu Prof. Ing. Pavlu Tlustošovi CSc. za cenné rady, připomínky a odborné vedení práce a také za čas, který mi věnoval. Zároveň děkuji konzultantu Ing. Pavlu Míchalovi za odborné vedení experimentu, cenné rady, čas a trpělivost, při zpracovávání této bakalářské práce.

# Anaerobní digesce rostlinné biomasy

## Souhrn:

Anaerobní digesce rostlinné biomasy je proces, který využívá anaerobní mikroorganismy k přeměně degradovatelných organických substrátů na energeticky bohatý bioplyn. V posledních letech došlo v České republice ke zvýšení počtu bioplynových stanic, zejména zemědělského zaměření, jejichž hlavním substrátem je kejda hospodářských zvířat spolu s kukuřičnou siláží, která je snadno rozložitelná anaerobní digescí na bioplyn. V našem zájmu je hledat alternativní plodiny, které by na rozdíl od kukuřice zlepšovaly půdní strukturu a bránily půdní erozi. Každá zemědělská plodina má ale jiné složení rostlinné biomasy a to přímo ovlivňuje účinnost anaerobní digesce, zejména při přítomnosti obtížně degradovatelných látek jako celulóza a lignin. Je známo, že metody předúpravy lignocelulóзовých materiálů mohou přispět k vyšší produkci bioplynu. Mezi další faktory patří způsob pěstování a termín sklizně.

Tato bakalářská práce se v literární části zbývá obecnou charakterizací procesu anaerobní digesce rostlinné biomasy, vymezením její účinnosti pod vlivem určitých podmínek a za použití daných substrátů. Rostlinné substráty jsou rozděleny a charakterizovány dle vhodnosti a aktuálního používání v praxi, přičemž u každého substrátu je určen jeho bioplynový a methanový potenciál s ohledem na složení rostlinné biomasy. V experimentální části se tato práce zabývá hodnocením produkce bioplynu z rostlin technického konopí (*Cannabis sativa* L.) v závislosti na použitém hnojivu a termínu sklizně biomasy rostlin. Rostliny technického konopí byly hnojeny produkty anaerobní digesce (digestát, separát, fugát a kontrolní NPK) ze zemědělské bioplynové stanice a odebírány v průběhu vegetace od 4. týdne od vysetí po plnou zralost - 12. týden od vysetí. Při sledování kumulativní produkce bioplynu byly použity jednorázové vsázkové (batch) testy, a za účelem zjištění kvalitativního složení bioplynu byl měřen obsah methanu v bioplynu pomocí plynového chromatografu.

Nejlepších výsledků kumulativní produkce bioplynu bylo dosaženo u rostlin v plné zralosti (12. týdnů od vysetí), o výšce přibližně 4 m, bez ohledu na typ použitého hnojiva, neboť vypočítané dávky dusíku potřebného pro výživu rostlin se neměnily.

**Klíčová slova:** anaerobní digesce, bioplyn, methan, rostlinná biomasa, organická hmota, batch test

# Anaerobic digestion of plant biomass

## Summary:

Anaerobic digestion is a process utilizing anaerobic microorganisms to convert degradable organic substrates into energy-rich biogas. There is an increasing number of biogas plants in the Czech Republic, especially agricultural biogas plants, where slurry and maize silage used as a substrate. Maize silage is easily degradable to biogas through anaerobic digestion process. It is in our interest to look for alternative plants, which would, unlike maize, improve soil structure and lower the risks of erosion. Every crop has different composition of plant biomass, which directly influences the digestion efficiency, in particular in the presence of low degradable substrates, such as cellulose and lignin. It is widely known that pretreatment methods used on lignocellulosic materials can contribute in boosting the biogas yield. However, other factors include the methods of cultivation and harvest date.

The objectives of this thesis are focused on literature review of anaerobic digestion of plant biomass, its characterization under the influence of certain conditions and given substrates. Plant substrates are arranged and characterized by their suitability and current implementation in practice. Biogas and methane potential is identified for each substrate. The experimental part determines the biogas yield from industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) under the influence of fertilisation and harvest time. Hemp plants were fertilised with products of anaerobic digestion (digestate, separate, fugate and NPK as a reference sample) and were regularly sampled during vegetation from 4th week from sowing to their full ripeness – 12th week from sowing. For monitoring the cumulative biogas yields were used batch tests, and for qualitative measurement of methane content in biogas, a gas chromatograph was used.

The highest biogas yields were achieved in plants at full maturity (12th week from sowing) with approximately 4 meters of height. Irrespective of the type of used fertiliser no difference was found, due to the same nitrogen doses used in the field experiment.

**Keywords:** anaerobic digestion, biogas, methane, plant biomass, organic matter, batch test

## Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Cíl práce.....</b>	<b>1</b>
<b>3</b>	<b>Literární rešerše.....</b>	<b>2</b>
<b>3.1</b>	<b>Anaerobní digesce.....</b>	<b>2</b>
3.1.1	Hydrolyza.....	2
3.1.2	Acidogeneze.....	2
3.1.3	Acetogeneze.....	3
3.1.4	Methanogeneze.....	3
<b>3.2</b>	<b>Biomasa.....</b>	<b>4</b>
<b>3.3</b>	<b>Složení biomasy.....</b>	<b>5</b>
<b>3.4</b>	<b>Faktory ovlivňující anaerobní digesci.....</b>	<b>6</b>
3.4.1	Anaerobní prostředí.....	6
3.4.2	Mikroorganismy.....	6
3.4.3	Teplota.....	8
3.4.4	Hodnota pH.....	9
3.4.5	Složení substrátu.....	9
3.4.6	Poměr C:N.....	10
3.4.7	Nutrienty.....	10
3.4.8	Inhibitory.....	11
3.4.8.1	Nižší mastné kyseliny.....	11
3.4.8.2	Amoniak.....	12
3.4.8.3	Sulfan.....	13
3.4.8.4	Těžké kovy.....	13
<b>3.5</b>	<b>Bioplyn.....</b>	<b>15</b>
3.5.1	Složení bioplynu.....	15
3.5.1.1	Majoritní složky bioplynu.....	15
3.5.1.2	Minoritní složky bioplynu.....	15
3.5.2	Vlastnosti a využití bioplynu.....	16
<b>3.6</b>	<b>Vliv substrátu na výtěžnost bioplynu.....</b>	<b>17</b>
3.6.1	Předúprava substrátů.....	19
3.6.2	Živočišné substráty.....	19
3.6.3	Rostlinné substráty.....	20
3.6.4	Čistírenské kaly.....	20
3.6.5	Biologicky rozložitelný komunální odpad.....	21
<b>3.7</b>	<b>Aplikace anaerobní technologie.....</b>	<b>22</b>
3.7.1	Kategorizace bioplynových stanic.....	22
<b>3.8</b>	<b>Produkty anaerobní digesce.....</b>	<b>23</b>

<b>3.9 Rostliny využívané k produkci bioplynu .....</b>	<b>24</b>
3.9.1 Kukuřice .....	24
3.9.1.1 Kukuřice pro produkci bioplynu .....	24
3.9.2 Trvalé travní porosty .....	26
3.9.2.1 Trvalé travní porosty pro produkci bioplynu .....	27
<b>3.10 Alternativní plodiny vhodné k produkci bioplynu.....</b>	<b>29</b>
3.10.1 Konopí seté.....	29
3.10.1.1 Agrotechnika.....	29
3.10.1.2 Konopí pro produkci bioplynu.....	30
3.10.2 Topinambur hlíznatý .....	31
3.10.3 Ozdobnice čínská .....	32
3.10.4 Krmný šťovík .....	32
3.10.5 Rychle rostoucí dřeviny.....	33
<b>4 Experimentální část .....</b>	<b>35</b>
<b>4.1 Materiál a metody .....</b>	<b>35</b>
4.1.1 Vegetační část experimentu.....	35
4.1.2 Příprava materiálu před nasazením testu.....	36
4.1.3 Nasazení testu .....	36
4.1.4 Měření produkce bioplynu .....	36
4.1.5 Stanovení obsahu methanu v bioplynu.....	37
4.1.6 Stanovení sušiny biomasy .....	38
4.1.7 Stanovení organické sušiny biomasy.....	38
4.1.8 Stanovení degradace organické sušiny .....	38
4.1.9 Stanovení pH inokula .....	39
4.1.10 Zpracování dat.....	39
<b>4.2 Výsledky.....</b>	<b>40</b>
4.2.1 Vlastnosti biomasy vzorků pro anaerobní digesci.....	40
4.2.2 Produkce bioplynu .....	41
4.2.2.1 Kumulativní produkce bioplynu v závislosti na hnojení.....	42
4.2.2.2 Kumulativní produkce bioplynu v závislosti na termínu sklizně.....	43
4.2.3 Produkce methanu a degradace organické sušiny .....	45
4.2.4 Změna hodnoty pH na počátku a na konci experimentu .....	49
4.2.5 Celková výtěžnost bioplynu .....	49
<b>4.3 Diskuze.....</b>	<b>50</b>
<b>5 Závěr .....</b>	<b>52</b>
<b>6 Seznam použitých zdrojů .....</b>	<b>53</b>

# 1 Úvod

Anaerobní digesce je proces vedoucí k tvorbě bioplynu jako hlavního produktu, přičemž vedlejším produktem je digestát, který je možné využít jako organické hnojivo. Použití organických hnojiv, tendence o kultivaci plodin bez chemického zásahu a maximální koloběh živin v agroekosystému jsou hlavními premisami ekologického zemědělství.

Produkce bioplynu, jako obnovitelného zdroje energie (OZE), má v posledních letech rostoucí tendenci. V roce 2005 bylo evidováno pouze 8 zemědělských bioplynových stanic, přičemž v roce 2013 jejich počet stoupl na 481. K 1. 1. 2014 je evidováno českou bioplynovou asociací na 500 bioplynových stanic s převahou zemědělských (CZBA, 2015). Hlavní plodinou pěstovanou k produkci bioplynu je kukuřice, konkrétně kukuřičná siláž. Rostoucí výměra plochy kukuřice pro bioplyn přináší řadu problémů, zejména pak problémy spojené s ochranou půdy (eroze, degradace půdy, apod.). Je tedy nezbytně nutné, v rámci zachování ekologické biodiverzity hledat plodinu, která by byla náhradou kukuřice jako hlavního substrátu pro bioplynové stanice (Prade et al., 2012).

Po zvážení této hypotézy byla vybrána pro experimentální část této práce rostlina technického konopí (*Cannabis sativa* L.), které má na rozdíl od kukuřice nižší potřebu hnojení a nižší spotřebu pesticidů díky lepší schopnosti konkurovat plevelům, což je ve shodě s postupy ekologického zemědělství.

## 2 Cíl práce

Cílem bakalářské práce je zjistit vhodnost využití alternativních plodin k produkci bioplynu v procesu anaerobní digesce a jejich porovnání s konvenčními plodinami. Experimentální část práce je zaměřena na výtěžnost a složení bioplynu procesem anaerobní digesce technického konopí pěstovaného v různých systémech organického hnojení.



## **3 Literární rešerše**

### **3.1 Anaerobní digesce**

Anaerobní digesce neboli anaerobní methanová fermentace organických materiálů - methanizace - je souborem procesů současně probíhajících, při nichž směsná kultura mikroorganismů postupně rozkládá biologicky rozložitelnou organickou hmotu bez přístupu vzduchu. Konečnými produkty jsou methan a oxid uhličitý, dále pak nežádoucí plyny – sulfan, amoniak, molekulární dusík, vodík a kyslík a nerozložený zbytek organické hmoty (digestát), který je z hlediska hygienického a senzorického nezávadný pro životní prostředí. Anaerobní digesce je tedy soubor několika dílčích, na sebe navazujících procesů, na kterých se podílí několik základních skupin anaerobních mikroorganismů. Produkt jedné skupiny mikroorganismů se stává substrátem skupiny druhé, a proto výpadek jedné skupiny může způsobovat poruchy v celém systému (Dohányos, 2008).

Tento proces můžeme běžně nalézt v přirozeně anoxických prostředích, jakými jsou sedimenty vodních ploch, podmáčené půdy či v zažívacím traktu zvířat. Člověkem využívaná anaerobní fermentace zahrnuje zpracování odpadů ze zemědělství, z komunálního a průmyslového odpadu a z čistíren odpadních vod (Alistair et al., 2008). Pastorek a kol. (2004), Straka a kol. (2006), Dohányos (2008) rozdělují proces anaerobní fermentace do čtyř základních fází.

#### **3.1.1 Hydrolýza**

Hydrolýza začíná v době, kdy prostředí obsahuje vzdušný kyslík. Předpokladem pro její nastartování je mimo jiné dostatečný obsah vlhkosti – nad 50 % hmotnostního podílu. Hydrolytické organismy ještě striktně nevyžadují bezkyslíkaté prostředí. Mimobuněčně působící hydrolytické enzymy mění polymery (polysacharidy, proteiny, lipidy atd.) na jednodušší organické látky (monomery).

#### **3.1.2 Acidogeneze**

Zpracovávaný materiál může obsahovat ještě zbytky vzdušného kyslíku, v této fázi však dojde definitivně k vytvoření anaerobního (bezkyslíkatého) prostředí. Zajistí to četné kmeny fakultativních anaerobních mikroorganismů, které se aktivují v obou prostředích.

Vznik  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ , a  $\text{CH}_3\text{COOH}$  umožňuje methanogenním bakteriím tvorbu methanu. Kromě toho vznikají jednodušší organické látky, nižší mastné kyseliny (propionová, máselná,...) a alkoholy. Acidogenní mikroorganismy vyžadují pro svůj metabolismus mírně kyselé pH prostředí (6 – 6,5), díky kterému jsou schopny vyvářet kyselinu octovou.

### **3.1.3 Acetogeneze**

Acetogeneze je někdy označována jako mezifáze. Acidogenní specializované kmeny bakterií transformují produkty předchozí fáze – nižší mastné kyseliny na kyselinu octovou, vodík a oxid uhličitý.

### **3.1.4 Methanogeneze**

Methanogenní acetotrofní bakterie rozkládají především kyselinu octovou na methan a oxid uhličitý, hydrogenotrofní bakterie produkují methan z vodíku a oxidu uhličitého. Určité kmeny methanogenních bakterií se chovají jako obojetné. Methanogenní organismy vyžadují pH v rozmezí hodnot 7,5 – 8. A řadíme je mezi obligátní anaerobní mikroorganismy.

Pro stabilitu procesu anaerobní fermentace organických materiálů je podstatná řada faktorů, které buď mění přímo prostředí mikroorganismů (teplota, pH, nutrienty, toxické látky), nebo požadavky samotných mikroorganismů spojených s konstrukcí bioreaktorů. Například methanogenní fáze anaerobní digesce probíhá přibližně pětikrát pomaleji než zbylé tři fáze. Tomu je třeba přizpůsobit konstrukci bioplynových technologických systémů a dávkování surového materiálu, jinak hrozí přetížení fermentorů se všemi nepříznivými důsledky (Pastorek a kol., 2004; Dohányos, 2008).

## 3.2 Biomasa

Biomasa je definována jako substance biologického původu, která zahrnuje rostlinnou biomasu (fytomasu) pěstovanou na půdě, hydroponicky nebo ve vodě, živočišnou biomasu, vedlejší organické produkty a organické odpady. Biomasa využívaná k energetickým účelům je buď záměrně získávána jako výsledek výrobní činnosti, nebo jde o využití odpadů ze zemědělské, potravinářské a lesní výroby, průmyslové výroby, z komunálního hospodářství, z údržby a péče o krajinu (Kára a kol., 2008).

Pastorek a kol. (2004) rozděluje biomasu využitelnou k energetickým účelům na:

- 1) fytomasu s vysokým obsahem lignocelulózy
- 2) fytomasu s vysokým obsahem lipidů
- 3) fytomasu s vysokým obsahem polysacharidů
- 4) organické odpady a vedlejší produkty živočišného původu
- 5) směsi různých organických odpadů

Fytomasa – rostlinná biomasa, vzniká konverzí energie slunečního záření do organického materiálu rostliny pomocí fotosyntézy. Když jsou chemické vazby mezi uhlíkem, vodíkem a kyslíkem (ze kterých se fytomasa převážně skládá) přetvořeny digescí, spalováním či jiným způsobem rozkladu, uvolní se chemická energie, kterou člověk dále využívá (McKendry, 2002).

Kára a kol. (2008) uvádějí, že pěstování energetické biomasy přináší řadu omezení. Řadí mezi ně konkurenci jiným plodinám pěstovaným na orné půdě, které jsou určeny především k potravinářským, krmivářským a průmyslovým účelům. S touto konkurencí souvisí nutnost rozšiřování produkčních ploch k zajištění dostatečného množství energetické biomasy.

Kromě nevýhod existují i nesporné výhody využití biomasy k energetickým účelům. Kára a kol. (2008) například uvádějí obnovitelný charakter biomasy jako zdroje energie, menší negativní dopady na životní prostředí (bilance tvorby skleníkových plynů, příznivý vliv na hospodaření v krajině a její utváření, atd.), lokální neomezenost zdrojů biomasy a účelné využití spalitelných i toxických odpadů či snížení prostoru pro jejich skladování.

### 3.3 Složení biomasy

U běžných organických substrátů podrobených methanogenní fermentaci se methan získává rozkladem polysacharidů, lipidů a bílkovin (Kára a kol., 2008)

Polysacharidy jsou hlavní stavební složkou fytohmoty a jsou obsaženy zejména ve stěnách rostlinných buněk. Hlavními stavebními kameny fytohmoty jsou celulóza, hemicelulóza a lignin, které dohromady tvoří vlákna tzv. celulózové fibrily. Celulózová vlákna jsou obtáčena rozvětvenými řetězci hemicelulózy a struktura je jako celek zpevněna zesíťovanou výplní ligninu. Lignin je aromatický prostorový heteropolymer fenolického typu, jeho struktura je biologicky velmi obtížně rozložitelná. Tato struktura působí potíže při biologickém rozkladu, neboť lignin zabraňuje přístupu hydrolyzujícím enzymům i k jinak dobře rozložitelné hemicelulóze. Lignin je z hlediska methanogeneze balastním materiálem a tvorby methanu se prakticky neúčastní, pokud není fyzikálně chemickými procesy předem struktura narušena (Kára a kol., 2008). Mezi dalšími polysacharidy, které můžeme nalézt v biomase, jsou zásobní polysacharidy – škroby.

Rozklad polysacharidů bohatě obsažených ve fytohmotě bývá hlavním zdrojem látek pro tvorbu methanu, neboť polysacharidy jsou nejprve hydrolyzovány na monosacharidy a jsou následně rozloženy acidogenními mikroorganismy na mastné kyseliny. Ty jsou pomocí acetogenních bakterií převedeny na kyselinu octovou, jež methanogeny rozkládají na methan (Straka a kol., 2006; Anwar et al., 2014).

Lipidy jsou všechny estery vyšších mastných kyselin, včetně triglyceridů vyšších mastných kyselin známých jako „tuky“ (Straka a kol., 2006). Ve fytohmotě mají funkci zásobní a stavební (lipidová dvouvrstva buněčné stěny) a v rostlinách se vyskytují na povrchích listů a plodů, v semenech či v zásobních orgánech (Novák a Skalický, 2012).

Lipidy jsou nejprve hydrolyzovány na triglycerol a mastné kyseliny, ty jsou převedeny acetogenními bakteriemi na kyselinu octovou, kterou již methanogeny přemění na methan. Rozkladem lipidů (tuků) je možno dosáhnout nejlepší výtěžnosti, bohužel jejich podíl v rostlinné biomase nebývá vysoký, přibližně do 4 % objemu sušiny kulturních plodin. (Kára a kol., 2008)

Bílkoviny neboli proteiny jsou vysokomolekulární polymery aminokyselin, v nichž jsou jednotlivé aminokyseliny vzájemně řetězeny peptidickými vazbami. Na výstavbě proteinů se podílí celkem 20 různých aminokyselin vytvářejících peptidický řetězec (Alberts et al., 2008). Bílkoviny se ve tkáních organismů vyskytují buď samostatně, nebo v kombinaci s nukleovými kyselinami (nukleoproteidy), s cukry (mukoproteidy) či lipidy (lipoproteidy, proteolipidy). Proteiny obsahují dusík aminového typu, který je schopen se poměrně snadno odštěpovat (Straka a kol., 2006).

Proteiny se rozkládají na aminokyseliny, ze kterých se po deaminaci stávají mastné kyseliny, nebo přímo kyselina octová. Při rozkladu jinak dobře rozložitelných proteinů (bílkovin) se do bioplynu uvolňují sirnaté složky (např. sulfan –  $H_2S$ ), které je před konečným využitím bioplynu nutno v některých případech odstranit (Kára a kol., 2008).

### **3.4 Faktory ovlivňující anaerobní digesce**

Anaerobní digesce je velmi složitý proces, na jehož kvalitu a průběh má vliv řada exogenních i endogenních faktorů. Jejich poznání, vytvoření optima a případná eliminace škodlivých vlivů je klíčová k ovládnutí procesu anaerobní digesce vedoucí k tvorbě bioplynu (Straka a kol., 2006).

#### **3.4.1 Anaerobní prostředí**

Anaerobní prostředí je definováno, jako prostředí bez přítomnosti kyslíku, v němž mohou probíhat rozkladné procesy organických materiálů. V anaerobním procesu se odbourává velký podíl organické sušiny, materiál se sám prakticky zahřívá velmi málo, získáváme však bioplyn jako doplňkový zdroj energie. V porovnání s aerobním procesem, kdy dochází k zahřívání vlastního substrátu a výsledným produktem je kompost (při rozkladu nevzniká bioplyn), dochází při anaerobní digesce k produkci stabilizovaného materiálu - digestátu (Kára a kol., 2008).

#### **3.4.2 Mikroorganismy**

Pro urychlení náběhu fermentačního procesu se využívá očkovací látka (inokulum) z fermentorů v ustáleném provozním stavu nebo se používají sušené stimulatory obsahující

anaerobní mikrobiální kultury v inaktivovaném stavu (Pastorek a kol., 2004). Mikroorganismy zúčastňující se anaerobní methanové fermentace je možné rozdělit do tří základních funkčních skupin (Dohányos, 2008):

- 1) první skupina zahrnuje mikroorganismy hydrolyzační a fermentační způsobující hydrolyzu a acidogenezi tj. rozkládají polymerní substráty na monomery převážně za vzniku kyseliny octové,  $H_2$  a  $CO_2$ . Za určitých okolností vznikají také další kyseliny (propionová, máselná) a alkoholy. Do této skupiny řadí Straka a kol. (2006) čeledi *Streptococcaceae* a *Enterobacteriaceae* a rody bakterií *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium* a další.
- 2) do druhé skupiny patří tzv. obligátní acetogenní bakterie fermentující kyseliny (propionovou, máselnou) na kyselinu octovou a vodík – acetogeneze. Do druhé skupiny řadíme druhy *Syntrophobacter wolnii*, *Syntrophomonas wolfei* a *Syntrophus buswelii*. Reakce katalyzované těmito mikroorganismy probíhají pouze za předpokladu velmi nízké koncentrace vodíku, tj. vodík musí být ze systému kontinuálně odváděn, což činí mikroorganismy třetí skupiny (Straka a kol., 2006).
- 3) třetí skupinu tvoří methanogenní bakterie produkující methan z  $H_2$  a  $CO_2$  – hydrogenotrofní methanogeny (rod bakterií *Methanobacterium*, a druh *Methanococcus mazei*) a z kyseliny octové – acetotrofní methanogeny (druhy bakterií *Methanococcus mazei* a *Methanosarcina bakerii*) (Gerardi, 2006). Nejpočetnějšími mikroorganismy jsou při anaerobní fermentaci právě hydrogenotrofní methanogeny (Wagner et al., 2013).

Methanogenní organismy představují limitující faktor anaerobní fermentace, jelikož jsou ze všech kmenů nejvíce citlivé na změnu vnějších podmínek (teplota, pH, atd.). Acetotrofní methanogeny vytvářejí až 2/3 celkového  $CH_4$  v bioplynu. Jsou schopny udržovat stabilní pH fermentačního média, neboť odstraňují kyselinu octovou a produkují  $CO_2$ . Hydrogenotrofní methanogeny produkují methan z  $CO_2$  a  $H_2$ . Z procesu odstraňují nežádoucí vodík, a jsou tak samoregulátorem procesu. Vodíkem jsou nejvíce ohrožovány acetogenní organismy rozkládající kyselinu propionovou a máselnou. Regulace vodíku je tak nezbytnou součástí procesu (Žídek, 2004). Mezi další, méně hojné kmeny bakterií řadí Straka a kol. (2006) homoacetogenní (přeměňují  $CO_2$  na  $CH_3COOH$  bez vzniku  $H_2$ ), sulfátredukující a nitrát redukující bakterie.

### 3.4.3 Teplota

Teplota podstatně ovlivňuje interakce mezi jednotlivými druhy mikroorganismů. Změnou teploty se mění rychlosti probíhajících pochodů, což má za následek porušení dynamické rovnováhy procesu, která může vést až k úplné havárii procesu. Dlouhodobá změna teploty vede ke změně zastoupení jednotlivých druhů mikroorganismů (Dohányos, 2008). Fermentace může probíhat za rozdílných teplot (Zhang et al., 2006).

DeBruyn a Hilborn (2007) rozdělují teploty za kterých je anaerobní digesce možná na:

- a) psychrofilní – s optimem teplot v rozmezí od 15 °C do 30 °C. Tato teplota zaručuje stabilitu a snadnou údržbu procesů, nezaručuje však odstranění patogenních organismů a vyžaduje delší čas pro výrobu bioplynu
- b) mezofilní – optimum teplot v rozmezí od 35 °C do 40 °C. Tyto teploty zajišťují vyrovnanost systému při venkovních výkyvech teplot, odstranění patogenů je významně zvýšeno
- c) termofilní – s optimem teplot v rozmezí od 45 °C do 60 °C. Toto rozmezí teplot zajišťuje vysokou aktivitu mikroorganismů, což umožňuje rychlé odbourání organické hmoty a také dobrou sanitační funkci. Nevýhodou bioreaktorů provozovaných v těchto teplotách je náchylnost k vyšším obsahům dusíkatých látek a těžkých kovů.

Teplota ovlivňuje anaerobní digesti stejně jako všechny ostatní biochemické procesy – se zvyšující se teplotou vzrůstá rychlost všech probíhajících procesů. Avšak změnou teploty a tím i rychlosti probíhajících pochodů dochází k porušení dynamické rovnováhy procesu. Pro stabilní průběh anaerobního rozkladu je tedy nutné udržovat konstantní teplotu. Většina v současnosti provozovaných bioplynových stanic pracuje v mezofilní teplotní oblasti, tj. 35 – 42 °C (Mužik a Kára, 2009).

V porovnání produkce bioplynu mezofilní a termofilní digesce biomasy byly u termofilní reakce zjištěny až o 150 % vyšší výnosy bioplynu, vyšší rozložení organických látek a procentuální nárůst methanu na podílu z celkového bioplynu asi o 2 %. Jedinou nevýhodou termofilních reaktorů je potřeba energie na zvýšení a udržení teploty a větší náchylnost ke změně podmínek (Vindis et al., 2009).

### 3.4.4 Hodnota pH

Hodnota pH fermentované suspenze je závažný limitující faktor procesu, který je důležitý pro růst methanogenních organismů. Většinou je nutné udržovat hodnoty pH v neutrální oblasti mezi 6,5 – 7,5. Vyšší nebo nižší hodnoty značně inhibují činnost mikroorganismů. Při zpracování kejdy a hnoje nastává nárůst pH vlivem amoniaku. Naopak nejčastější příčinou poklesu pH je přetížení reaktoru, kdy je produkce kyselin rychlejšími organismy vyšší než jejich spotřeba a dochází k jejich akumulaci v systému. Je tedy nutné řídit zatížení podle množství a složení mastných kyselin v médiu, aby nedošlo ke zhroucení procesu. Dále je třeba zajistit dostatečnou neutralizační kapacitu přidáním alkalizačních činidel (Žídek, 2004).

Hodnota optimálního pH pro růst a rozmnožování acidogenů je odlišná od optimálního pH methanogenů. Zatímco acidogeny vyžadují pH kyselější, methanogeny vyžadují spíše neutrální až lehce zásadité. Proto je nutné udržovat tento klíčový faktor v optimálních podmínkách, neboť při náhlé změně pH může dojít ke kolapsu celého procesu anaerobní fermentace (Rajeshwari et al., 1999).

Měření hodnoty pH však není dostatečně průkazným faktorem kvality procesu, vzhledem k pufracím schopnostem substrátu a adaptací mikroorganismů. I při vyšším nebo nižším pH je možné dosahovat přijatelných nebo dokonce lepších výsledků produkce bioplynu, než kdyby bylo za každou cenu dosahováno optima (Wagner et al., 2013; Straka a kol., 2006; Dohányos, 2008).

### 3.4.5 Složení substrátu

Složení substrátu je ovlivněno vstupní biomasou, která následně ovlivňuje rychlost produkce bioplynu, jeho složení a zároveň může způsobit značnou nestabilitu procesu (Wagner et al., 2013). Obsah organického podílu sušiny materiálu se odráží v potenciálu produkce bioplynu. Čím více bioplynu vzniká, tím více se odbourává organické sušiny a naopak. Důležitá je také vlhkost substrátu, která by neměla být nižší než 50%, neboť první fáze fermentace – hydrolyza vyžaduje přítomnost vody pro průběh reakcí (Pastorek a kol., 2004).

Celulóza a hemicelulózy poskytují sice relativně dobré výtěžky methanu, jejich digesce je však limitována přítomností ligninu, který je díky své struktuře v anaerobních podmínkách



zcela inertní (Straka a kol., 2006; Wagner et al., 2013). Škrobové polysacharidy poskytují vysoké výnosy, avšak dochází ke snížení obsahu CH<sub>4</sub> na úkor vyššího zastoupení CO<sub>2</sub> (Straka a kol., 2006).

Lipidy poskytují velmi vysoké obsahy methanu v bioplynu, problémem je zde technické zvládnutí celkového rozkladu tuků, které mají díky hydrofobním vlastnostem tendence vyplouvat na hladinu digestované biomasy, oddělovat se od vodné fáze a zvyšovat tvorbu pěny, která následně vede ke tvorbě krusty a další dávkování biomasy je značně omezeno (Straka a kol., 2006).

Proteiny patří mezi dobře rozložitelné složky biomasy, avšak nevýhodou této skupiny je přítomnost síry a dusíku, v důsledku jejichž přítomnosti může docházet k tvorbě nežádoucích produktů, které mají významný vliv na proces anaerobní digesce (viz kapitola 6. 8. – Inhibitory anaerobní digesce) (Straka a kol., 2006).

### **3.4.6 Poměr C:N**

Poměr uhlíkatých a dusíkatých látek je významným parametrem pro hodnocení vhodnosti materiálů pro anaerobní fermentaci. Za optimální je považován poměr 25 - 30:1. Vysoký obsah dusíkatých látek se může negativně projevit na složení bioplynu (nárůst NH<sub>3</sub>, N<sub>2</sub>O, atd.). Mezi materiály s vysokým obsahem dusíkatých látek patří exkrementy všech druhů hospodářských zvířat. Vysoký poměr ve prospěch uhlíku je příčinou rychlého spotřebování dusíku methanogeny, který dále není přístupný a proto dochází k poklesu tvorby bioplynu. Optimálního poměru obou složek se dosahuje míšením různých materiálů (Pastorek a kol., 2004; Abbasi et al., 2012). Poměr C:N je nejužší u kejdy (2 – 10:1), dále u mrvy (20 – 30:1), posečená tráva (20:1), hnůj (25:1), sláma (60 – 100:1), nejvyšší je pak u dřevěných pilin (500:1) (Vaněk a kol., 2007).

### **3.4.7 Nutrienty**

Složení anaerobní mikrobiální biomasy se odhaduje na 50 % C, 20 % O, 10 % H, 11 % N, 2 % P a 1 % S. Požadavky mikrobiálních kultur na makroprvky by měly činit 100:5:1:1 (C:N:P:S). To ovšem záleží na složení substrátu, neboť lehce rozložitelný substrát bude přístupnější pro mikroorganismy a potřeba makroprvků bude mít užší poměr (Wellinger et al., 2013).

Mikroorganismy anaerobní digesce mají i jisté požadavky na přítomnost mikroprvků, především se jedná o draslík, vápník, hořčík, chlor, a mnoho dalších. Stopové množství železa, mědi, zinku, manganu, molybdenu a vanadu jsou nezbytné pro správný růst a vývoj mikroorganismů (Wellinger et al., 2013).

### **3.4.8 Inhibitory**

Velké množství vědeckých studií zabývajících se problematikou inhibičních faktorů digesce poukazuje na vysokou variabilitu v inhibici (toxicitě) určitých látek. Hlavním důvodem je složitost procesu anaerobní digesce, kde látky mohou působit antagonisticky, synergicky, nebo indiferentně v závislosti na složení substrátu a zastoupení mikrobiálních kultur (Chen et al., 2007).

#### **3.4.8.1 Nižší mastné kyseliny**

Nižší mastné kyseliny, v anglické literatuře označovány jako „volatile fatty acids“ (VFA), jsou organické kyseliny s krátkým uhlíkatým řetězcem (pod 6 uhlíkových atomů na molekulu). Při anaerobní digesci jsou produktem acidogenních mikroorganismů a substrátem pro acetogeny, které z nich následně tvoří především kyselinu octovou (acetát), který je substrátem pro methanogeny (Pastorek a kol., 2004; Straka a kol., 2006).

Mezi nižší mastné kyseliny řadí Ahring et al. (1995) kyselinu octovou, kyselinu propionovou, kyselinu máselnou, kyselinu isovalerovou a kyselinu valerovou.

Při vychýlené rovnováze procesu dochází k nárůstu koncentrace nižších mastných kyselin, což může způsobit pokles pH a následnou inhibici procesu methanogeneze (Ahring et al., 1995).

Zvýšená koncentrace nižších mastných kyselin a dramatický pokles pH se vyskytuje při použití substrátu bohatého na jednoduše rozložitelné polysacharidy, monosacharidy a aminokyseliny. Acidogeny přetvoří tento substrát na nižší mastné kyseliny během jednoho až dvou dnů, čímž dojde k přesycení systému kyselinami, poklesu pH a následné inhibici anaerobní digesce (Wagner et al., 2013).

Nižší mastné kyseliny mají také vliv na vyrovnávání vysokého pH způsobené vyššími koncentracemi amoniaku (Wagner et al., 2013).

Měření pH tedy nepřináší průkazné informace o průběhu procesu (viz kap. 6.4.). Naopak měření obsahu a zastoupení nižších mastných kyselin je ideálním ukazatelem zatížení procesu a jeho kvality (Dohányos, 2008; Ahring et al., 1995).

### 3.4.8.2 Amoniak

Amoniak neboli čpavek, je toxická látka působící na proces digesce dvěma různými způsoby. V nedisociované formě byla prokázána inhibice procesu, přičemž jako nejcitlivější mikroorganismy byly označeny methanogeny. Působení této formy je závažné zejména proto, že dochází k příjmu amoniaku do těl mikroorganismů přes plasmatickou membránu, kde poté způsobuje narušení rovnováhy proteinů a/nebo deficienci draslíku (Chen et al., 2007).

Amoniak se v procesu anaerobní digesce uvolňuje do roztoku deaminací organicky vázaného dusíku z amino-, iminoskupin proteinů nebo z dusíkatých heterocyklických sloučenin (Straka a kol., 2006).

Inhibice způsobená amoniakem je ovlivněna řadou faktorů. Chen et al. (2007) uvádí:

- koncentraci – v koncentraci pod  $200 \text{ mg.L}^{-1}$  má amoniak pozitivní účinky na mikroorganismy, kde slouží jako zdroj N. V koncentracích vyšších může způsobovat výše uvedené problémy
- pH – díky zásadité povaze amonného kationtu dochází k nárůstu pH, je proto nezbytné toto pH upravovat, ať už přídatnými látkami, nebo vlastním substrátem pro anaerobní digesci
- přítomnost kationtů ve fermentované suspenzi – zejména pak  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  a  $\text{Mg}^{2+}$ , které brání působení amoniaku vyvázáním  $\text{H}^+$  kationtů a tím zvýšení pH v suspenzi a následné neutralizaci amoniaku
- adaptace mikroorganismů – přestože dochází k inhibici mikroorganismů, amoniak působí jako stresový faktor a umožňuje tak adaptaci na jeho účinky.

Metody odstranění amoniaku jsou založeny na antagonistickém působení uvedených kationtů, přidáním minerálů obsahujících  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  a  $\text{Mg}^{2+}$  můžeme omezit působení amoniaku (Chen et al., 2007).

V disociované formě ( $\text{NH}_4^+$ ) byla prokázána jak výše uvedená inhibice, tak pufrovací schopnost amonného kationtu. Zásadité pH amoniaku způsobuje vyrovnaní kyselého pH způsobené nižšími mastnými kyselinami a naopak. Při vysoké koncentraci mastných kyselin a vysoké koncentraci amonného iontu nedojde k inhibici procesu změnou pH, nýbrž přesycením procesu dodaným substrátem (Wagner et al., 2005).

#### 3.4.8.3 Sulfan

Sulfan je bezbarvý plyn silného zápachu s velmi zásaditým pH a s velmi silnými korozivními účinky. V biomase je vázána síra v sulfidických a disulfidických vazbách některých aminokyselin (methionin, cystein). Dalším významným zdrojem mohou být i anorganické formy síry – sírany. Sulfát redukující bakterie (SRB) využívají sírany přítomné v procesu anaerobní digesce. Produktem těchto bakterií je pak sulfan. Vyšší hladiny vodíku přítomného v anaerobní digesti mají stimulační účinky na tyto bakterie a umožní tak degradaci síranů na sulfan. Tato nežádoucí složka je následně odstraňována z bioplynu například pomocí mikroaerace (Isa et al., 1986; Straka a kol., 2006).

#### 3.4.8.4 Těžké kovy

Těžké kovy nejsou na rozdíl od jiných toxických substancí biologicky degradovatelné, dochází k jejich akumulaci až do potenciálně toxických koncentrací. Celkové vzájemné synergické a antagonistické působení mezi těžkými kovy, mezi ostatními prvky a kulminací v živé biomase jsou velice složité procesy (Chen et al., 2007).

Některé rostliny, především rychle rostoucí dřeviny mohou kumulovat těžké kovy v nadzemních orgánech, a to až z padesáti procent celkového obsahu těžkých kovů v biomase. U ostatních rostlin (obilniny, olejniny) se kumulace uskutečňuje především v kořenech rostlin, kde dochází k omezení příjmu vody a interferenci mezi ionty, které mají vliv na fotosyntézu. Projevem takovýchto toxikací, je pak výrazná chloróza listových ploch, nebo potlačený růst rostlin (Fischerová a kol., 2006; Furini, 2012).

Těžké kovy jako například chrom, železo, kobalt, měď, zinek, kadmium a nikl jsou důležitým prvkem anaerobní digesce, kde se můžou vyskytovat v různých koncentracích a inhibovat tak acidogenní a methanogenní mikroorganismy (Chen et al., 2007).

Na acidogenní organismy působí nejtoxičtější měď, která zastavuje jejich vývoj a nedochází tak k produkci substrátů pro další mikroorganismy, proces se tedy prakticky zastaví. Na methanogeny má vliv pak zejména kadmium, které v koncentracích vyšších než  $20\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  působí jejich inhibici, následný nárůst koncentrací nižších mastných kyselin, způsobuje pokles hodnoty pH a v nejhroších případech může dojít až k zastavení procesu anaerobní digesce (Yu et Fang, 2001).

Bylo prokázáno, že se těžké kovy adsorbují na organickou biomasu přítomnou v anaerobní fermentaci. Mikroby mohou sorbovat a akumulovat těžké kovy, stejně tak redukovat anorganické anionty a kationty které jsou zabudovávány do chelátových vazeb. Díky tomuto procesu pak dochází k omezení jejich toxického působení (Chen et al., 2007).

Těžké kovy v anaerobní digesci mohou působit inhibičně, zejména pak při termofilní digesci, která je citlivější na jejich přítomnost, jelikož při vysokých teplotách dochází k jejich větší imobilizaci. Oproti tomu některé těžké kovy mohou působit jak inhibičně, tak stimulačně v závislosti na jejich koncentraci ve fermentované biomase, jejich iontové podobě v roztoku, rozpustnosti, a typu kovu. Kovy jako měď, železo, zinek, selen, kobalt, mangan, bór, molybden, nikl a wolfram mohou působit stimulačně na methanogenní organismy, ovšem v závislosti na koncentracích (Wetzel et al., 2009).

## 3.5 Bioplyn

Biologický rozklad organických látek je složitý vícestupňový proces, na jehož konci působením methanogenních organismů vzniká bioplyn. Obecně lze tento název použít pro všechny druhy plyných směsí, které vznikly činností mikroorganismů. V technické praxi se ustálil název bioplyn pro plynou směs vzniklou anaerobní fermentací vlhkých organických materiálů v umělých technických zařízeních (reaktorech, digestorech, lagunách se zařízením na jímání bioplynu atd.). Bioplyn vzniká také i v přírodě, například usazováním sedimentů na dně vodních ploch či toků, v půdě a v neposlední řadě vzniká v batoru přežvýkavců (Pastorek a kol., 2004).

### 3.5.1 Složení bioplynu

Bioplyn je směs plynů, vzhledem k širokým možnostem v jeho složení, dělíme složky bioplynu na majoritní a minoritní – nežádoucí (Rasi, 2009).

#### 3.5.1.1 Majoritní složky bioplynu

Majoritními složkami bioplynu jsou především  $\text{CH}_4$  a  $\text{CO}_2$ , jejichž vzájemný poměr je velice proměnlivý, ovlivněný především složením degradovaného substrátu. Vyšší výtěžky  $\text{CH}_4$  poskytují substráty bohaté na proteiny a lipidy, přesná výtěžnost však není stanovena, neboť je produkce ovlivněna řadou vnějších faktorů, jako je pH, teplota, stav a adaptovanost mikrobiálních kultur a další. Všeobecně se může obsah methanu pohybovat v rozmezí od 50 do 85% celkového bioplynu. Přičemž v praxi by stálý obsah neměl kolísat o více než 2 %. Zbývající objem (15 – 50 %), s výhradou velmi malého zlomku pro minoritní směsi, je tvořen pouze oxidem uhličitým (Straka a kol., 2006).

#### 3.5.1.2 Minoritní složky bioplynu

Minoritní složky bioplynu jsou oproti majoritním značně proměnlivé. Celkový počet analyzovaných látek v bioplynu se odhaduje na 400 až 500, přičemž většina z nich je pro běžnou praxi nepodstatná a vyskytuje se jen ve stopových množstvích (např. propan, butan, ethanol, methanol, aceton, benzen, kyseliny octová a máselná atd.). Významnější složkou jsou

především korozivní látky jako halogenderiváty, oxidy dusíku, sulfan a sloučeniny křemíku (ty se vyskytují především na skládkách, kde je anaerobní prostředí pouze částečně zastoupeno). Jak již bylo výše uvedeno, amoniak se za ideálních podmínek neuvolňuje společně s ostatními plyny (Straka a kol., 2006).

Obsah sulfanu v reaktorových bioplynech je ve většině případů určován složením biologicky rozložitelných substrátů. Jak již bylo uvedeno, materiály bohaté na bílkoviny mají tendence k vyšší produkci  $H_2S$  při anaerobní digesci, vyšší obsahy sulfanu jsou tedy k nalezení při anaerobní digesci vepřové kejdy nebo kvasničných odpadů. Sulfát redukující bakterie (SRB) při procesu redukce  $SO_4^{2-}$  na  $H_2S$  neomezují methanogeny, ale naopak samy se mohou zúčastnit procesu methanogeneze a tak zvýšit produkci methanu (60-70 % obj.  $CH_4$ ). Na druhou stranu se zvyšuje i produkce  $H_2S$  a zvyšuje se i tak jeho koncentrace až do extrémního objemu 4,2 - 5 % obj.  $H_2S$  (Isa et al., 1986).

### **3.5.2 Vlastnosti a využití bioplynu**

Bioplyn jakožto směs methanu, oxidu uhličitého a dalších minoritních plynů je možno využít pro řadu účelů. Mezi ty řadí Pastorek a kol. (2004), Straka a kol., (2006) přímé spalování (vaření, topení, svícení, sušení), výrobu elektrické energie a ohřev teplotnosného média v kogeneračních jednotkách (kogenerace), výrobu elektrické energie, ohřev teplotnosného média a výrobu chladu (trigenerace), pohon spalovacích motorů nebo turbín pro získání mechanické energie nebo využití bioplynu v palivových člancích. U nás se nejčastěji setkáme se spalováním bioplynu v kotlích a využitím v kogeneračních jednotkách.

Problémem při spalování bioplynu je jeho kvalita, zejména pak procentuální zastoupení methanu vůči ostatním složkám. Surový bioplyn není vhodný pro přímé spalování, kdy dochází k chemickým reakcím mezi některými složkami bioplynu (Pastorek a kol., 2004).

Při kogeneraci dochází k současné výrobě elektrické energie a ohřevu tepelného média, přičemž elektrické energie se vytvoří přibližně 30 %, na tepelnou energii připadá pak 60 % a zbytek (10 %) jsou ztráty v podobě tepla (Straka a kol., 2006; Pastorek a kol., 2004).

Jako další se nabízí využití bioplynu jako pohonu mobilních energetických prostředků, kde je ovšem třeba dbát na zbavení bioplynu mechanických nečistot, odsíření, energetické

zhodnocení na 90 % obsahu methanu a následnou akumulaci. Ekonomicky takovýto plyn zatím neodpovídá běžným pohonným hmotám (motorová nafta, benzin, zemní plyn) (Pastorek a kol., 2004).

Jinou možností využití bioplynu je jeho úprava na plyn srovnatelný kvalitou a čistotou se zemním plynem, na tzv. biomethan, který lze srovnatelně využít jako zemní plyn transportovaný z ruských nebo norských nalezišť. Hlavní předností biomethanu je možnost jeho vyskladnění do stávající plynovodní sítě a následná distribuce až k místům lepšího využití (polygenerační zařízení). Dříve než lze vyrobený bioplyn použít jako náhradní zemní plyn, musí být zbaven nežádoucích složek, kterými jsou především sulfan, oxid uhličitý a voda. V reálném provozu jsou ověřeny a používány metody založené zejména na absorpčním a na adsorpčním principu. Další perspektivní metodou se jeví membránová separace. Takto upravený bioplyn obsahuje 96 – 99 % methanu, přičemž ztrátovost jednotlivých metod nepřekračuje 0,1 % (Čermáková, 2009).

Poslední možností je využití bioplynu jako zdroje vodíku. Toho se docílí elektrolýzou bioplynu, kde je konečným produktem molekulární vodík ( $H_2$ ), který lze využít jako čistou energii oproti spalování fosilních paliv. Tento proces je však nákladný (Pastorek a kol., 2004).

### **3.6 Vliv substrátu na výtěžnost bioplynu**

Jak již bylo výše uvedeno, složení substrátu je ovlivněno vstupní biomasou a následně ovlivňuje rychlost produkce bioplynu, jeho složení a může způsobit značnou nestabilitu procesu (Wagner et al., 2013). Rychlost rozkladu organických látek závisí na množství a kvalitě aktivní biomasy. Jednotlivé komponenty fermentované biomasy (polysacharidy, lipidy a bílkoviny) a jejich procentuální zastoupení ve fytomase (popř. zoomase) mají vliv na její celkovou rozložitelnost a následnou výtěžnost methanu (viz Tabulka č.1) (Straka a kol., 2006; Wagner et al., 2013).

Pastorek a kol. (2004), popisují výtěžnost bioplynu z jednotlivých komponent rostlinné biomasy (v litrech na gram sušiny  $1\text{ l} = 0,001\text{ m}^3$ ) v tabulce č. 1.



Tabulka č. 1 – Výtěžnost bioplynu ze specifických substrátů (Pastorek a kol., 2004).

Výtěžnost bioplynu ze specifických substrátů			
Složka	Objem bioplynu [L.g <sup>-1</sup> sušiny]	Obsah CH <sub>4</sub> [%]	Produkce CH <sub>4</sub> [L.g <sup>-1</sup> sušiny]
popeloviny	0	-	-
polysacharidy	0,8	50	0,4
lipidy	1,2	67	0,8
bílkoviny	0,7	70	0,5

Wagner et al. (2013) uvádí nejvyšší výtěžnost methanu anaerobní digescí z bílkovinných substrátů, za předpokladu, že nedojde k inhibici mikroorganismů vznikajícím amoniakem. To je v souladu s poznatky Pastorka a kol. (2004).

Lipidy a jednoduché polysacharidy (škroby, amyláza) poskytují dobré výnosy bioplynu až 67 % obj. CH<sub>4</sub> (Pastorek a kol., 2004). Problém může vznikat při fermentaci jednoduchých škrobů popřípadě cukrů, které jsou rychle rozloženy mikroorganismy a dochází k rapidnímu poklesu pH v důsledku zvýšení koncentrací organických kyselin, zejména kyseliny octové. Přesycení methanogenů tímto substrátem a náhlá změna v pH způsobují inhibici procesu anaerobní digesce (Wagner et al., 2013; Chen et al., 2007).

Lignocelulozové materiály bohaté na polysacharidickou složku – celulóza, hemicelulóza a lignin mají vysoký potenciál pro anaerobní fermentaci a výtěžnost methanu. Problémem je nepřístupnost celulózy a hemicelulózy z důvodu nepropustnosti ligninu pro hydrolytické enzymy bakterií. Takovéto substráty je za účelem vyššího výnosu methanu nutno dezintegrovat (Taherzadeh a Karimi, 2008).

### 3.6.1 Předúprava substrátů

Lignocelulozové substráty jakým jsou například konopí, rychle rostoucí dřeviny a další, vyžadují pro dobrou výtěžnost bioplynu předúpravu některými metodami pro snížení vlivu ligninu jako ochranné složky buněčných stěn a zvýšení přístupu dobře rozložitelné celulózy a hemicelulózy pro rozkladné enzymy anaerobních mikroorganismů (Taherzadeh a Karimi, 2008).

Lignin je složitá organická molekula složená z fenylypropanových jednotek propojenými do prostorové struktury, která je obtížně degradovatelná chemicky i enzymaticky (Straka a kol., 2006; Taherzadeh a Karimi, 2008).

Existuje celá řada metod pro zvýšení přístupu celulózy a hemicelulózy popřípadě degradace ligninu. Tyto metody rozdělují Zheng et al. (2014) na:

- Fyzikální - rozměňování, autohydrolýza vysokotlakou párou, hydrotermolýza, extruze, ultrazvuková předúprava a ozařování.
- Chemické - alkalická a kyselá hydrolýza, katalyzovaná autohydrolýza vysokotlakou párou, vlhká oxidace, ozonolýza, oxidativní peroxidifikace a předúprava iontovými roztoky.
- Biologické - mikrobiální, enzymatická předúprava a předúprava pomocí stopkovýtrusných hub.
- Kombinované – kombinace některých výše zmíněných např. ultrazvuková předúprava spolu s alkalickou hydrolýzou.

Nejúčinnější metodou se pak jeví acidická hydrolýza, kdy dochází k nárůstu aktivního povrchu přístupného pro enzymy a dochází k částečnému nebo celkovému rozkladu ligninu (Taherzadeh a Karimi, 2008).

### 3.6.2 Živočišné substráty

Mezi živočišné substráty řadíme zejména kejdu a chlévskou mrvu z chovů skotu, prasat nebo drůbeže. Tyto materiály poskytují dobré výtěžky bioplynu a jejich fermentace je možná bez rostlinných substrátů. V České republice dlouhodobě klesá počet zvířat, zejména skotu a

prasat, jejichž exkrementy jsou nezbytné pro fungování bioplynových stanic. Jejich využití v rostlinné výrobě či výrobě bioplynu je nezastupitelné a jejich stabilizace je nezbytná pro další využití (hnojení vyžralým hnojem, aplikace digestátu). Fermentovat lze i další živočišné substráty jako například krev nebo zbytky z porážek zvířat. Problémem v takovýchto systémech je vysoký obsah dusíkatých a sírných látek (bílkoviny), ze kterých se mohou uvolňovat amoniak a sulfan, které mohou působit inhibičně na proces digesce (Straka a kol., 2006, 2007).

Vedlejší produkty z živočišné výroby - chlévská mrva, kejda ale i bachorové výkoly se využívají jako inokulanty pro nastartování procesu anaerobní fermentace (Straka a kol., 2007).

### **3.6.3 Rostlinné substráty**

Rostlinné substráty se pak využívají při kofermentaci s živočišnými substráty a vedou ke zvýšení výtěžku bioplynu. Jako rostlinné substráty pro anaerobní digesci lze využít například odpady z rostlinné výroby, jakými jsou sláma nebo posklizňové zbytky. V posledních letech se u nás i ve světě rozmáhá cílené pěstování biomasy pro energetické účely. V praxi se u nás využívá zejména kukuřičná siláž s vysokými hektarovými výnosy ( $60\text{t}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) nebo travní senáž s nízkými energetickými a ekonomickými vstupy (Pastorek a kol., 2004; Straka a kol., 2006; Dohányos, 2008). Další rostlinné materiály cíleně pěstované pro produkci bioplynu budou řešené v kapitole 8 a 9.

### **3.6.4 Čistírenské kaly**

Čistírenský kal je jedním z konečných produktů procesu čištění odpadních vod. V procesu klasického čistírenského postupu se většina z přivedeného znečištění v odpadních vodách převádí do kalů. Kaly představují přibližně 1 – 2 % objemu čištěných vod, je však v nich transformováno 50 – 80 % původního znečištění. Zpracování a likvidace těchto kalů se tak stává jedním z nejdůležitějších a nejkritičtějších problémů čištění odpadních vod. Množství kalů závisí především na množství a kvalitě čištěných odpadních vod a na použité technologii jejich čištění. Neexistuje žádná univerzální metoda pro zpracování, využití, eventuálně likvidaci čistírenských kalů a tak rozdílnost přístupů k nakládání s čistírenskými kaly je značná (Kutil a Dohányos, 2005).

Všeobecně nejrozšířenější metodou zpracování surových kalů je jejich anaerobní stabilizace, při níž dochází k přeměně většiny rozložitelných organických látek do bioplynu za současné stabilizace a hygienizace kalu (Kutil a Dohányos, 2005).

### **3.6.5 Biologicky rozložitelný komunální odpad**

Biologicky rozložitelný komunální odpad (BRKO) je podskupinou biologicky rozložitelných odpadů (BRO), mezi které patří odpady, jež podléhají aerobnímu nebo anaerobnímu rozkladu. Mezi BRO řadíme například odpady ze zemědělství, průmyslu, lesnictví, potravinářství, a komunální odpad. Biologicky rozložitelný komunální odpad (BRKO) je kvantitativně významnou složkou BRO, kde v závislosti na oblasti, může být jeho podíl kolem 40 %. BRKO mají různorodé vlastnosti a proto je jejich sběr, zpracování a odstraňování problematické. BRKO mají také negativní vliv na životní prostředí v důsledku produkce skleníkových plynů (hlavně methan a oxid uhličitý), které se samovolně uvolňují z tělesa skládky, a proto dochází k jejich čerpání a následnému energetickému využití. Složení BRKO je velmi proměnlivé, závisí totiž na demografii obyvatelstva či typu lokality. Tyto odpady jsou složeny ze zbytků zeleniny a ovoce, květin, čaje, kávy, papíru, pečiva atd. Aplikace anaerobní digesce je na BRKO v praxi realizována pomocí bioplynových stanic nebo kompostáren, jejich investiční náklady jsou ale nepoměrně vyšší, než na zemědělské bioplynové stanice. Jejich počet je tedy stále nízký (Kára a kol., 2008).

## 3.7 Aplikace anaerobní technologie

Technologie anaerobní fermentace využitelné pro zpracování bioodpadů včetně BRKO lze rozdělit do dvou základních typů, a to na technologii mokré anaerobní fermentace prováděnou v různých typech míchaných reaktorů a suché anaerobní fermentace prováděnou v boxech či ležatých reaktorech. Mokrý fermentace je nejčastějším způsobem zpracování bioodpadů, v posledních letech se však v západní Evropě rozšiřují systémy suché fermentace, případně kombinace obou technologií (Dvořáček a kol., 2009).

### 3.7.1 Kategorizace bioplynových stanic

Bioplynové stanice můžeme kategorizovat podle vstupního materiálu dle Bačíka (2008) na stanice:

- zemědělské (farmářské BPS), jejichž vstupy lze hodnotit jako nejméně problematické. Zpracovávají převážně materiály ze zemědělské prvovýroby, zejména statková hnojiva (kejda, hnůj apod.) a cíleně pěstované plodiny (např. kukuřice) k energetickému využití. Jsou většinou situovány v areálech stávajících zemědělských provozů a zpracováním a stabilizací statkových hnojiv výrazně snižují dosavadní zatížení oblasti pachovými látkami.
- průmyslové (kofermentační BPS), které zpracovávají výhradně nebo v určitém podílu rizikové vstupy, např. jateční odpady, kaly ze specifických provozů, kaly z ČOV, tuky, masokostní moučku, krev z jatek či jiné potravinářské odpady. Pro fermentaci těchto vstupů je nezbytné pečlivě zvolit technologii zařízení a zpracovat kvalitní provozní řád zařízení.
- komunální - jsou zaměřeny na zpracování komunálních bioodpadů, zejména z údržby zeleně, vytríděných bioodpadů z domácností a restaurací a jídelen.

V souvislosti s kategorizací BPS je vhodné doplnit, že mezi bioplyn nepatří kalový plyn, vznikající na čistírnách odpadních vod, a skládkový plyn, vznikající na skládkách (Bačík, 2008).

### 3.8 Produkty anaerobní digesce

Výsledným produktem mokré anaerobní fermentace je bioplyn a fermentační zbytek, takzvaný digestát, který se skládá z pevné fáze – separátu a tekuté fáze – fugátu (Koutný, 2008).

Produktem suché anaerobní fermentace je bioplyn, anaerobně stabilizovaný materiál (pevná složka - fermentát) a perkolát – tekutá fáze (Vítěz a kol., 2011).

Digestát, jakožto zbytek po anaerobní digesci není odpadem, nýbrž organickým hnojivem. Stejně tak i jeho složky – separát a fugát, popř. fermentát a perkolát lze využít jako organominerální hnojiva, nebo jako surovinu pro zakládání kompostu. Výhodami digestátu jako hnojiva oproti stájovým hnojivům je redukce zápachu a redukce patogenních organismů, omezená klíčivost plevelů či zachovaný obsah živin a prekurzorů humusových látek (Váňa, 2007).

Perkolát se, jak již bylo výše uvedeno, používá pro inokulaci při suché anaerobní digesci, kdy se jím zkrápí suchá organická biomasa. Tato tekutá složka je využívána jako očkovací médium a zároveň zvlhčuje vstupní biomasu (Dvořáček a kol., 2009; Pospíšil 2011).

Pro inokulaci mokré (vlhké) anaerobní fermentace se používá takzvané inokulum. Jedná se o funkční anaerobní biomasu, která obsahuje co nejširší škálu anaerobních mikroorganismů. Proces inokulace je podstatný pro urychlení nástupu fermentačního procesu. V praxi i výzkumu se používá fugát spolu s kejdou či je využíváno recirkulace anaerobně stabilizovaného digestátu (Pastorek a kol., 2004; Gerndtová a Andert, 2008; Zábranská, 2013).

## 3.9 Rostliny využívané k produkci bioplynu

V dnešní době existuje rozmanitý sortiment jak v počtu druhů vhodných pro produkci bioplynu, tak v poměrném zastoupení složek fytomasy. Nejdůležitějším faktorem pro výběr vhodné plodiny je výnos sušiny z hektaru, ten je ovšem ovlivněn výnosotvornými prvky. Pro optimalizaci produkce methanu z bioplynu je nezbytné řídit se zastoupením polysacharidů, lipidů a proteinů ve fermentované fytomase, a počítat i s exkrementy z chovu hospodářských zvířat (Straka a kol., 2007; Wagner et al., 2012).

### 3.9.1 Kukuřice

Kukuřice setá (*Zea mays L.*) je statná až 5 m vysoká, po rýži a pšenici třetí nejpěstovanější obilnina s původem pravděpodobně na území dnešního Mexika (Novák a Skalický, 2012).

Kukuřice je plodina jednoletá a teplomilná, vzchází později než většina našich plodin. Seje se do širokých řádků, a tak bývá půda pod těmito porosty ohrožena erozí (Petříková, 2012).

Kukuřici vyhovují zejména teplejší oblasti České republiky. S rostoucí nadmořskou výškou klesají výnosy biomasy, zejména v polohách podhorských a horských oblastí, kde dochází k nedozrávání zrn. Plošné zastoupení kukuřice ve výrobních oblastech kukuřičných, řepařských, obilnářských a bramborářských je přibližně vyrovnané, pouze v pícninářských oblastech je její zastoupení velmi malé nebo zcela chybí (Leština, 2011).

Problematické může být zejména hnojení kukuřice. Potřeba dusíku činí 40 kg na 3 t sušiny siláže nebo 1,5 t zrna. Přičemž základní hnojení se pohybuje v dávkách 160 - 240 kg N.ha<sup>-1</sup>. Použití pesticidů na ochranu rostlin, je velmi žádané, neboť dochází k častému napadání škůdci (Vaněk a kol., 2007).

#### 3.9.1.1 Kukuřice pro produkci bioplynu

Vlivem šlechtitelských programů byla vytvořena řada odrůd vhodných přímo ke zpracování na bioplyn. Tyto odrůdy poskytují vysoké výnosy - až 20 t.ha<sup>-1</sup> sušiny (Seppälä et al., 2013).

Kukuřice je jednou z nejvyužívanějších plodin pro produkci bioplynu. Plodina se pro toto využití sklízí nejčastěji v mléčné voskové zralosti (Koloničný a Hase, 2011).

Celoroční provoz bioplynových stanic vyžaduje kontinuální zásobování fermentoru organickou hmotou. Z tohoto důvodu je nutné vstupní rostlinnou surovinu konzervovat. Nejrozšířenějším způsobem konzervace je silážování a nejvhodnější plodinou pro tento způsob uchování biomasy je právě kukuřice. Tato plodina se vyznačuje i dalšími přednostmi, pro které je v současnosti k výrobě bioplynu nejvíce využívána. Jedná se zejména o vysoký výnos biomasy z jednotky plochy, velmi dobrý výtěžek bioplynu z 1 kg sušiny, propracovanou pěstební a konzervační technologii a výbornou silážovatelnost spojenou s dlouhodobou tradicí pěstování kukuřice v našich podmínkách (Fuksa et al., 2012).

Složení kukuřičné nadzemní biomasy má přímý vliv na objem vyprodukovaného bioplynu a na procentuální zastoupení methanu. Optimálním termínem sklizně kukuřice na siláž je konec voskové zralosti u raných a poloraných odrůd a začátek plné zralosti u odrůd pozdních, kdy má kukuřice nejvyšší podíl sušiny a je stále silážovatelná. Siláž poskytuje vyšší výnosy bioplynu. Nejvyšší výtěžnost bioplynu je dosažena při digesci celých rostlin, neboť při digesci zrna bez stonku dochází k nižší produkci methanu a to až o 70 % (Amon et al., 2007).

Bruni et al. (2010) nezjistili významný vliv odrůdy čerstvě sklizené kukuřice na produkci bioplynu ani na jeho složení, přičemž největší výtěžnost bioplynu a methanu měly později sklizené varianty s vyšším obsahem sušiny oproti rané sklizni. Kukuřičná siláž má potenciál poskytnout vyšší produkci bioplynu oproti čerstvé biomase kukuřice, ale se sníženým obsahem methanu (Pastorek a kol., 2004). Vzhledem k vysokému poměru C:N je nezbytné kukuřičnou siláž nebo čerstvou kukuřičnou biomasu kofermentovat spolu s dusíkatým substrátem, jakým je například chlévská mrva. Seppälä et al. (2013) uvádí nejvyšší výtěžnost methanu při kofermentaci s 40 % kukuřice a 60 % chlévské mrvy, přičemž potřeba nutrientů je zajištěna právě chlévskou mrvou, neboť kukuřice obsahuje velmi nízké koncentrace mikroelementů.

Optimální obsah sušiny podporující maximální příjem krmiva zvířaty je 30 – 35 %, pro bioplynové stanice postačuje taková sušina (28 – 32 %), která zamezí odtoku silážních šťáv. Kukuřice sklizená při 32 % sušiny, má pro produkci methanu méně příznivé vlastnosti, neboť při dozrávání se zvyšuje podíl obtížně fermentovatelného ligninu a klesá i degradovatelnost



vlákniny. Zároveň se zvyšuje i podíl palic na výnosu, a tím narůstá výnos škrobu, který není pro fermentační zařízení ve vysokém množství potřebný z důvodu rychlého spotřebování na mastné kyseliny a možnému poklesu pH (Fuksa et al., 2012).

Celkový biomethanový potenciál kukuřice je velmi vysoký. Čerstvá hmota kukuřice poskytuje vysoké výnosy biomasy – 60 t čerstvé hmoty na hektar. Při procentuálním zastoupení methanu v celkovém bioplynu až 65 % objemových, s produkcí bioplynu až  $0,526 \text{ m}^3 \cdot \text{kg}^{-1} \text{ org. sušiny}$ . Oproti kukuřičné siláži, která poskytuje až  $40 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$  výnosu, s nižším procentuálním zastoupením methanu na bioplynu – 61 % objemových. S celkovou produkcí  $557 \text{ l}$  ( $0,557 \text{ m}^3 \cdot \text{kg}^{-1} \text{ org. suš.}$ ) bioplynu z kilogramu organické sušiny (Pastorek a kol., 2004).

### **3.9.2 Trvalé travní porosty**

Trávy patří k ekologicky nejúspěšnějším rostlinám, čeleď lipnicovitých je rozšířena po celém světě a převažuje v mnohých rostlinných společenstvech. Za příznivých podmínek mají trávy dominantní postavení v trvalých travních porostech (Gerndtová a Andert, 2008).

Trvalé travní porosty zejména v horských a podhorských oblastech svým výrazným zastoupením na zemědělské půdě (22,2 %) příznivě ovlivňují péči o tuto půdu a způsob hospodaření. Produkční funkce trvalých travních porostů v minulosti jednoznačně byla orientovaná pro krmivářské účely zejména výživu hospodářských zvířat (skot, ovce). V současnosti nabývá na významu alternativní využití produkce trvalých travních porostů zejména pro energetické využití (spalování travní biomasy, bioplyn) (Frydrych a kol., 2007).

Trvalé travní porosty představují ve středoevropských podmínkách významný krajinný prvek i prvek soustavy hospodaření na půdě. Setrvání travních porostů je podmíněno jejich pravidelným využíváním a obhospodařováním, bez něhož by se většina luk a pastvin postupnou regresivní sukcesí přeměnila v lesní společenstvo. Cílené obhospodařování travních porostů je proto nutné k zachování celkové diverzity a k udržení jejich nezastupitelných funkcí v krajině. Využití biomasy pro účely produkce bioplynu může proto pozitivně přispět k udržení kvalitního stavu trvalých travních porostů v naší krajině (Fuksa et al., 2012).

Pro efektivní využití dočasných travních porostů na orných půdách je potřeba dusíku  $150 - 250 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ . Trvalé travní porosty využívané extenzivním způsobem není třeba hnojit

z důvodu přítomnosti leguminóz a jejich schopnosti vázat pomocí mikroorganismů vzdušný dusík (Vaněk a kol., 2007).

Kvalita luční píce je ale oproti kukuřici podstatně horší pro potřeby bioplynových stanic (vzhledem k vyššímu zastoupení dusíkatých látek a ligninu) a také výnosy jsou mnohem nižší. Výhodou trvalých travních porostů je snížení každoročních nákladů na zakládání jednoletých porostů, a také možnost skladovatelnosti travní biomasy pomocí silážování nebo senážování (Kramoliš, 2004).

### 3.9.2.1 Trvalé travní porosty pro produkci bioplynu

Travní fytomasa je materiál, který lze pro anaerobní fermentaci velmi dobře využít, neboť splňuje základní předpoklady, které jsou na vstupní substrát pro výrobu bioplynu kladeny. Obsahuje vysoké procento organické hmoty, blíží se optimálnímu poměru C:N a obsahuje málo popelovin. Při kofermentaci s kejdou, by měl být optimální podíl travní fytomasy ve zpracovávaném substrátu 35 – 50 %, aby bylo dosaženo co nejvyšší produkce bioplynu. Při vyšším podílu trávy produkce bioplynu klesá. Proces je ovlivněn i stářím fytomasy, přičemž nejvhodnější je fytomasa z ranějších sklizní (vegetativní fáze). Při přechodu do fáze generativní se produkce bioplynu snižuje a rovněž kvalita bioplynu klesá (nižší podíl methanu) (Fuksa et al., 2012).

Pro výrobu bioplynu lze využít biomasu jak lučních porostů, které je však nutné sklízet v ranější fázi, tak přebytečnou hmotu z pastevních areálů (posečené nedopasky, sklizená nadbytečná hmota z nerovnoměrného nárůstu píce v jarním období). Kvalita biomasy je ovlivněna botanickým složením porostů. Floristické složení trvalých travních porostů je výslednicí interakce všech ekologických faktorů a podmínek obhospodařování. Za příznivých podmínek v těchto porostech převažují trávy nad jetelovinami a ostatními dvouděložnými bylinami. Přirozený luční porost se skládá zpravidla z 50 – 70 druhů vyšších rostlin (Fuksa a kol., 2012).

Pastorek a kol. (2004) uvádí u jetelotravní směsi výtěžnost bioplynu na kilogram organické sušiny 580 litrů ( $0,58 \text{ m}^3 \cdot \text{kg}^{-1}$  organické sušiny) při 55% obsahu methanu z bioplynu. V České republice se výnosy trvalých travních porostů v současné době ustálily na 3,5 – 4,5

t.ha<sup>-1</sup> sušiny z jedné seče (Kramoliš, 2004). Výnosy methanu z jednotlivých druhů pícních trav se příliš neliší. Ovsík vyvýšený (*Arrhenatherum elatius* L.) dosahuje 0,263 m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>.kg<sup>-1</sup> org. sušiny, oproti tomu srha říznačka (*Dactylis glomerata* L.) dosahuje 0,231 m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>.kg<sup>-1</sup> org. sušiny a celkový luční porost produkuje 0,216 m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>.kg<sup>-1</sup> org. sušiny (Stražil a kol., 2011).

Při použití travních porostů pro produkci bioplynu je vhodné sklizenou biomasu senážovat a získat tak skladovatelný materiál použitelný i v průběhu roku (siláž s vyšším obsahem sušiny) (McEniry et al., 2014).

## 3.10 Alternativní plodiny vhodné k produkci bioplynu

Uvádí se kolem jednoho sta rostlinných druhů z celého světa, které byly vytipovány jako potenciální energetické plodiny. Jednoleté byliny poskytují rychlou tvorbu biomasy a z pěstitelského hlediska nejsou náročné na mechanizaci, zajímavěji se ale jeví vytrvalé druhy a rychle rostoucí dřeviny, které po fázi narůstání dávají vyšší produkci biomasy a není nutné každoroční zakládání porostu (Ježková, 2002).

Prozatímni nevýhodou těchto plodin je malá propracovanost technologií sklizně, úpravy, skladování a využití. Některé z těchto rostlin se svými vlastnostmi blíží spíše obilovinám, jiné rychle rostoucím dřevinám (Pastorek a kol., 2004).

### 3.10.1 Konopí seté

Konopí seté (*C. sativa*) je velmi starou kulturní plodinou dorůstající 2 – 6 metrů, pocházející z Asie, a pěstovanou pro pevná vlákna a olejnatá semena. Konopí seté spadá taxonomicky do rodu konopí (*Cannabis*), čeleď konopovité (*Cannabaceae*), řád kopřivotvaré (*Urticales*), třída dvouděložné (*Magnoliopsida*), oddělení krytosemenné (*Magnoliophyta*), podříše cévnaté rostliny (*Tracheophytae*), říše rostliny (*Plantae*) (Novák a Skalický, 2012).

#### 3.10.1.1 Agrotechnika

Konopí seté se v osevním postupu zařazuje přednostně po okopanině, jetelovině nebo luskovině, případně lze zařadit i po obilnině. Na podzim se provádí středně hluboká orba, jarní předseťová příprava maximálně do hloubky 5 - 6 cm. Dávky dusíku se stanovují v závislosti na předplodině a půdně klimatických podmínkách. Setí konopí probíhá od první dekády dubna do třetí dekády dubna (vyšší polohy), a to bezezbytkovým secím strojem do hloubky 4 - 5 cm. Po zasetí je možné plochu zaválet rýhovanými válci. Pro chemickou ochranu se pak používají přípravky uvedené v „Seznamu registrovaných přípravků na ochranu rostlin“. Osivo se nemoří, herbicidy ani pesticidy preemergentní ani postemergentní se běžně nepoužívají, protože kvalitně založený porost má dostatečnou konkurenceschopnost potlačit plevel. Zoocidy se porost povinně ošetřuje, zatímco ochrana proti houbovým chorobám se neprovádí, stejně tak ošetření morforegulátory (Holubář, 2013).

Konopí seté (technické konopí) poskytuje vysoký energetický potenciál. Jeho využití ve formě briket, pelet na přímé spalování, nebo jako plodina pro produkci bioplynu, popřípadě ethanolu. V porovnání s ostatními plodinami poskytuje stejně vysoký, ne-li vyšší energetický potenciál než běžně používané plodiny (kukuřice, řepa cukrová) (Prade et al., 2012).

Požadavky technického konopí na hnojiva, zejména pak dusík se odvíjí od předplodiny pěstované na daném pozemku. Konopí pěstované po okopaninách nárokuje 60 - 80 kg N.ha<sup>-1</sup>, po obilninách pak 80 - 100 kg N.ha<sup>-1</sup> (Holubář, 2013).

### 3.10.1.2 Konopí pro produkci bioplynu

Technické konopí podává vysoké výnosy na hektar, až 25 t.ha<sup>-1</sup> sušiny. V normálních podmínkách však 12 - 18 t.ha<sup>-1</sup> (Struik et al., 2000; Prade et al., 2011). Přičemž sklizená sušina o hmotnosti 15 t obsahovala přibližně 14,6 tun organické a tedy degradovatelné sušiny. Obsahy sušiny jsou ovlivňovány více dobou seče než dávkami dusíku (Prade et al., 2011). Má také nízké dopady na životní prostředí oproti ostatním běžně v Evropě používaným plodinám pro produkci bioplynu (kukuřice, řepa cukrová). Konopí je významné především v chladnějších oblastech Evropy a vyšších nadmořských výškách, a to z důvodu kompenzace nižších výnosů obilnin v těchto regionech (Kreuger et al., 2011).

Nadzemní biomasa konopné rostliny obsahuje řadu látek využitelných v anaerobní fermentaci. Stonky obsahují lignocelulózová vlákna a pazdeří, semena pak lipidy (Honzík, 2004). Jak již bylo výše uvedeno, potenciál lipidů a lignocelulotických komplexů pro anaerobní digesce je veliký (Pastorek a kol., 2004; Wagner et al., 2013).

Výnosy methanu z celých rostlin činí okolo 0,25 m<sup>3</sup>.kg<sup>-1</sup> organické sušiny. Přičemž vzorky z jednotlivých průběžných sečí nevykazovaly rozdíly ve vyprodukovaném množství bioplynu. Kreuger et al. (2011) popisuje i výtěžnost methanu 0,3 m<sup>3</sup>.kg<sup>-1</sup> organické sušiny. Přirovnává tak výtěžky methanu anaerobní digesce konopí k výnosu z vrb. Procentuální zastoupení methanu na bioplynu se pohybuje v rozmezí 47 – 61 % obj. (Adamovičs et al., 2014).

Pastorek a kol. (2004) uvádí průměrný výnos bioplynu z konopné siláže 0,26 - 0,29 m<sup>3</sup>.kg<sup>-1</sup> org. sušiny, při maximální výtěžnosti až 0,409 m<sup>3</sup>.kg<sup>-1</sup> organické sušiny, což poukazuje na jistou možnost předúpravy a následné zvýšení výnosů methanu. Předúprava parou ani

enzymatická hydrolýza ale neposkytly významné zvýšení výnosu bioplynu (Kreuger et al., 2011).

Konopí je perspektivní plodina pro anaerobní digesci z hlediska hektarových výnosů a rozložitelnosti jeho biomasy (více jak 50 %). Poskytuje sice nižší výnosy bioplynu než kukuřice, ale vyšší než rychle rostoucí dřeviny (Kreuger et al., 2011).

### **3.10.2 Topinambur hlíznatý**

Topinambur hlíznatý (*Helianthus tuberosus L.*) je nenáročná plodina z čeledi *Asteraceae*, s delší vegetační dobou (6-8 měsíců). Pěstování je uskutečňováno na jeden nebo na více let, přičemž dobré výnosy poskytuje po dobu pěti po sobě jdoucích let (Honsová, 2012).

Jedna rostlina topinamburu může vytvořit 30 až 70 stonkových hlíz různé velikosti, což umožňuje jeho vegetativní rozmnožování. Nadzemní část biomasy může dorůst velikosti od 2 do 4 metrů. Sklizeň topinamburu (*Helianthus tuberosus L.*) umožňuje využití nadzemních i podzemních částí této plodiny, a tím se uskutečňuje 100 % zužitkování biomasy (Izdebski, 2009).

Izdebski (2009) také uvádí vyrovnanost výnosu z prvního a druhého roku pěstování Topinamburu. Ten může poskytnout velmi vysoké výnosy biomasy a to až 60 t.ha<sup>-1</sup>.rok<sup>-1</sup> čerstvé hmoty, z čehož hlízy tvoří třetinu výnosu.

Nejrychlejšího nástupu produkce bioplynu bylo dosaženo při digesci podzemní části rostliny – stonkové hlízy, která obsahuje velký podíl snadno rozložitelných látek sacharidické povahy, zejména pak inulin. Při digesci nadzemní části rostliny, je rychlost produkce bioplynu téměř konstantní, neboť limitujícím mechanismem je hydrolýza hůře rozpustných látek, zejména celulózy. Při použití topinamburu jako substrátu pro výrobu bioplynu byla zjištěna vhodnost této plodiny, při průměrné produkci 0,186 m<sup>3</sup>.kg<sup>-1</sup> sušiny z celých rostlin (Škoda a kol., 2010).

### 3.10.3 Ozdobnice čínská

Ozdobnice čínská (*Miscanthus sinensis* N. J. Andersson) se botanicky řadí do třídy jednoděložné (*Monocotyledonae*), čeledi lipnicovité (*Poaceae*), tribus vousatkovité (*Andropogoneae*). Ozdobnici lze obecně charakterizovat jako vytrvalou travu vysokého vzrůstu typu přeměny uhlíku C<sub>4</sub>, dosahující za příznivých podmínek přes 30 tun výnosu sušiny. Ozdobnice dobře využívá sluneční energii, vodu, živiny, je značně odolná proti chorobám a škůdcům. Stébla jsou pevná, dřevnatějící, u *Miscanthus giganteus* vysoká přes 3 metry. Oddenek je krátký, často dřevnatý. Na rozdíl od kořenů se rhizomy ozdobnice vyskytují pouze v povrchové vrstvě půdy (Strašil a Moudrý, 2011).

Ozdobnici se nejlépe daří na lehčích strukturních půdách, spíše v teplejších oblastech s vyšším množstvím srážek. Doporučují se humózní písčité půdy s vysokou hladinou podzemní vody (ne více než 600 mm) a pokud možno s malým zaplevelením vytrvalými plevelely (pýr, šťovíky) (Koloničný a Hase, 2011).

Strašil a Moudrý (2011) dále uvádějí, že pro sklizeň ozdobnice (*Miscanthus*) pro energetické účely je optimální jarní sklizeň z hlediska obsahu sušiny a následného skladování. Výnosy sušiny podzimní sklizně fytohmoty činily až 8,86 t.ha<sup>-1</sup>. Nevýhodou pěstování ozdobnice jsou vysoké náklady při zakládání porostů zapříčiněné drahou sadbou. Vliv odrůdy nebyl spolehlivě prokázán.

*Miscanthus* poskytuje poměrně dobré výnosy bioplynu - 0,34 m<sup>3</sup>.kg<sup>-1</sup> org. sušiny. Při objemu methanu 58 – 64 % bioplynu. Při použití předúpravy horkou parou (220 °C po 10 minut) došlo k slabému nárůstu výtěžnosti bioplynu, celková výtěžnost methanu se nezměnila od neupravené varianty (Menardo et al., 2012).

### 3.10.4 Krmný šťovík

Krmný šťovík (*Rumex tianschanicus* L. x *Rumex patientia* A. Los.) byl vyšlechtěn v 80. letech jako nová krmná plodina profesorem J. A. Uteušem z Ukrajiny. Jedná se o křížence a významně převyšuje původní rostliny jak kvalitou krmivářské produkce, tak i výnosem nadzemní hmoty a semen (Ust'ak, 2002).

Dlouhodobé polní experimenty potvrdily, že šťovík Uteuša je velice perspektivní vysokoprodukční energetickou plodinou, velice plastickou co do termínů setí, agrotechniky, hnojení a stanovištních podmínek. Při jednorázové roční sklizni v suchém stavu tato plodina stabilně poskytuje v průměru cca 14-16 t.ha<sup>-1</sup> sušiny, což dokonce převyšuje úroveň běžně dosahovaných výnosů rychle rostoucích dřevin (cca 12-14 tun.ha<sup>-1</sup> v přepočtu na rok). Výhodou pěstování a sklizně je možnost použití běžné zemědělské techniky a nízké provozní náklady (Uš'ak, 2002).

Nejdůležitější předností šťovíku je jeho vytrvalost. Brzy z jara obrůstá kompaktním porostem, poskytuje proto ranou sklizeň, ale současně dokonale chrání půdu proti erozi. Šťovík je navíc tolerantní vůči nízkým teplotám, proto je vhodný i do vyšších poloh, kde se kukuřici ne vždy dobře daří (Petříková, 2009).

Vysoká kvalita krmného šťovíku je významná také pro využití v bioplynových stanicích. Stárnutí šťovíkové píce, které se mimo jiné projevuje klesajícím obsahem dusíkatých látek, není ale pro využití v BPS (bioplynová stanice) na závadu (na rozdíl od použití ke krmení), ale spíš naopak. Avšak velmi důležitý je jeho vysoký obsah redukujících cukrů, který při stárnutí píce neklesá. Průvodním jevem stárnutí je ale také snižování „vodnatosti“ krmného šťovíku a tudíž zvyšování jeho sušiny. To je jev, který je rovněž pro využití v BPS žádoucí, neboť je třeba, aby nebyla silážovaná biomasa příliš vlhká. Optimální termín sklizně pro účely produkce bioplynu je proto ve stádiu plného až končícího kvetení, což bývá přibližně kolem poloviny června. V této době vytváří šťovíkový porost také největší nárůst hmotnosti, což je důležité pro získání co nejvyšších výnosů této biomasy (Petříková, 2011).

Zastoupení methanu činí u krmného šťovíku 65 – 70 % z celkové produkce bioplynu z čerstvé hmoty (Kára a Petříková, 2007). To je způsobeno vyšším celkovým zastoupením dusíkatých látek než má například kukuřice nebo vojtěška (Uš'ak, 2002). Celkové výnosy bioplynu pak činily 0,30 m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>.kg<sup>-1</sup> organické sušiny (Kára a Petříková, 2007).

### **3.10.5 Rychle rostoucí dřeviny**

Rychle rostoucí dřeviny (topoly a vrby) jsou lignokultury určené k produkci biomasy pro energetické účely. Jedná se o porost dřevin, které se sklízí v pravidelném intervalu (obmýetí) podle účelu použití dřevní hmoty. Nejčastěji je to 2 - 7 let, přičemž delší doba obmýetí se ukazuje



být ekonomicky výhodnější. Trvanlivost takové plantáže je cca 25 let. Výnos rychle rostoucích dřevin může činit od 4 do 12 t sušiny.ha<sup>-1</sup>.rok<sup>-1</sup> (Weger, 2012). Na nejvhodnějších stanovištích s příslušnými odrůdami může být dosaženo průměrného ročního přírůstku 10 - 15 t.ha<sup>-1</sup> sušiny. Reálné je však uvažovat v podmínkách ČR s výnosem 5 - 10 t.ha<sup>-1</sup> sušiny ročně (Pastorek a kol., 2004).

Výnosy bioplynu se odvíjejí od složení substrátu. Jelikož se jedná o silně lignocelulozové plodiny, lze předpokládat nižší výnosy biomethanu než u běžných plodin. Důležitá je také otázka předúpravy. V současné době se rychle rostoucí topoly a vrby používají především pro tvorbu peletek a briket pro přímé spalování (Celjak, 2010; Straka a kol., 2006).

## 4 Experimentální část

### 4.1 Materiál a metody

Experiment pro zjištění výtěžnosti bioplynu byl rozdělen do dvou částí. První, vegetační část experimentu poskytla materiál pro účely druhé, laboratorní části experimentu, ve které již probíhaly vlastní analýzy produkce a složení bioplynu.

#### 4.1.1 Vegetační část experimentu

Vegetační část experimentu byla pod vedením katedry agroenvironmentální chemie a výživy rostlin založena na demonstračním a pokusném pozemku České zemědělské univerzity v Praze, kde byly pěstovány rostliny technického konopí (*Cannabis sativa L.*) maďarské dvoudomé (dioecické) odrůdy Tiborszallási.

Pozemek, kde probíhal experiment, byl vyměřen na 15 m x 10 m, a rozdělen na 12 stejně velkých parcel, jedna o ploše 12,5 m<sup>2</sup>. V rámci pokusu byly realizovány celkem 4 varianty odlišného typu hnojiva a to ve třech opakováních. V první, kontrolní variantě bylo použito hnojivo NPK ve formě ledku amonného s vápencem o obsahu 27 % N. Druhá varianta byla hnojena odpovídající dávkou separátu vzhledem ke kontrolní variantě, separát pocházel ze zemědělské bioplynové stanice Krásná Hora nad Vltavou. Třetí varianta zahrnovala dělenou dávku separátu a digestátu v poměru 50:50, obě hnojiva rovněž ze zemědělské bioplynové stanice v Krásné Hoře nad Vltavou. Varianta čtvrtá byla hnojena fugátem pocházejícím ze stejné BPS.

Rostliny byly zasety dne 12. 5. 2014, přičemž během vegetačního pokusu došlo ke čtyřem odběrům určených pro experimentální část výtěžnosti bioplynu s daty 20. 6. 2014, 7. 7. 2014, 31. 7. 2014, poslední odběr byl proveden 21. 8. 2014, kdy byl vegetační pokus ukončen.

Pro potřeby experimentální části výtěžnosti bioplynu probíhající ve výzkumné stanici Červený Újezd, byly sklizeny celé rostliny technického konopí.

### **4.1.2 Příprava materiálu před nasazením testu**

Sklizená konopná biomasa byla očištěna od zeminy, zvážena a následně usušena za teploty 55 °C do konstantní hmotnosti vzorku. Jednotlivé vzorky byly následně namlety na rotačním mlýnku Retsch SM 10 na frakci o velikosti 2 mm, čímž byla docílena homogenita vzorků a zvětšení aktivního povrchu pro mikroorganismy. Před nasazením testu byly vzorky dosušeny za teploty 55 °C z důvodu eliminace vázání volné vzdušné vlhkosti.

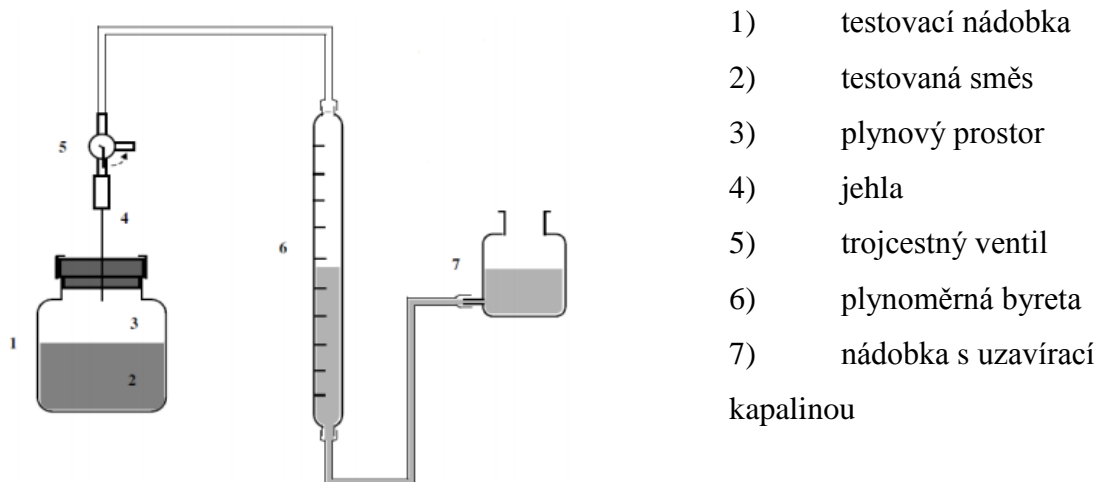
### **4.1.3 Nasazení testu**

Každý ze 4 odběrů z vegetační části pokusu představoval 4 vzorky dle typu přidaného hnojiva, k tomu 2 kontrolní varianty samotného inokula ze zemědělské bioplynové stanice Krásná Hora nad Vltavou. Celkem bylo k dispozici 18 vzorků a to v 5 opakováních. Ke zjištění produkce bioplynu a methanu v testovaných vzorcích byl použit anaerobní batch (tzv. vsázkový) test, založený dle metodiky Rosenberga (2010). Nasazení testu se uskutečnilo do testovacích nádobek SIMAX o objemu 120 ml. Substrát byl dávkován po 0,7 g k 30 g inokula, následně byl obsah lahvičky doplněn vodou do celkového objemu 80 ml. Takto připravené vzorky byly uzavřeny těsnícím septem a plastovým víčkem, čímž bylo zajištěno plynotěsné uzavření vzorku. Lahvičky byly následně kultivovány v termoboxu při teplotě  $40 \pm 1$  °C po dobu 60 dnů.

### **4.1.4 Měření produkce bioplynu**

Produkce bioplynu byla zjišťována pravidelným měřením (nejdříve dvakrát denně, dále pouze jednou, dle denní produkce bioplynu). Při měřeních bylo použito metody objemového měření produkce plynu, která je založena na principu měření objemu kapaliny plynem vytlačené. Měření bylo zjišťováno, pomocí plynoměrné byrety (Obrázek 1). Ta byla naplněna roztokem NaCl titrovaným na methylooranž, který zabraňuje absorpci složek bioplynu – především CO<sub>2</sub>, který je ve vodě dobře rozpustný, což ovlivňuje měření (Rosenberg, 2010).

Obrázek 1. Schéma plynoměrné byrety (Rosenberg, 2010).



Trojcestný ventil je nejdříve nutné nastavit do takové polohy, ve které bioplyn směřuje do byrety a výpustní kohout je uzavřen. Následně se jehlou propíchne gumové septum a vyčká se přechodu bioplynu do byrety. Poté se vyjme ze stojanu nádobka s roztokem (dělicí nálevka) spojená s byretou, ručně se vyrovná hladina v nádobce s hladinou v byretě a po ustálení hladin se zaznamená hodnota vytlačeného objemu roztoku v ml. Dělicí nálevka se odloží zpět do stojanu, změnou polohy trojcestného ventilu se vypustí bioplyn z byrety. Stejný způsob měření se opakuje u všech testovaných lahviček. Z počátku testu se produkce bioplynu měřila každý den a s ubývajícím produkcí bioplynu se intervaly prodlužovaly (Rosenberg, 2010).

#### 4.1.5 Stanovení obsahu methanu v bioplynu

K měření obsahu methanu a oxidu uhličitého byl použit plynový chromatograf s teplotně vodivostním detektorem (TCD) Master GC od firmy DANI Instruments, kde byl nosným plynem vodík. Složení bioplynu se měřilo dvakrát týdně pro porovnání změn složení. V pozdější fázi pokusu se plyn měřil pouze jednou týdně. Z časových důvodů se měřily pouze 3 vzorky ze stejné varianty. K odběru bioplynu byla použita chromatografická mikrostříkačka o objemu 500  $\mu$ l. Pro vlastní analýzu bylo odebráno 200  $\mu$ l vzorku bioplynu, který byl následně aplikován do chromatografu.

#### 4.1.6 Stanovení sušiny biomasy

Celkový obsah sušiny biomasy byl stanoven sušením čerstvě sklizené biomasy teplotou 55°C. Pro výpočet procentuálního zastoupení sušiny v biomase byl použit následující výpočetní vztah:

$$\% \text{ sušiny} = \frac{m_s}{m_\zeta} \times 100$$

$m_s$  = hmotnost suché biomasy

$m_\zeta$  = hmotnost čerstvé biomasy

#### 4.1.7 Stanovení organické sušiny biomasy

Stanovení organické sušiny biomasy (spalitelný podíl) bylo stanoveno rozdílem hodnoty hmotnosti popelovin získaných po spalování v muflové peci při teplotě 550 °C do konstantní hmotnosti sušiny biomasy (viz výše). Výsledné hodnoty dosáhneme pomocí vztahu:

$$m_{os} = m_s - m_p$$

$m_{os}$  = hmotnost organické sušiny biomasy

$m_s$  = hmotnost sušiny biomasy

$m_p$  = hmotnost popelovin biomasy

#### 4.1.8 Stanovení degradace organické sušiny

V rámci experimentu byla stanovena degradace organického podílu, která je vypočtena z rozdílu hmotností lahviček (hm. lahvičky + vzorku + inokulum + voda) na počátku a na konci pokusu.

Degradace organické sušiny vzorků byla snížena o hodnotu degradace samotného inokula – kontrolního vzorku dle vztahů:

$$d_b = (m_{vz} - m_{vk}) + d_i$$

$$d_i = m_{iz} - m_{ik}$$

$d_b$  = degradace organické sušiny

$m_{vz}$  = hmotnost vzorku na začátku pokusu

$m_{vk}$  = hmotnost vzorku na konci pokusu

$d_i$  = úbytek inokula ve vzorku kontroly

$m_{iz}$  = hmotnost inokula na začátku

$m_{ik}$  = hmotnost inokula na konci

#### **4.1.9 Stanovení pH inokula**

Ke stanovení pH inokula byl použit pH-metr IQ 150 s elektrodou IS FET PH77-SS, který po ponoření skleněné elektrody do kádinky se vzorkem inokula měří automaticky. Před použitím je nutné elektrodu opláchnout destilovanou vodou.

#### **4.1.10 Zpracování dat**

Ke zpracování dat, tvorbě grafů a k provedení matematicko-statistických operací byl použit program Excel společnosti Microsoft z edice Office 365, licence poskytnuta Českou zemědělskou univerzitou v Praze.

## 4.2 Výsledky

### 4.2.1 Vlastnosti biomasy vzorků pro anaerobní digestci

Pro experiment stanovení výtěžnosti bioplynu a methanu byly odebrány vzorky rostlin konopí v různých vegetačních fázích z variant odlišně hnojených vedlejšími produkty bioplynové stanice (viz kapitola 9.1. Materiál a metody). Následná anaerobní digestce těchto vzorků měla prokázat hypotézu, že odlišné hnojení nebude mít vliv na produkci bioplynu, na rozdíl od termínů odběru.

Dle výsledků znázorněných v tabulce č. 2 můžeme pozorovat nárůst sušiny v průběhu vegetace, který koresponduje se stářím rostlin. Sušina jednotlivých variant hnojení se významně nemění. Rostliny odebrané v prvním odběru byly nízkého vzrůstu o přibližné velikosti 20 - 30 cm s nízkým obsahem sušiny ( $21,37 \pm 0,09$  %). Rostliny druhého odběru dosahovaly velikosti již 2 - 2,5 m, jejich celková sušina byla vyšší než u odběru prvního ( $27,75 \pm 0,9$  %). Rostliny třetího a čtvrtého odběru dosáhly již maximálního růstu a celková velikost rostlin se pohybovala v rozmezí 3,5 – 4 m. Rostliny třetího odběru obsahovaly sušinu v zastoupení ( $30,83 \pm 1,1$  %). U rostlin čtvrtého odběru již bylo patrné dřevnatění stonkové části, čemuž odpovídá i vyšší zastoupení sušiny z celkové biomasy ( $32,25 \pm 0,27$  %).

Vegetační fáze rostlin z jednotlivých odběrů byly zařazeny pomocí makrofenologické stupnice dle Mediavilla et al. (1998). První odběr dosahoval fáze pěti pravých listů – kód 1010. Druhý odběr fáze tvorby květu s kódem 2001. Třetí odběr byl proveden u rostlin ve fázi květu - kód 2100 pro samčí rostliny a 2200 pro rostliny samičí. Čtvrtý odběr pak odpovídal kódům 2104 pro samčí rostliny a 2204 pro samičí rostliny značících zralost 50 % semen.

Tabulka č. 2 - Procentuální zastoupení sušiny v biomase.

Obsah sušiny v biomase [%]				
	Varianta			
Odběr	NPK	Separát	Digestát	Fugát
1. odběr	$21,22 \pm 0,25$	$21,39 \pm 0,25$	$21,44 \pm 0,88$	$21,46 \pm 0,18$
2. odběr	$26,49 \pm 1,62$	$28,59 \pm 9,21$	$27,08 \pm 10,05$	$28,87 \pm 2,60$
3. odběr	$31,84 \pm 3,69$	$30,30 \pm 0,41$	$29,25 \pm 4,92$	$31,91 \pm 3,79$
4. odběr	$32,51 \pm 1,14$	$32,51 \pm 2,18$	$32,13 \pm 1,73$	$31,87 \pm 1,73$

Vlastnosti inokula, použitého pro aktivaci procesu anaerobní digesce v batch testech a jako kontrolní vzorek pro porovnání jednotlivých variant, jsou popsány v tabulce č. 3. Analýzy byly provedeny před nasazením testu.

Tabulka č. 3 – Vlastnosti inokula

Inokulum		
pH	sušina [%]	organická sušina [%]
8,14	6,07	71,72

## 4.2.2 Produkce bioplynu

Produkce bioplynu byla měřena ve výzkumné stanici Červený Újezd - v termokomoře, kde byly udržovány mezofilní podmínky anaerobní digesce (teplota  $40 \pm 2$  °C) po dobu 60 dnů (cca 1443 hodin). Měření produkce bioplynu probíhalo v pravidelných časových intervalech, v prvních dnech vysoké produkce bioplynu 1x denně, později 3x týdně a v posledních dnech minimální produkce bioplynu pouze 1x týdně. Celkové kumulativní produkce bioplynu jsou uvedeny v tabulce č. 4 a byly vypočítány jako suma celkových produkcí jednotlivých opakování a jsou vztažena na 0,7 g sušiny biomasy konopí, tedy použité navážky substrátu.

Tabulka č. 4 - Celkové produkce bioplynu.

Celková produkce bioplynu [ml]				
	Odběr			
Varianta	1. odběr	2. odběr	3. odběr	4. odběr
Inokulum	57,02 ± 6,14	57,02 ± 6,14	69,32 ± 4,02	69,32 ± 4,02
NPK	390,4 ± 9,48	403,64 ± 9,68	410,92 ± 10,82	428,6 ± 14,74
Separát	387,1 ± 9,66	360,56 ± 12,16	408,24 ± 8,33	433,34 ± 9,54
Digestát	391 ± 8,04	381,98 ± 9,53	368,2 ± 21,64	437,48 ± 24,05
Fugát	394,48 ± 6,35	370 ± 10,69	391,34 ± 9,03	427,38 ± 17,56

Nejvyšší naměřená kumulativní produkce bioplynu byla u všech vzorků ze 4. odběru, čímž se potvrdila hypotéza vyšší produkce z později sklizených rostlin konopí. Důkazem je i vyšší produkce 4. odběru v porovnání s 3. odběrem, přestože se obsahy sušin těchto odběrů výrazně nelišily. Dle předpokladu se od sebe v produkci bioplynu nelišily ani jednotlivé varianty hnojení ze stejných odběrů. Nejvyšší naměřené produkce dosáhla varianta digestát ve 4. odběru s celkovou kumulativní produkcí bioplynu  $437,48 \pm 24,05$  ml. Naopak, nejnižší produkce bylo dosaženo u vzorku separát z 2. odběru o celkové kumulativní produkci bioplynu



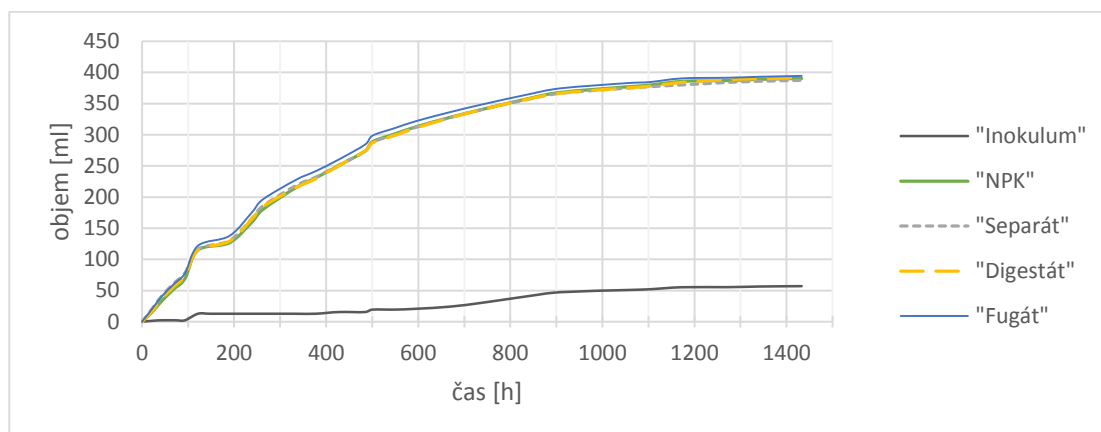
360,56 ± 12,16 ml. U některých vzorků 2. odběru bylo dosaženo nižší než předpokládané produkce bioplynu, to mohlo být způsobeno nárůstem obsahu mastných kyselin produkovaných acidogenními bakteriemi, které byly následně odbourány acetogenními bakteriemi, tak se proces nemohl hlouběji inhibovat.

Vývoj produkce bioplynu je znázorněn na grafech č. 1 – 8, přičemž grafy jsou rozděleny podle jednotlivých odběrů a variant hnojení.

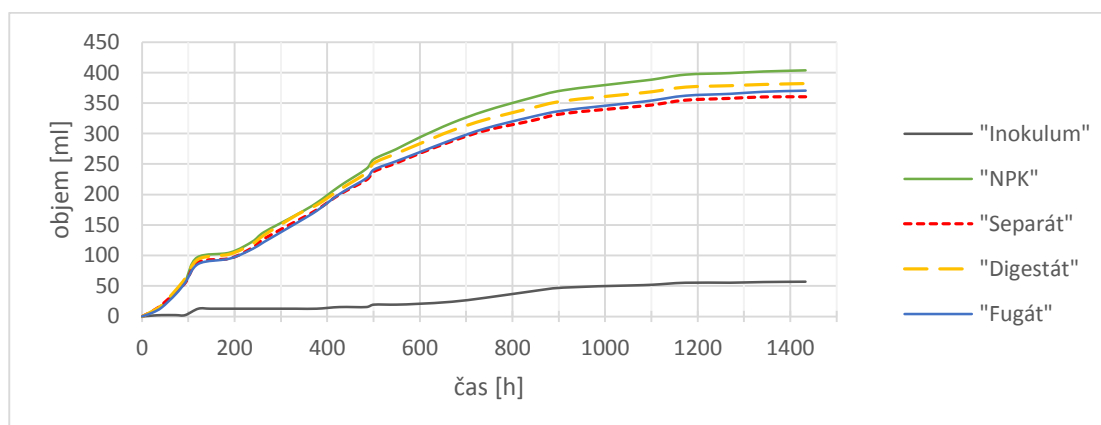
#### 4.2.2.1 Kumulativní produkce bioplynu v závislosti na hnojení

V grafech č. 1 – 4 je zobrazena celková kumulativní produkce bioplynu v závislosti na typu použitého hnojiva grafy jsou rozděleny podle jednotlivých odběrů.

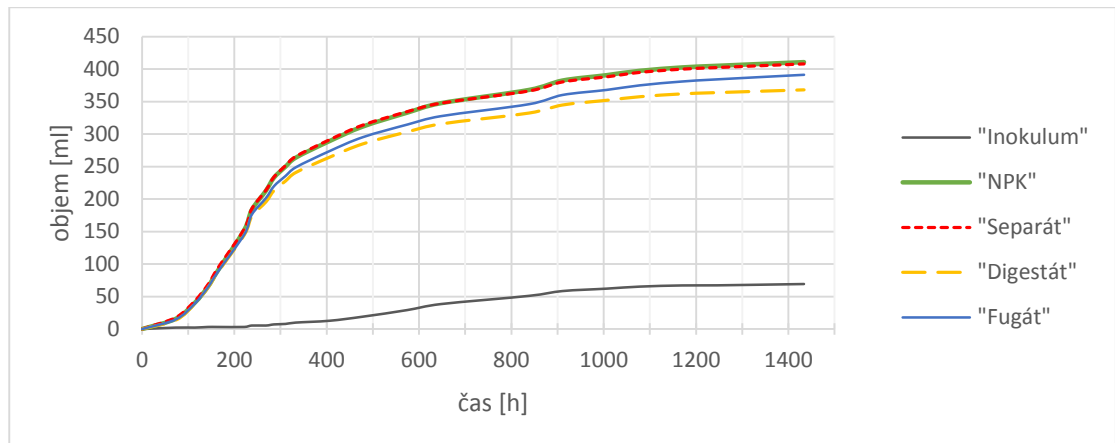
Graf č. 1 – Kumulativní produkce bioplynu 1. odběr



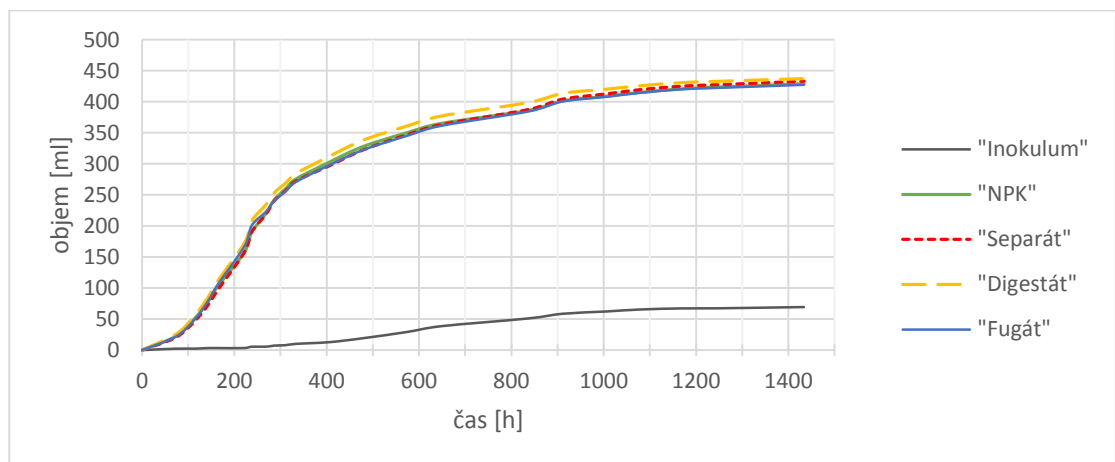
Graf č. 2 – Kumulativní produkce bioplynu 2. odběr



Graf č. 3 – Kumulativní produkce bioplynu 3. odběr



Graf č. 4 – Kumulativní produkce bioplynu 4. odběr

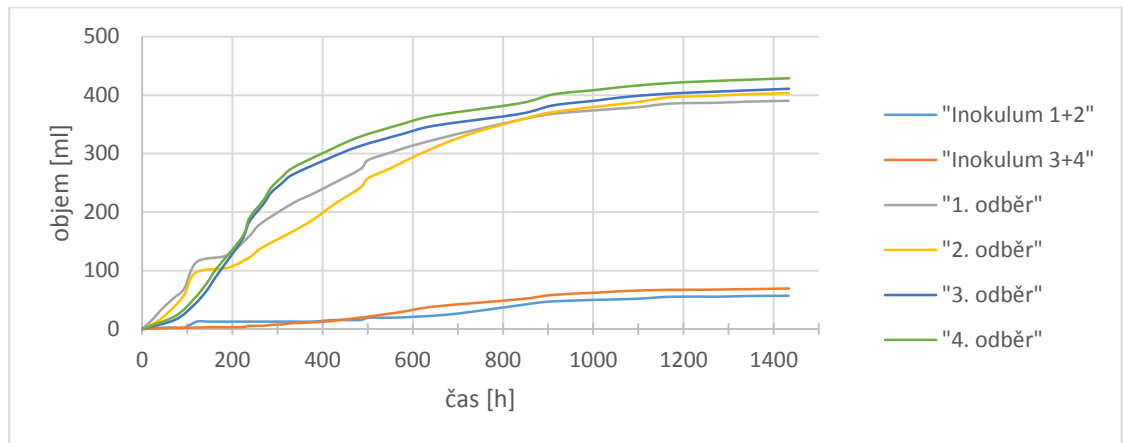


Produkce bioplynu jsou v první šestině experimentu (cca 9 dní) vyrovnané, až od 9. dne dochází k rozlišení jednotlivých variant, zejména pak u vzorků z druhého a třetího odběru. Vzorky z prvního a čtvrtého odběru mají vyrovnané produkce bioplynu nezávisle na typu použitého hnojiva. Oproti tomu vzorky z druhého a třetího odběru vykazují drobný rozdíl vlivů použitých hnojiv. Vzorky hnojené minerálním hnojivem NPK projevují v druhém a třetím odběru nejvyšší produkce ze všech variant. Vzorky hnojené fugátem dosáhly maximální produkce pouze v odběru prvním, naopak v odběru posledním jsou nejméně produktivní. Nejvyšší produkce bioplynu bylo dosaženo z varianty hnojené digestátem ze čtvrtého odběru.

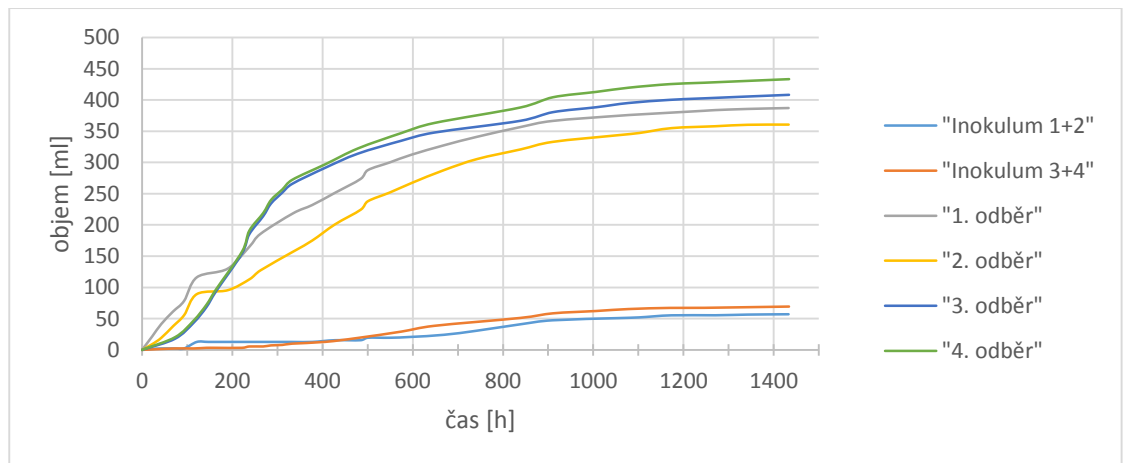
#### 4.2.2.2 Kumulativní produkce bioplynu v závislosti na termínu sklizně

V grafech č. 5 – 8 je znázorněna produkce bioplynu v závislosti na jednotlivých termínech sklizně a rozdělena podle sledovaného typu použitého hnojiva.

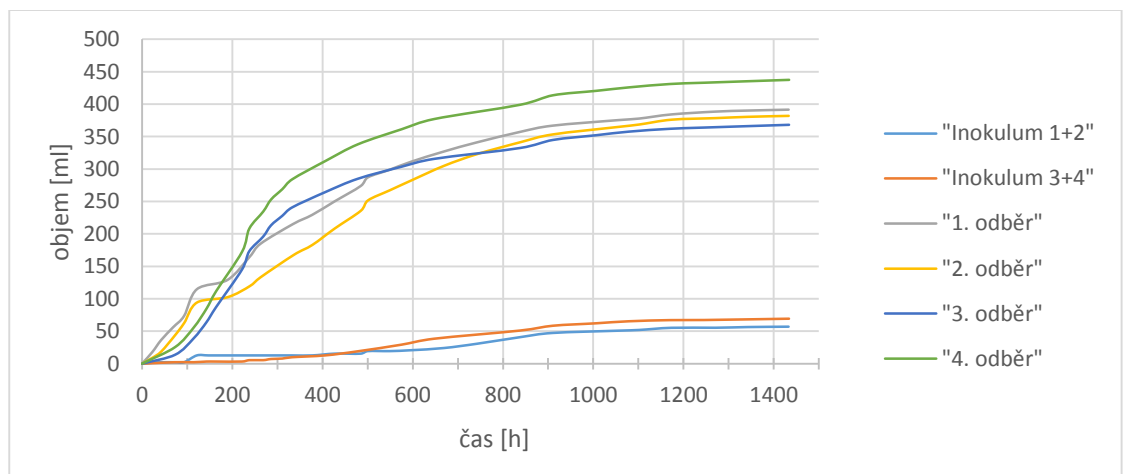
Graf č. 5 – Kumulativní produkce bioplynu ve variantách hnojených NPK



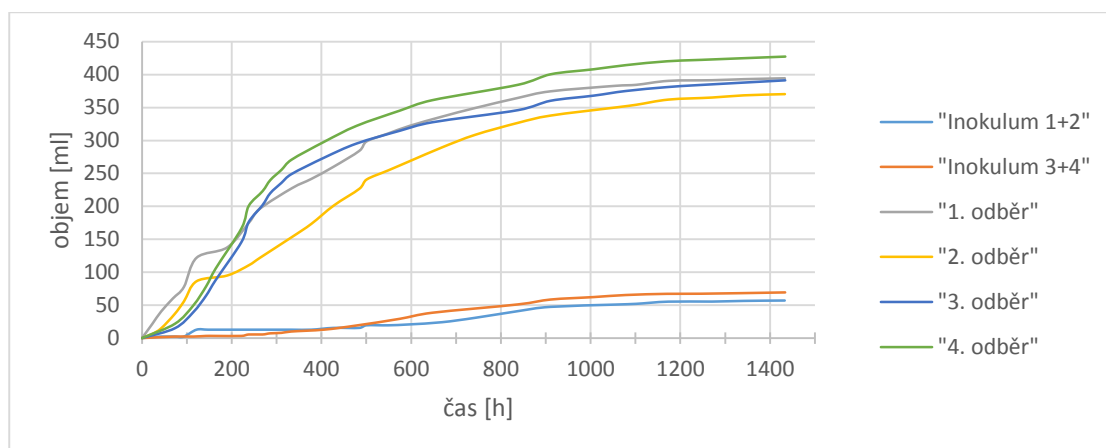
Graf č. 6 – Kumulativní produkce bioplynu ve variantách hnojených separátem



Graf č. 7 – Kumulativní produkce bioplynu ve variantách hnojených digestátem



Graf č. 8 – Kumulativní produkce bioplynu ve variantách hnojených fugátem



Nejvyšší produkce bioplynu bylo u všech variant použitých hnojiv dosaženo u 4. odběru (průměrně  $431,7 \pm 7,2$  ml), naopak hodnot nejnižších bylo dosaženo z 2. odběru (průměrně  $379,14 \pm 16$  ml). U prvního a druhého odběru byla maximální produkce bioplynu naměřena 5. den experimentu, zatímco u třetího a čtvrtého odběru byla maximální produkce naměřena 10. dne. Od tohoto termínu jsou pozorovány pouze nízké denní výtěžky bioplynu, kdy na konci experimentu je dosahováno takřka nulových hodnot.

### 4.2.3 Produkce methanu a degradace organické sušiny

V rámci stanovení výtěžnosti bioplynu byla zjišťována také jeho kvalita měřením koncentrací methanu a oxidu uhličitého přepočtem na procentuální zastoupení v bioplynu. Měření složení bioplynu probíhalo 2 x týdně a vzhledem k časové náročnosti analýzy na plynovém TCD chromatografu byly měřeny pouze 3 vzorky z každé varianty. Jako referenční hodnota bylo použito procentuální zastoupení methanu v bioplynu ze samotného inokula. V tabulce č. 5 jsou uvedeny průměrné hodnoty ze všech měření, zatímco v grafech č. 9, 10 a 11, jsou znázorněny hodnoty jednotlivých měření. Grafy s č. 9 a 10 znázorňují vliv hnojení na produkci methanu, zatímco graf č. 11 znázorňuje vliv termínu sklizně.

Degradace organické sušiny byla stanovována vážením vzorků před a po proběhnutí experimentu. Vypočítaná hodnota byla snížena o průměrnou hodnotu jednotlivých opakování inokula, z důvodu vypočítání exaktní hodnoty degradace samotného substrátu. Průměrné hodnoty degradace organické sušiny jsou znázorněny v tabulce č. 6.

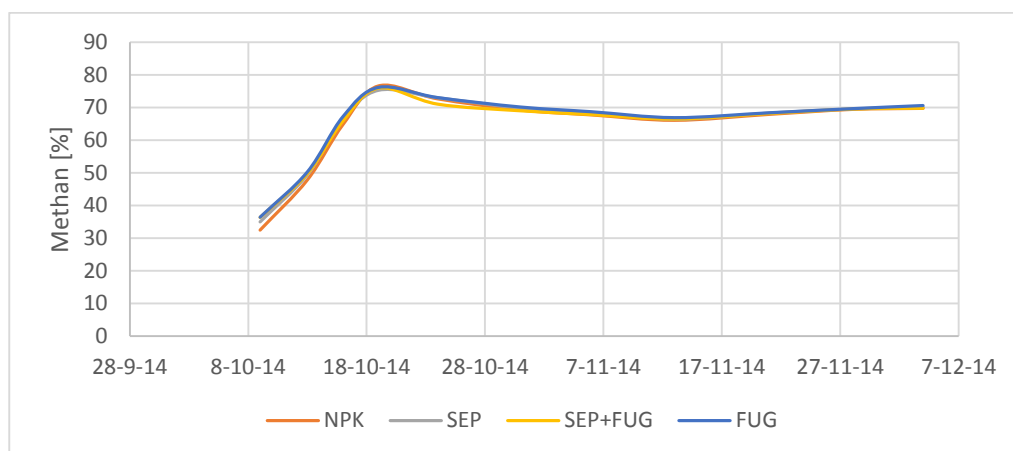
Tabulka č. 5 – Procentuální zastoupení methanu

CH <sub>4</sub> [%]				
	Odběr			
Varianta	1. odběr	2. odběr	3. odběr	4. odběr
Inokulum	60,6 ± 14,32	60,6 ± 14,32	59,7 ± 29,69	59,7 ± 29,69
NPK	64,0 ± 12,70	60,9 ± 7,57	59,7 ± 8,35	60,3 ± 7,25
Separát	64,7 ± 11,87	62,5 ± 8,00	60,4 ± 6,93	59,9 ± 6,66
Digestát	64,5 ± 11,34	62,5 ± 8,66	61,4 ± 7,18	59,6 ± 7,61
Fugát	65,2 ± 11,56	62,4 ± 8,05	60,6 ± 7,61	60,3 ± 7,31

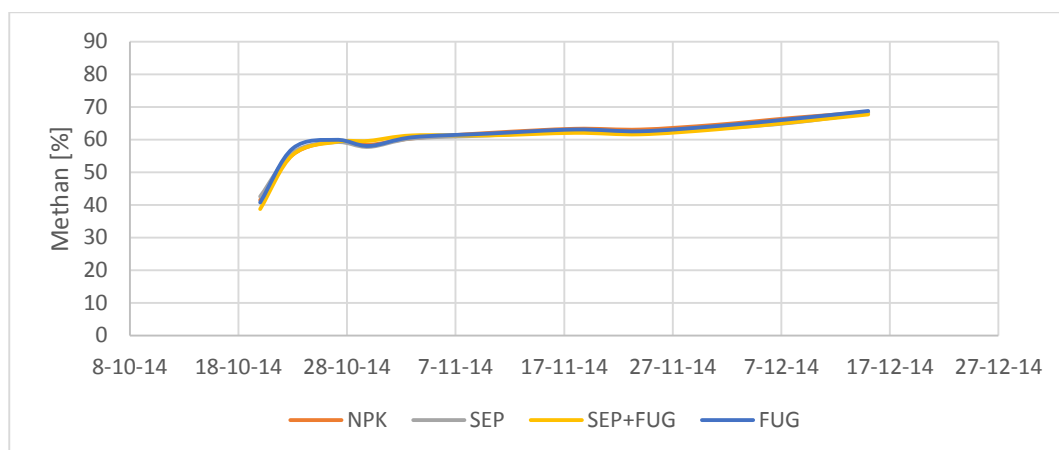
Tabulka č. 6 – Stupeň degradace organické sušiny

Degradace substrátu [%]				
	Odběr			
Varianta	1. odběr	2. odběr	3. odběr	4. odběr
NPK	66,0 ± 6,84	72,8 ± 10,19	69,3 ± 3,24	72,0 ± 2,76
Separát	79,4 ± 6,39	72,3 ± 11,01	62,4 ± 1,07	67,6 ± 0,95
Digestát	72,2 ± 9,67	70,3 ± 5,27	57,2 ± 3,97	68,3 ± 1,63
Fugát	68,8 ± 8,55	56,8 ± 2,44	59,8 ± 2,37	69,2 ± 5,64

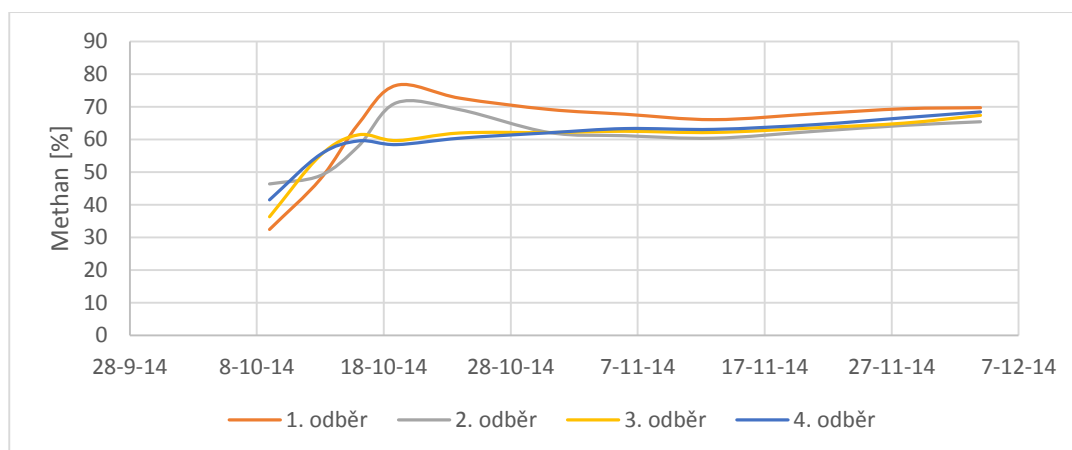
Graf č. 9 – Vliv hnojení na výtěžnosti methanu – mladé rostliny (1. odběr)



Graf č. 10 – Vliv hnojení na výtěžnost methanu – dospělé rostliny (4. odběr)



Graf č. 11 – Vliv termínu na výtěžnost methanu



Z grafů č. 9, 10 a 11, a zároveň z tabulek č. 5 a 6 vyplývá, že nejsilnějším faktorem pro výtěžnost methanu z bioplynu je vegetační fáze rostlin, přičemž typ použitého hnojiva má vliv minimální. U vzorků z prvního a druhého odběru, kdy byly rostliny sklizeny v raných fázích vývoje, došlo k rychlému rozkladu snadno přístupných organických látek (celulóza, hemicelulóza) a procentuální zastoupení methanu bylo tedy nejvyšší okolo 10. dne měření s průměrem  $73,9 \pm 2,3$  % methanu v bioplynu. Na druhou stranu u vzorků třetího a čtvrtého odběru, kdy rostliny obsahovaly již velké množství obtížně rozložitelných látek, byla produkce methanu pozvolnější, vrcholící okolo 9. dne s  $60,5 \pm 1,5$  %  $\text{CH}_4$ .

V začátku experimentu, kdy byly obsahy methanu nižší než 45 %, převažoval v bioplynu oxid uhličitý a s postupnou adaptací anaerobních mikroorganismů na substrát se zvyšoval i celkový objem methanu. Mezi 5. až 9. dnem byl pozorován nárůst v objemech  $\text{CH}_4$ . 9. dne došlo k maximální produkci, s postupným úbytkem v 1. a 2. odběru. Naopak 3. a 4. odběr

převyšují od 9. dne 60 % CH<sub>4</sub> v bioplynu, ke konci pokusu pozorujeme pozvolný nárůst v zastoupení methanu v bioplynu.

Stupeň degradace organické sušiny klesal se vzrůstajícím termínem odběru a tím i vegetační fází rostlin konopí, kdy se ke konci vegetace hromadí obtížně degradovatelné látky, zejména lignin, celulóza a hemicelulóza. Nejlépe degradovatelný substrát byl z prvního odběru, který se po proběhnutí anaerobní digesce rozložil ze  $71,6 \pm 5$  % a zároveň poskytl nejlepší výtěžnost  $76,0 \pm 0,6$  % methanu z bioplynu. Druhý odběr se rozložil z  $68,1 \pm 7,5$  % a poskytl druhé nejvyšší procentuální zastoupení methanu v bioplynu s hodnotou  $72,3 \pm 1,2$  %. Třetí odběr byl degradován z  $62,2 \pm 4,5$  % a poskytl  $61,5 \pm 0,4$  % methanu z bioplynu. Čtvrtý, poslední, odběr byl degradován z  $69,2 \pm 1,6$  % a jeho produkce methanu z bioplynu činila  $59,5 \pm 0,3$  %.

Z výše uvedených hodnot lze posoudit vliv stáří rostliny technického konopí na snadnost degradability složek jeho biomasy v korelaci s procentuálním zastoupením methanu v bioplynu.

#### 4.2.4 Změna hodnoty pH na počátku a na konci experimentu

Hodnota pH byla měřena celkem dvakrát. Z důvodu plynotěsného uzavření lahvíček bylo nemožné u vzorků měřit pH v průběhu experimentu, měření probíhalo tedy před začátkem experimentu a po jeho skončení. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulce č. 7. Pro lepší přehlednost byl ze všech vzorků vypočítán průměr.

Tabulka č. 7 – pH vzorků před a po skončení experimentu

pH									
	1. odběr					2. odběr			
	Inokulum	NPK	Separát	Digestát	Fugát	NPK	Separát	Digestát	Fugát
Počátek	8,5	8,3	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4
Ukončení	7,7	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
	3. odběr					4. odběr			
	Inokulum	NPK	Separát	Digestát	Fugát	NPK	Separát	Digestát	Fugát
Počátek	8,7	8,3	8,3	8,4	8,2	8	8,1	7,9	8
Ukončení	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5

Vyšší pH na začátku pokusu, a vyšší pH než u samotného inokula bylo způsobeno naředěním vodou a snížení pH na konci pokusu indikuje správně proběhlý proces. K poklesu pH dojde v důsledku produkce mastných kyselin v prvních fázích procesu anaerobní digesce.

#### 4.2.5 Celková výtěžnost bioplynu

Z výše uvedených dat vyplývá, že vhodnější pro produkci bioplynu jsou termíny sklizně s pozdějším datem, nezávisle na hnojení. Přepočtem výtěžnosti bioplynu čtvrtého odběru z hmotnosti substrátu na kilogram získáme výtěžnost bioplynu z kilogramu a po přepočtu na čistý methan ( $59,5 \pm 0,3$  %) získáme objem methanu z kilogramu sušiny biomasy. Tato hodnota činila pro čtvrtý odběr  $0,367 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \cdot \text{kg}^{-1}$  sušiny, hodnota pro surový bioplyn potom činí  $0,616 \text{ m}^3 \cdot \text{kg}^{-1}$  sušiny, což byly hodnoty nejvyšší naměřené. Pro odběr třetí je to hodnota  $0,347 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \cdot \text{kg}^{-1}$ . Pro druhý odběr  $0,323 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \cdot \text{kg}^{-1}$ . A pro odběr první  $0,362 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \cdot \text{kg}^{-1}$ .



### 4.3 Diskuze

V této práci jsme se zabývali vlivem termínu sklizně a typem použitého hnojiva na výtěžnost bioplynu a methanu z fytomasy technického konopí procesem anaerobní digesce rostlinné biomasy.

Obsahy sušiny v biomase průběžně stoupaly od nejnižších obsahů v 1. odběru ( $21,37 \pm 0,09$  %) k nejvyšším v odběru 4. ( $32,25 \pm 0,27$  %). Ke stejným poznatkům došli i Kreuger et al. (2011), kde uvádějí sušinu z 1. odběru  $20,3 \pm 3,9$  % a ze 4. odběru  $33,0 \pm 1,6$  %.

Průměrné produkce bioplynu činily  $401 \pm 19$  ml z 0,7 g sušiny konopné biomasy, což v přepočtu na 1 g odpovídá  $572 \text{ ml}\cdot\text{g}^{-1}$  a po odečtení průměrných výtěžností bioplynu inokula ( $63,1$  ml) již pouze  $508,9 \text{ ml}\cdot\text{g}^{-1}$  bioplynu o obsahu methanu  $60 \pm 0,3$  %. V porovnání s výsledky studií Gissen et al. (2014), kde je uvedena průměrná výtěžnost methanu z rostlin technického konopí  $276 \text{ ml CH}_4\cdot\text{g}^{-1}$ . Tato hodnota představuje 60 % objemu methanu v bioplynu a po přepočtu na celkový objem činí  $460 \text{ ml}\cdot\text{g}^{-1}$  sušiny. Naše vyšší výtěžky mohly být způsobeny dřívějším termínem sklizně, jelikož Kreuger et al. (2011) dále uvádějí, že další přezrávání fytomasy konopí vede ke snížení výtěžnosti bioplynu. To je způsobeno nárůstem obsahu obtížněji rozložitelných látek jako lignin a celulóza v biomase.

Při porovnání výtěžnosti bioplynu z fytomasy technického konopí a kukuřičné siláže, bylo zjištěno, že konopí z našeho experimentu poskytuje maximálního výnosu bioplynu  $0,616 \text{ m}^3\cdot\text{kg}^{-1}$ . Kukuřičná siláž z experimentů Hutňan et al. (2009) poskytovala nejvyšší výtěžnost  $0,655 \text{ m}^3\cdot\text{kg}^{-1}$  bez jakékoliv jiné metody předúpravy než silážování. Dalšími studovanými plodinami jsou krmný šťovík (Kára a Petříková, 2007) s objemy bioplynu  $0,428 \text{ m}^3\cdot\text{kg}^{-1}$  sušiny a travní siláž s  $0,58 \text{ m}^3\cdot\text{kg}^{-1}$  sušiny, jejichž produkce je na podobné úrovni jako technické konopí z našeho pokusu (Pastorek a kol., 2004). Nejvyšší produkce bioplynu byla pozorována 10. den experimentu u vzorků digestát ze 4. odběru, odpovídající výsledkům Kreuger et al. (2011).

Kreuger et al. (2011) uvádějí, že při testování výtěžnosti bioplynu z konopí došlo u několika vzorků dříve sklizených rostlin k dočasné inhibici anaerobní digesce. Stejný problém se vyskytl i u našich vzorků (vzorky 1. a 2. odběru, přibližně 3. den produkce bioplynu). Kreuger et al. (2011) dále uvádějí, že tato inhibice nebyla způsobena vyšší produkcí mastných

kyselin (pH bylo při měření neutrální), nýbrž nepolárními extrahovatelnými látkami (silice), které se hojně vyskytují právě u mladých rostlin konopí. Oproti tomu Wagner et al. (2014) uvádějí, že nárůst amonného kationtu v počátcích anaerobní digesce má určitou pufrovací schopnost vůči masným kyselinám, díky zásaditému pH, přičemž by stále došlo k inhibici procesu i bez změny pH.

Výnos methanu z jednotlivých odběrů stoupal s postupným stářím rostlin. Jednotlivé výnosy methanu se mezi odběry ani mezi hnojením příliš nelišily o průměrné produkci  $0,349 \pm 0,017 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \cdot \text{kg}^{-1}$  sušiny. Což je v souladu s poznatky Kreuger et al. (2011), kteří dosáhli  $0,234 \pm 0,17 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \cdot \text{kg}^{-1}$  sušiny a k nulovým rozdílům mezi variantami hnojení. Přihlédneme-li opět k velikosti částic substrátů a při odečtení hodnoty výtěžnosti methanu ze vzorků inokula se dostaneme na přibližně stejnou hodnotu.

Rozložitelnost substrátů s termíny odběrů postupně klesala od  $71,6 \pm 5 \%$  z prvního odběru až po  $69,3 \pm 1,6 \%$  z odběru čtvrtého. Dle poznatků Alaru et al. (2011), kteří uvádějí, že s rostoucí zralostí konopí roste i obsah ligninu v celkové sušině. Z  $9,0 \pm 0,3 \%$  ligninu v sušině při voskově-mléčné zralosti konopí na  $10,0 \pm 0,3 \%$  ligninu v sušině při plné zralosti konopí. V této souvislosti tedy můžeme uvést, že se lignin podílí na obtížné degradovatelnosti rostlin při anaerobní digesci (Wagner et al., 2013).

Celkový výnos methanu a tedy čistota bioplynu z technického konopí byly poměrně vysoké ( $60 \pm 0,3 \%$ ), což je v souladu s  $47 - 61 \%$  (Adamovičs et al., 2014). Celková výtěžnost methanu z bioplynu fermentovaného technického konopí ( $0,367 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \cdot \text{kg}^{-1}$  sušiny – 4. odběr) je srovnatelná s produkcí methanu z kukuřičné siláže z experimentů Hutňan et al. (2009), kde je popsána výtěžnost  $0,316 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \cdot \text{kg}^{-1}$  sušiny. Výtěžnost methanu z konopí je také srovnatelná s výtěžností methanu z travní siláže s obsahem methanu  $0,319 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \cdot \text{kg}^{-1}$  sušiny (Pastorek a kol., 2004). Pastorek a kol. (2004) také popisuje výtěžnost methanu z konopné siláže o objemu  $0,26 - 0,29 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \cdot \text{kg}^{-1}$  sušiny. To je hodnota shodná s našimi poznatky (po přepočtu na čistý methan). Drobné rozdíly mohou být způsobeny rozdílnou velikostí částic substrátu použitého při anaerobní fermentaci. Při silážování se standardně provádí na velikost okolo 14 mm (Zeman a kol., 2006). V našem experimentu byla biomasa rozemleta na frakci o 2 mm, což je hodnota nižší a pro mikroorganismy lépe přístupná, čímž dojde k lepšímu rozkladu a vyšší výtěžnosti  $\text{CH}_4$ .

## 5 Závěr

V literární části této bakalářské práce byla vypracována obecná charakteristika anaerobní digesce rostlinné biomasy, vymezení její účinnosti pod vlivem určitých podmínek a za použití daných substrátů. Rostlinné substráty byly rozděleny a charakterizovány podle vhodnosti a aktuálního používání v praxi, byl určen jejich bioplynový a methanový potenciál s ohledem na jejich složení. Z výsledků uvedených studií vyplývá, že biomasa technického konopí poskytuje srovnatelný bioplynový a methanový potenciál, jako běžně používaná biomasa kukuřice. Cílem experimentální části bylo vyhodnotit produkci bioplynu a methanu z technického konopí pod vlivem různého typu použitého hnojiva a vyhodnocení vhodného termínu pro sklizeň k produkci bioplynu.

V produkci bioplynu dosahovaly nejvyšší produkce odběry technického konopí z pozdějších termínů, přičemž hnojení nemělo na produkci bioplynu vliv. Důvodem těchto vysokých produkcí je složení biomasy konopí, které obsahuje v pozdějších fázích svého vývoje více celulózy, hemicelulózy a ligninu v sušině než mladší rostliny. Celková procentuální zastoupení methanu v bioplynu v souvislosti s degradabilitou substrátu byla naopak vyšší u prvních odběrů než u odběrů posledních z důvodu vyššího obsahu snadno rozložitelných látek (jednoduché polysacharidy, bílkoviny, lipidy). Různý typ hnojiva opět neměl významný vliv na produkci methanu, díky stejným dávkám dusíku pro každou z variant.

Inhibice procesu anaerobní digesce biomasy technického konopí, ke které došlo 3. a 4. dne u vzorků z prvního a druhého odběru byla způsobena s největší pravděpodobností právě silicemi obsaženými v mladých rostlinách technického konopí, jak již bylo uvedeno v řadě předchozích studií. Takto mladé rostliny, ale nemají z důvodu nízkých hektarových výnosů význam pro uplatnění v praxi.

V porovnání s běžně používanými plodinami je vhodnost technického konopí, jako alternativní plodiny pro výrobu bioplynu procesem anaerobní digesce nesporná. Problémem zůstává vysoký obsah obtížně rozložitelných látek u dospělých rostlin, které jsou pro praxi nejvhodnější. Obsah těchto látek by mohl být snižován pomocí různých metod předúprav, systémů pěstování či změn teplot anaerobní digesce za účelem vyšší výtěžnosti methanu. To vše jsou otevřené příležitosti pro eventuální budoucí výzkum za účelem zlepšení diversity agroekosystémů, zvyšování podílu obnovitelných zdrojů energie, snižování rizika eroze, lepší hospodaření s vodou, živinami a chemickými přípravky.

## 6 Seznam použitých zdrojů

Abbasi, T., Tauseef, S.M., Abbasi, S.A. 2012. *Biogas Energy*. Springer. New York. p. 184  
ISBN: 978-1-4614-1039-3.

Adamovičs, A., Dubrovskis, V., Platače, R. 2014. Productivity of industrial hemp and its utilisation for anaerobic digestion. In: Brebbia, C.A., Magagaril, E.R., Khodorovsky M.Y. (eds.) *Energy Production and Management in the 21st Century*. WIT Press. Great Britain. p. 1045-1055. ISBN: 978-1-84564-816-9.

Ahring, B.K., Sandberg, M., Angelidaki, I. 1995. Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestion. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 43 (3). 559-565.

Alaru, M., Kukk, L., Olt, J., Menind, A., Lauk, R., Vollmer, E., Astover, A. 2011. Lignin content and briquette quality of different fibre hemp plant types and energy sunflower. *Field Crops Research*. 124 (3). 332-339.

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P., Wilson, J., Hunt, T. 2008. *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC. New York. p. 1725. ISBN: 978-0-8153-4105-5.

Alstair, J.W., Hobbs, P.J., Holliman, P.J., Jones, D.L. 2008. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresource technology*. 99 (17). 7928-7940.

Amon, T., Amon, B., Kryvoruchko, V., Zollitsch, W., Mayer, K., Gruber, L. 2007. Biogas Production from maize and dairy cattle manure - Influence of biomass composition on the methane yield. *Agriculture Ecosystems & Environment*. 118 (1-4). 173-182.

Anwar, Z., Gulfraz, M., Irshad, M. 2014. Agro-industrial lignocellulosic biomass a key to unlock the future bio-energy: A brief review. *Journal of Radioation Research and Applied Sciences*. 7 (2). 163-173.

Bačík, O. 2008. Bioplynové stanice: technologie celonárodního významu [online]. Biom.cz. 14. ledna 2008. [cit. 2014-09-23]. Dostupné z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/bioplynovе-stanice-technologie-celonarodniho-vyznamu>>.

Bruni, E., Jensen, A.P., Pedersen, E.S., Angelidaki, I. 2010. Anaerobic digestion of maize focusinc on variety, harvest time and pretreatment. *Applied Energy*. 87 (7). 2212-2217.

Celjak, I. 2010. Pěstování topolů pro energetické účely - 3 [online]. Biom.cz. 6. září 2010. [cit. 2014-11-28]. Dostupné z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/pestovani-topolu-pro-energeticke-ucely-3>>.

CZBA. Statistiky výroby bioplynu [online]. CZBA.cz. 2015. [cit. 2015-02-03] Dostupné z <<http://www.czba.cz/statistiky-vyroby-bioplynu.html>>.

Čermáková, J. 2009. Nové trendy ve využití bioplynu. In: Škvařil, J. *Energie z biomasy X*, sborník příspěvků ze semináře. Vysoké učení technické v Brně. Brno. s. 21-25. ISBN: 978-80-214-4027-2.

DeBruyn, J., Hilborn, D. 2007. *Anaerobic Digestion Basics*. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. Ontario. 2007 (07-057).

Dohányos, M. 2008. Anaerobní reaktor není černou skřínkou - teoretické základy anaerobní fermentace [online]. Biom.cz. 17. listopadu 2008 [cit. 2014-11-18]. Dostupné z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/anaerobni-reaktor-neni-cernou-skrinkou-teoreticke-zaklady-anaerobni-fermentace>>.

Dvořáček, T., Rosenberg, T., Tluka, P., Habart, J. 2009. Výstavba komunálních bioplynových stanic s využitím BRKO. Státní fond životního prostředí ČR. Praha. s. 40.

Fischerová, Z., Tlustoš, P., Száková, J., Šichorová, K. 2006. A comparison of phytoremediation capability of selected plant species for given trace elements. *Environmental Pollution*. 144 (1). 93-100.

Frydrych, J., Andert, D., Kovaříček, P. 2007. Hospodaření na půdě ve zranitelných oblastech se zřetelem na trvalé travní porosty. Agritech Science [online]. 2007. 1 (3). [cit. 2014-9-23]. Dostupné z <<http://www.agritech.cz/clanky/2007-1-3.pdf>>.

Fuksa, P., Hakl, J., Hrevušová, Z., Šantrůček, J., Gerndtová, I., Habart, J. 2012. Utilization of permanent grassland for biogas production. In: Şencan, A. (ed.). Modeling and Optimization of Renewable Energy Systems. InTech. p. 171-196. ISBN: 978-953-51-0600-5.

Furini, A. (ed.). 2012. Plants and Heavy metals. Springer. New York. p. 86. ISBN: 978-94-007-4441-7.

Gerardi, M. (ed.). 2003. The microbiology of anaerobic digesters. New Jersey. p. 180. ISBN: 0-471-20693-8.

Gerndtová, I., Andert, D. 2008. Využití travních směsí při anaerobní digestaci. Agritech Science [online]. 2008. 2 (1). [cit. 2014-9-17]. Dostupné z <<http://www.agritech.cz/clanky/2008-1-5.pdf>>.

Gissén, Ch., Prade, T., Kreuger, E., Nges, A. I., Rosenqvist, H., Svensson, S., Lantz, M., Mattsson, J.E., Börjesson, P., Björnsson, L. 2014. Comparing energy crops for biogas production – Yields, energy input and costs in cultivation using digestate and mineral fertilisation. Biomass and Bioenergy. 64. 199-210.

Holubář, J. 2013. Metodika zkoušek užitné hodnoty - konopí seté. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Brno. s. 18.

Honsová, H. 2013. Topinambur lze využít k mnoha účelům [online]. Biom.cz. 23. července 2012. [cit. 2014-11-22]. Dostupné z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/topinambur-lze-vyuzit-k-mnoha-ucelum>>.

Honzík, R. 2004. Konopí seté nejen alternativní energetická plodina [online]. Biom.cz. 24. března 2004. [cit. 2014-12-21]. Dostupné z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/konopi-sete-njen-alternativni-energeticka-plodina>>.

Hutňan, M., Špalková, V., Bodík, I., Kolesárová, N., Lazor, M. 2009. Biogas production from maize grain and maize silage. *Polish Journal of Environmental Studies*. 19 (2). 323-329.

Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S. 2007. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*. 99 (10). 4044-4064.

Isa, Z., Grusenmeyer, S., Verstraete, W. 1986. Sulfate Reduction Relative to Methane Production in High-Rate Anaerobic Digestion: Technical Aspects. *Applied and Environmental Microbiology*. 51 (3). 572-578.

Izdebski, W. 2009. Jerusalem artichoke - potential and possibilities of use in power industry. *Teka komisji motoryzacji i energetyki rolnictwa*. 9. 93-98.

Ježková, E. 2002. Konopí seté (*Cannabis sativa* L.) [online]. *Biom.cz*. 5. března 2002. [cit. 2014-11-13]. Dostupný z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/konopi-sete-canabis-sativa-l>>.

Kára, J., Hutla, P., Pastorek, Z. 2008. Využití organických odpadů ze zemědělské výroby a venkovských sídel. Metodická příručka Mze ČR. Výzkumný ústav zemědělské techniky. Praha. 2008. 102 s. ISBN 978-80-86884-40-0.

Kára, J., Petříková, V. 2007. Krmný šťovík a jeho využití pro výrobu bioplynu [online]. *Biom.cz*. 27. listopadu 2007. [cit. 2014-08-16]. Dostupné z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/krmny-stovik-a-jeho-vyuziti-pro-vyrobu-bioplynu>>.

Koloničný, J., Hase, V. 2011. Využití rostlinné biomasy v energetice. Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava. Ostrava. 151 s. ISBN: 978-80-248-2541-0.

Koutný, R. 2008. Termické využití separátu pro anaerobní fermentaci biologicky rozložitelných odpadů. *Agritech Science* [online]. 2008 2 (3). [cit. 2014-10-15]. Dostupné z <<http://www.agritech.cz/clanky/2008-3-5.pdf>>.

Kramoliš, P. 2004. Využívání travní fytomasy pro výrobu elektrické energie a tepla. *Biom.cz*. [online]. 3. listopadu 2004. [cit. 2014-11-12]. Dostupné z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/vyuziti-travni-fytomasy-pro-vyrobu-elektricke-energie-a-tepla>>.

Kreuger, E., Prade, T., Escobar, F., Svensson, S., Englund, J.-E., Björnsson, L. 2011. Anaerobic digestion of industrial hemp – Effect of harvest time on methane energy yield per hectare. *Biomass and Bioenergy*. 35 (2). 893-900.

Kutil, J., Dohányos, M. 2005. Efektivní využití a likvidace čistírenských kalů [online]. *Biom.cz*. 5. ledna 2005. [cit. 2014-10-12]. Dostupné z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/efektivni-vyuziti-a-likvidace-cistirenskych-kalu-2>>.

Leština, J. 2011. Některé aspekty pěstování plodin pro výrobu bioplynu [online]. *Biom.cz*. 27. dubna 2011. [cit. 2014-09-10]. Dostupné z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/nektere-aspekty-pestovani-plodin-pro-vyrobu-bioplynu>>.

McEniry, J., Allen, E., Murphy, J.D., O'Kiely, P. 2014. Grass for biogas production: The impact of silage fermentation characteristics on methane yield in two contrasting biomethane potential test systems. *Renewable Energy*. 63 (3). 524-530.

McKendry, P. 2002. Energy production from biomass (part 1): overview of biomass. *Bioresource Technology*. 83 (1). 37-46.

Mediavilla, V., Jonquera, M., Schmid-Slembrouck, I., Soldati, A. 1998. Decimal code for growth stages of hemp (*Cannabis sativa* L.). *Journal of the International Hemp Association*. 5 (2). 65, 68-74.

Menardo, S., Bauer, A., Theuretzbacher, F., Piringer, G., Nilsen, P.J., Balsari, P., Pavliska, O., Amon, T. 2012. Biogas Production from Steam-Exploded *Miscanthus* and Utilization of Biogas Energy and CO<sub>2</sub> in greenhouses. *Bioenergy Resources*. 6 (2). 620-630.

Mužik, O., Kára, J. 2009. Možnosti výroby a využití bioplynu v ČR. SVT Písek. [online] 4. března 2009. [cit. 2014-05-11]. Dostupný z <<http://svt.pi.gin.cz/vuzt/publ/P2009/115.PDF>>.



Novák, J., Skalický, M. 2012. Botanika: cytologie, histologie, organologie a systemetika. Ed. 3 Powerprint, Praha. 336 stran. ISBN 978-80-87415-53-3.

Pastorek, Z., Kára, J., Jevič, P. 2004. Biomasa: obnovitelný zdroj energie. FCC Public. Praha. s. 288. ISBN: 80-86534-06-5.

Petříková, V. 2009. Bioplyn a krmný šťovík [online]. Biom.cz. 10. března 2009. [cit. 2014-08-15]. Dostupné z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/bioplyn-a-krmny-stovik>>.

Petříková, V. 2011. Uplatnění krmného šťovíku - Rumexu OK 2 [online]. Biom.cz. 16. února 2011. [cit. 2014-08-15]. Dostupné z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/uplatneni-krmneho-stoviku-rumexu-ok-2>>.

Petříková, V. 2012. Bioplyn - kukuřice - krmný šťovík [online]. Biom.cz. 19. března 2012. [cit. 2014-08-15] Dostupné z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/bioplyn-kukurice-krmny-stovik>>.

Pospíšil, L. 2011. Význam "suché" anaerobní fermentace různých druhů biomasy za účelem výroby bioplynu [online]. Biom.cz. 24. října. 2011. [cit. 2014-10-17]. Dostupné z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/vyzkum-suche-anaerobni-fermentace-ruznych-druhu-biomasy-za-ucelem-vyroby-bioplynu>>.

Prade, T., Svensson, S., Andersson, A., Mattson, J.E. 2011. Biomass and energy yield of industrial hemp grown for biogas and solid fuel. Biomass & Bioenergy. 35 (7). 3040-3049.

Prade, T., Svensson, S., Andersson, A., Mattson, J.E. 2012. Energy balances for biogas and solid biofuel production from industrial hemp. Biomass & Bioenergy. 40 (5). 36-52.

Rajeshwari, K.V., Balakrishnan, M., Kansal, A., Lata, K., Kishore, V.V.N. 1999. State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. Renewable & Sustainable Energy Reviews. 4 (2). 135-156.

Rasi, S. 2009. Biogas Composition and Upgrading to Biomethane. University of Jyväskylä. p. 79. ISBN: 978-951-39-3618-1.

Rosenberg, T. 2010. Metodika - předpis pro provádění laboratorních jednorázových testů produkce bioplynu.

Seppälä, M., Pyykkönen, V., Väisänen, A., Rintala J. 2013. Biomethane production from maize and liquid cow manure - Effect of share of maize, post methanation potential and digestate characteristics. *Fuel*. 107 (5). 209-216.

Straka, F., Dohányos, M., Zábranská, J., Jeníček, P., Dědek, J., Malijevský, A., Novák, J., Oldřich, J., Kunčarová, M. 2006. Bioplyn. GAS s.r o. Praha. s. 706. ISBN: 80-7238-090-6.

Straka, F., Kunčarová M., Lacek P. 2007. Optimalizace vsázek pro bioplynové stanice při použití biomasy, živočišných odpadů nebo dalších možných vedlejších živočišných produktů. Ústav pro výzkum a využití paliv a.s. Praha. 31 s.

Stražil, Z., Moudrý, J., jr. 2011. Porovnání Charastice rákosovité (*Phalaris arundinacea* L.) a ozdobnice (*Miscanthus*) z produkčního hlediska. *Acta Pruhonica*. 97. 5-11.

Stražil, Z., Kohoutek, A., Diviš, J., Kajan, M., Moudrý J., Moudrý J., jr. 2011. Trávy jako energetická surovina – certifikovaná metodika pro praxi. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.. České Budějovice. 30 s. ISBN: 978-80-7394-313-4.

Struik, P.C., Amaducci, S., Bullard, M.J., Strutterheim, N.C., Venturi, G., Cromack, H.T.H. 2000. Agronomy of fibre hemp (*Cannabis sativa* L.) in Europe. *Industrial Crops And Products*. 11 (2-3). 107-118.

Škoda, A., Zábranská, J., Pokorná, D., Dohányos, M. 2010. Topinambur hlíznatý jako substrát pro bioplynové stanice [online]. *Biom.cz*. 21. července 2010. [cit. 2014-11-15]. Dostupné z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/topinambur-hliznaty-jako-substrat-pro-bioplynové-stanice>>.

Taherzadeh, M., Karimi, K. 2008. Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 9 (9). 1621-1651.

- Ust'ak, S. 2002. Šťovík Uteuša - plodina perspektivní pro fytoenergetiku [online]. Biom.cz. 1. července 2002. [cit. 2014-11-17]. Dostupné z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/stovik-uteusa-plodina-perspektivni-pro-fytoenergetiku>>.
- Váňa, J. 2007. Využití digestátu jako organického hnojiva [online]. Biom.cz. 25. dubna 2007. [cit. 2014-10-26]. Dostupný z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/vyuziti-digestatu-jako-organickeho-hnojiva>>.
- Vaněk, V., Balík, J., Pavlíková, D., Tlustoš, P. 2007. Výživa polních a zahradních plodin. Praha: ProfiPress, Praha. 167 s. ISBN 978-80-86726-25-0.
- Vindis, P., Mursec, B., Janezekovic, M., Cus, F. 2009. The impact of mesophilic and thermophilic anaerobic digestion on biogas production. Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering. 36 (2). 192-198.
- Vítěz, T., Kukla, R., Karafiát, Z., Haitl, M. 2011. Netekutá fermentace substrátů ze zemědělské činnosti [online]. Biom.cz. 21. března 2011. [cit. 2014-10-16]. Dostupné z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/netekuta-fermentace-substratu-ze-zemedelske-cinnosti>>.
- Wagner, O. A., Lins, P., Malin, C., Reitschuler, Ch., Illmer, P. 2013. Impact of protein-, lipid- and cellulose-containing complex substrates on biogas production and microbial communities in batch experiments. Science of the Total Environment. (458-460). 256-266.
- Weger, J. 2012. Výmladkové plantáže topolů a vrb. Biom.cz [online] 5. ledna 2011. [cit. 2014-11-14]. Dostupné z <<http://www.japonskytopol-rk.cz/news/biom-cz-cz-odborne-clanky-vymladkove-plantaze-topolu-a-vrb/>>.
- Wellinger A., Murphy, J., Baxter D. (eds.) 2013. The biogas handbook - Science, production and applications. Woodhead Publishing. United Kingdom. 501. ISBN: 978-0-85709-498-8.

Wetzel, S., Stafford, D.A., Crabtree, D.D., Bryant, J.A. 2008. Heavy metal profiles and reduction during the treatment of poultry waste using thermophilic anaerobic digestion. *Biostar Systems* [online]. 2008 (2). 1-10. Dostupné z <[http://www.biostarsystems.com/whitepaper/Paper\\_No\\_2.pdf](http://www.biostarsystems.com/whitepaper/Paper_No_2.pdf)>.

Yu, H.Q., Fang, H.H.P. 2001. Inhibition by chromium and cadmium of anaerobic digestion. *Water Science and Technology*. 43 (11). 267-274.

Zábranská, J. 2010. Intenzifikace výroby bioplynu z rostlinných materiálů [online]. *Biom.cz*. 18. října 2010. [cit. 2014-10-12]. Dostupné z <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/intenzifikace-vyroby-bioplynu-z-rostlinnych-materialu>>.