

Česká zemědělská univerzita v Praze

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních
zdrojů**

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Anaerobní digesce slunečnice topinambur
(*Helianthus tuberosus* L.)**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Miloslav Imlauf

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

Konzultant: Ing. Pavel Míchal

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Anaerobní digesce slunečnice topinambur (*Helianthus tuberosus* L.)" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové 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 diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 13. 4. 2017

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval mému vedoucímu diplomové 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 diplomové práce.

Anaerobní digesce slunečnice topinambur (*Helianthus tuberosus* L.)

Anaerobní digesce je kaskáda procesů vedoucích k tvorbě bioplynu jako hlavního produktu, přičemž vzniká jako vedlejší produkt digestát. Digestát je možné využít jako hnojivo, ale nabízí celou řadu dalších možností využívání. Nejvyužívanější plodinou k produkci bioplynu je kukuřice setá (*Zea mays* L.), s jejímž pěstováním jsou spojeny problémy s udržitelností půdní úrodnosti. Je proto třeba hledat alternativní plodiny pro produkci bioplynu. Jako jedna z alternativ byla vybrána slunečnice topinambur (*Helianthus tuberosus* L.), která je vhodná do všech systémů hospodaření a většiny výrobních oblastí České republiky.

V literární části se tato práce soustředila na popis procesu anaerobní digesce, podmínky průběhu a její využití pro produkci bioplynu a digestátu jako vedlejšího produktu. Zároveň je anaerobní digesce i pěstování slunečnice topinambur, jako nenáročné a zdraví prospěšné rostliny, zhodnoceno z pohledu ekologického zemědělství. Ostatní plodiny vhodné pro produkci bioplynu jsou hodnoceny zároveň z pohledu anaerobní digesce i vhodnosti do ekologického zemědělství.

Experimentální část práce se zabývala porovnáním různých částí rostlin slunečnice topinambur v různých metodách předúpravy s konvenčně pěstovanou nadzemní biomasou kukuřice seté v plné zralosti při jejich využití v produkci bioplynu procesem anaerobní digesce. Vlastní experiment probíhal během 58 dnů za využití vsázkových (tzv. batch) testů, které slouží k odhadům produkce bioplynu a methanu. Kromě produkce bioplynu bylo sledováno zastoupení methanu a řada dalších parametrů (pH, koncentrace mastných kyselin, koncentrace amoniakálního dusíku, chemická spotřeba kyslíku a degradace biomasy). U vlastního materiálu biomasy byla dále provedena analýza prvkového složení (C, N, S, H), umožňující odhad vlastností vhodných pro anaerobní digesci.

Nejvyšších výtěžků bioplynu a methanu bylo dosaženo u hlíz topinamburu (618,6 až 748,2 ml bioplynu z g sušiny; 411,3 až 507,9 ml methanu z g sušiny). Nadzemní biomasa topinamburu produkovala 363,4 až 445,2 ml bioplynu z g sušiny; 233,7 až 288,4 ml methanu z g sušiny. Kukuřice v plné zralosti dosahovala výtěžků 640,4 ml bioplynu z g sušiny; 389,8 ml methanu z g sušiny. Účinnou metodou předúpravy se ukázalo být mražení, a to pro hlízy topinamburu a sušení pro nadzemní biomasu topinamburu.

Klíčová slova: anaerobní digesce, bioplyn, methan, batch test, ekologické zemědělství, slunečnice topinambur

Anaerobic digestion of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.)

Anaerobic digestion is a cascade of processes leading to the production of biogas as a main product, while, as a by-product, the digestate is created. Digestate can be used as a fertilizer as a one of many options. Maize (*Zea mays* L.) is currently the most utilized crop for biogas production, while there are many issues connected with its cultivation and soil fertility. Alternative crops could be a new possibility for biogas production. One of these alternatives could be Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.), suitable for all agriculture systems and agricultural conditions of Czech republic.

Literary part of this thesis is focused on a description of anaerobic digestion processes, conditions, utilization for biogas and digestate production. Anaerobic digestion and Jerusalem artichoke cultivation, as an undemanding and health beneficial plant, are evaluated from the point of view of organic farming. Other crops suitable for anaerobic digestion are evaluated for organic farming as well.

Experimental part of this thesis compares above-ground (leaves and stems) and below-ground (tubers) biomass of Jerusalem artichoke in different pretreatment methods with above ground biomass of full ripeness maize in anaerobic digestion for assessing the biogas and methane potential of these crops. The experiment itself was taking place during 58 days in the form of batch tests, which serve as a estimation for biogas and methane production. In addition to batch tests, further analysis (pH, concentration of fatty acids, concentration of ammonia ions, chemical oxygen demand and biomass degradation) were made to evaluate closer interactions in the anaerobic digestion process itself. Input biomass was analyzed for C, N, S, H contents, to estimate proprieties of biomass suitable for anaerobic digestion.

The highest biogas and methane yield was measured in Jerusalem artichoke tubers (618,6 to 742,8 ml of biogas per g of dry matter; 411,3 to 507,9 ml of CH₄ per g of dry matter). Stems and leaves of Jerusalem artichoke produced 363,4 to 445,2 ml of biogas per g of dry matter; 233,7 to 288,4 ml of CH₄ per g of dry matter. Maize harvested in full ripeness produced 640,4 ml of biogas per gram of dry matter and 389,8 ml of methane per gram of dry matter. Freezing was determined to be an effective pretreatment on Jerusalem artichoke tubers, while drying was especially effective on Jerusalem artichoke stems and leaves.

Keywords: anaerobic digestion, biogas, methane, batch test, organic farming, Jerusalem artichoke

Obsah

1	Úvod	1
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	2
3	Literární rešerše	3
3.1	Anaerobní digesce	3
3.1.1	Procesy a průběh anaerobní digesce	3
3.1.2	Faktory ovlivňující anaerobní digesci.....	5
3.2	Bioplyn	12
3.2.1	Složení bioplynu	12
3.2.2	Využití a aplikace anaerobní technologie	13
3.2.3	Vedlejší produkty anaerobní fermentace	13
3.2.4	Suroviny pro anaerobní digesci	16
3.3	Biomasa	17
3.3.1	Fytomasa	17
3.3.1.1	Složení fytomasy.....	18
3.3.2	Vliv složení biomasy na produkci a kvalitu bioplynu	19
3.3.3	Předúprava	21
3.4	Ekologické zemědělství	23
3.4.2	Ekologické zemědělství ve vztahu k produkci bioplynu	26
3.5	Zemědělské plodiny vhodné k produkci bioplynu a jejich evaluace pro hospodaření v ekologickém zemědělství	31
3.5.1	Slunečnice topinambur (<i>Helianthus tuberosus</i> L.).....	31
3.5.2	Konopí seté (<i>Cannabis sativa</i> L.).....	35
3.5.3	Kukuřice setá (<i>Zea mays</i> L.).....	37
3.5.4	Travní porosty.....	40
3.5.5	Ozdobnice čínská (<i>Miscanthus sinensis</i> N.J. Andersson).....	42
3.5.6	Čirok obecný (<i>Sorghum bicolor</i> L.).....	43
3.5.7	Křídlatka (<i>Fallopia Adans. Syn. Reynoutria</i> Houtt.)	43
3.5.8	Další méně rozšířené plodiny	44

4	Experimentální část.....	45
4.1	Materiál a metody	45
4.1.1	Příprava materiálu před nasazením testu	46
4.1.2	Stanovení složení biomasy.....	47
4.1.3	Stanovení produkce bioplynu	47
4.1.4	Stanovení složení bioplynu.....	49
4.1.5	Stanovení sušiny a organické sušiny	50
4.1.6	Stanovení degradace biomasy.....	51
4.1.7	Stanovení amoniakálního dusíku	51
4.1.8	Stanovení chemické spotřeby kyslíku.....	52
4.1.9	Stanovení pH.....	53
4.1.10	Stanovení obsahu mastných kyselin	53
4.1.11	Zpracování dat	54
4.2	Výsledky.....	55
4.2.1	Vlastnosti biomasy vzorků pro anaerobní digesci	55
4.2.2	Produkce bioplynu	56
4.2.3	Produkce methanu.....	62
4.2.4	Degradace biomasy	67
4.2.5	Průběh fermentace a doplňkové analýzy	69
4.2.6	Produkce bioplynu a methanu vztažená k ploše	74
4.3	Diskuze.....	75
5	Závěr.....	82
6	Seznam použitých zdrojů.....	84

1 Úvod

Anaerobní digesce je kaskáda souběžně probíhajících procesů vedoucích k tvorbě bioplynu jako hlavního produktu, přičemž vzniká jako vedlejší produkt digestát, který je možné využít jako organické (organominerální) hnojivo. Při výrobě bioplynu se v České republice využívá zejména kukuřičná siláž, jejíž pěstování přináší problémy spojené (mimo jiné) s narušováním půdní úrodnosti. Vzhledem k prioritám minulého programovacího období (PRV 2007-2013) došlo v naší republice k nárůstu zemědělských bioplynových stanic, jejichž výstavba a využívání je ve vztahu k zemědělství a půdní úrodnosti přinejmenším diskutabilní.

Bioplyn, digestát, ale i samotné bioplynové stanice, leč nižšího objemu a výkonu mají své místo i v ekologickém systému hospodaření, kde by mohly sloužit jako zdroj obnovitelné energie a zároveň jako zdroj organominerálního hnojiva, kterých je v tomto systému hospodaření relativní nedostatek. Z uplatnění bioplynových stanic v ekologickém zemědělství vyplývá řada problémů s jejich provozem. Ať už je to nedostatek vstupní biomasy živočišného (keřda, hnůj) či rostlinného původu, nebo subjektivní pohled ekologických zemědělců na bioplynové stanice a obnovitelné zdroje energie obecně.

V České republice bylo k 31. 12. 2015 evidováno 507 bioplynových stanic (CzBA, 2016). Většina z uvedených bioplynových stanic je zřízených pro konvenční hospodaření, pouze několik málo bioplynových stanic operuje v ekologickém systému hospodaření. Tento fenomén je k nalezení zejména v zahraničních státech, jakými jsou Německo a Rakousko.

Nejen ekologické zemědělství, ale i konvenční zemědělství směřuje k lepšímu využívání zdrojů. Zejména díky implementaci integrované ochrany rostlin pro všechny zemědělce hospodařící se zdroji z Evropské unie i České republiky. Pěstování kukuřice pro produkci bioplynu v bioplynových stanicích s velkým objemem a výkonem není obhajitelné, a je proto třeba hledat alternativní zdroj biomasy, který by byl šetrnější k půdním zdrojům a zdrojům přírodním všeobecně. V této práci je popsána jako náhradní plodina slunečnice topinambur (*Helianthus tuberosus* L.), ale nejsou opomenuty ani další vhodné plodiny, které nalézají uplatnění v ekologickém zemědělství.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Pro diplomovou práci „Anaerobní digesce slunečnice topinambur (*Helianthus tuberosus* L.)“ byly zvoleny a následně testovány tyto dvě hypotézy:

1) Předpokládáme, že hlízy a nadzemní biomasa slunečnice topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) produkují stejné nebo podobné množství bioplynu jako konvenčně pěstovaná kukuřice na siláž.

2) Předpokládáme, že celkové množství methanu produkované hlízami a nadzemní biomasou slunečnice topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) je stejné nebo vyšší jako konvenčně pěstovaná kukuřice.

Cílem literární části práce je popsat princip anaerobní digesce, její jednotlivé fáze včetně produkce bioplynu a jeho složení. Dále vymezit podmínky ovlivňující stabilitu a účinnost procesu a charakterizovat vstupní suroviny vhodné pro fermentaci v bioplynových stanicích. Největší pozornost bude věnována slunečnici topinambur (*Helianthus tuberosus* L.). Vymezit možnosti využití anaerobní digesce a slunečnice topinambur v systému ekologického zemědělství.

Cílem experimentální části je stanovit produkci a složení bioplynu z biomasy slunečnice topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) anaerobně fermentované v různých poměrech nadzemní biomasy a hlíz a při různých metodách předúpravy vstupních surovin. V průběhu fermentace budou sledovány parametry jako hodnota CHSK, obsah amonného dusíku a mastných kyselin.

3 Literární řešerše

3.1 Anaerobní digesce

Anaerobní digesce je soubor procesů, při kterých je biologicky rozložitelná organická hmota – biomasa – postupně rozkládána směsnou kulturou anaerobních mikroorganismů bez přístupu vzduchu. Konečnými produkty jsou methan, oxid uhličitý, další minoritní plyny (H_2S , NH_3 , N_2 , H_2 , O_2) a nerozložený zbytek organické hmoty, tzv. digestát, který je hygienicky a sensoricky nezávadný pro životní prostředí (Kára a kol., 2008; Khanal, 2008).

Proces anaerobní digesce můžeme běžně nalézt v přirozeně anaerobních 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 organického průmyslového odpadu a z čistíren odpadních vod (Straka a kol. 2006; Khanal, 2008).

3.1.1 Procesy a průběh anaerobní digesce

Anaerobní digesce je kaskáda procesů, které na sobě závisí svými substráty a produkty, ale probíhají všechny současně a mají odlišné podmínky průběhu. Je proto nezbytné najít kompromisní rozmezí potřeb mikroorganismů tak, aby nedocházelo k ovlivňování jedné skupiny mikroorganismů na úkor druhé například složením substrátu (viz dále). Procesy anaerobní digesce jsou hydrolýza, acidogeneze, acetogeneze a methanogeneze (Straka a kol., 2006).

Systematicky první fáze – hydrolýza - začíná v době, kdy je v prostředí zastoupen vzdušný kyslík a vzdušná vlhkost přesahuje 50 % hm. podílu, dochází k rozkladu polymerů na jednodušší organické látky, monomery (Karafiát a Vítěz, 2009). Přítomné anaerobní bakterie přeměňují rozpuštěné i nerozpuštěné organické látky (peptidy, polysacharidy, tuk) pomocí extracelulárních hydrolytických enzymů (celuláza, celobiáza, xylanáza, amyláza, lipáza a proteáza) na nízkomolekulární látky (monosacharidy, aminokyseliny, mastné kyseliny) rozpuštěné ve vodě (Židek, 2004).

Při acidogenezi (druhá fáze) dochází k odstranění zbytků vzdušného kyslíku a vytvoření anaerobního prostředí, prostřednictvím fakultativních anaerobních mikroorganismů schopných aktivace v kyslíkatém prostředí (Karafiát a Vítěz, 2009). V této fázi jsou rozkládány produkty

hydrolýzy na jednodušší organické látky (kyseliny, alkoholy, CO₂, H₂). Fermentací těchto látek se tvoří řada finálních produktů, které jsou závislé na charakteru původního substrátu a podmínkách prostředí. Při přítomnosti velkého množství vodíku v prostředí jsou tvořeny vyšší organické kyseliny a alkoholy (kyselina mléčná, ethanol), při nízkých parciálních tlacích vodíku jsou pak produkovány především kyselina octová, CO₂ a H₂ (Žídek, 2004).

Mezi bakterie podílející se na hydrolýze a acidogenezi řadí Weiland (2010) čeledi bakterií *Streptococcaceae* a *Enterobacteriaceae* (fakultivní anaerobní mikroorganismy) a rody bakterií *Clostridium*, *Bifidobacterium* a *Bacteriocides* (obligátní anaerobní mikroorganismy).

Během acetogeneze (fáze třetí) převádějí acidotrofní kmeny bakterií vyšší mastné kyseliny (a některé další látky) na kyselinu octovou, vodík a oxid uhličitý (Karafiát a Vítěz, 2009). V této fázi probíhá redukce produktů acidogeneze homoacetogenními mikroorganismy z vyšších mastných kyselin, alkoholů a některých aromatických sloučenin. Jsou zde zastoupeny i minoritní skupiny mikroorganismů (sulfát redukující bakterie, nitrát redukující bakterie), které vedle kyseliny octové a vodíku produkují zároveň sulfan a dusík (Žídek, 2004).

Druhy bakterií zodpovědné za acetogenezi jsou *Syntrophobacter wollinii*, *Syntrophomonas wolfei* a *Syntrophus buswellii*. Reakce katalyzované těmito organismy probíhají za nízké koncentrace vodíku v prostředí. Vodík je z prostředí odváděn skupinou bakterií odpovědných za methanogenezi, a je tak z anaerobního prostředí soustavně převáděn do molekul methanu a dalších organických látek. Část vodíku uniká do samotného bioplynu (Straka a kol., 2006).

V methanogenezi (závěrečná fáze) jsou nejdůležitějšími mikroorganismy methanogenní acetotrofní mikroorganismy, které v převážně mírně alkalickém prostředí rozkládají hlavně kyselinu octovou, dále methanol, kyselinu mravenčí, methylamin na methan a oxid uhličitý. Hydrogenotrofní bakterie produkují methan z vodíku a oxidu uhličitého. Některé kmeny provádějí obojí (Karafiát a Vítěz, 2009; Žídek, 2004).

Hydrogenotrofní bakterie rodu *Methanobacterium* a druhu *Methanococcus mazei* jsou nejpočetnějšími mikroorganismy anaerobní digesce. Při methanogenezi se uplatňují i druhy acetotrofních bakterií, *Methanosarcina barkeri* a *Methanotrix soehngenii* (Straka a kol., 2006; Weiland, 2010).

Růst a vývoj bakterií je závislý na dodaném množství substrátu. Methanogenní bakterie, mají generační dobu dlouhou 2 až 20 dnů za teploty 35 °C. Od toho se odvíjí doba zdržení substrátu ve fermentoru, která by měla činit přibližně 10 až 15 dní (Gerardi, 2003).

3.1.2 Faktory ovlivňující anaerobní digesce

Jak již bylo uvedeno, anaerobní digesce je citlivou kaskádou procesů, na kterou působí celá řada vnějších i vnitřních vlivů. Jejich působení a dopady jsou probrány v následujících podkapitolách.

3.1.2.1 Anaerobní prostředí

Anaerobní prostředí je definováno jako prostředí bez přístupu vzduchu. Latinsky „*an aér bios*” v překladu „život bez vzduchu” představuje takové podmínky prostředí, ve kterých mohou žít pouze ty organismy, které nepotřebují ke svému životu vzduch, respektive vzdušný kyslík, který je pro dané organismy ve vysokých koncentracích toxický (Holland et al., 1987).

3.1.2.2 Mikroorganismy

Bakterie zapojené do procesu anaerobní digesce můžeme nalézt kdekoli v přírodě, jsou přirozenou složkou půdního edafonu a v nekontrolované kultivované formě, kterou lidstvo využívá právě k anaerobní fermentaci, se nacházejí v zaživacím traktu hospodářských zvířat jako inokulum pro zahájení tohoto procesu (Holland et al., 1987; Žídek, 2004).

Mikroorganismy umožňující anaerobní fermentaci můžeme rozdělit do pěti základních funkčních skupin (Gerardi, 2003; Stronach et al., 1986).

1. Mikroorganismy hydrolyzující, které svými extracelulárními enzymy (zejména hydrolázy) umožňují rozpad složitých organických látek (lipidy, proteiny, polysacharidy) na látky s méně složitou strukturou (vyšší mastné kyseliny, aminokyseliny a monosacharidy), které jsou substrátem pro další skupiny bakterií. K hydrolyzujícím bakteriím jsou řazeny čeledi *Clostridium* (*Cl. bifermentas*, *Cl. butryticum*, *Cl. lituseburensense*, a další), *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. cereus*, *B. stearothermophilus* a další) (Fröschle et al., 2015).

2. Bakterie fermentační přeměňující aminokyseliny a monosacharidy na kyselinu octovou, H_2 a CO_2 . Do této skupiny řadíme čeledi *Clostridium* (*Cl. butyricum*, *Cl. thermoaceticum* a *Cl. formicoaceticum*) a *Butyribacterium*.
3. Obligátní acetogenní bakterie, které zajišťují β -oxidaci vyšších mastných kyselin a přeměňují je na kyselinu octovou a H_2 . Tato skupina je zastoupena druhy bakterií *Syntrophobacter wolinii*, *Syntrophomonas wolfeii* a *Syntrophus buswelii*. Metabolické pochody těchto bakterií jsou možné pouze za předpokladu nízké koncentrace vodíku v prostředí, což zajišťují bakterie čtvrté skupiny.
4. Methanogenní bakterie produkující methan. Dělí se na dvě další podskupiny a to na bakterie produkující methan z H_2 a CO_2 – tzv. hydrogenotrofní methanogenní bakterie rodu *Methanobacterium* a druh *Methanococcus mazei*, a na bakterie produkující methan z kyseliny octové – tzv. acetotrofní methanogenní bakterie zastoupené zejména druhy *Methanosarcina barkeri*, *Methanospirillum hungatei* a *Methanobacterium ruminatum* (Fröschle et al., 2015).
5. Sulfát redukující bakterie, které svou činností degradují organické sloučeniny obsahující síru na methan a zároveň vylučují přebytečný sulfan (viz kapitola 3.1.2.7. Inhibitory), jsou častými konkurenty acetotrofních bakterií. K těmto bakteriím řadíme rody *Desulfovibrio* a *Desulfotomaculum* (Kelly, 2015).

Limitujícím faktorem účinnosti anaerobní digesce jsou methanogenní bakterie, které jsou nejvíce citlivé na změnu vnějšího prostředí (pH, teplota). Acetotrofní methanogenní bakterie, přestože nejsou nejpočetnější skupinou, vytvářejí až dvě třetiny celkového methanu v bioplynu. Svými metabolickými pochody při přeměně CO_2 a H_2 na CH_4 udržují na druhou stranu hydrogenotrofní methanogeny stálé pH, díky odebírání H_2 z prostředí. Nejvíce citlivé na pH a tedy přítomnost vodíku jsou pak acetogenní mikroorganismy zajišťující přeměnu mastných kyselin (propionová, máselná) na kyselinu octovou. Odběr vodíku je tedy nezbytnou součástí anaerobní digesce a celý proces je takto automaticky regulován (Žídek, 2004; Holland et al., 1987).

3.1.2.3 Teplota

Teplota je jedním ze základních požadavků na průběh biologických procesů, anaerobní digesce není výjimkou a může probíhat ve velkém rozpětí teplot. Anaerobní digesce jako soustava biochemických reakcí není samozáhřevná a vyžaduje dodávání tepla. Za psychrofilních teplot (pod 20 °C) může digesce probíhat, je však pomalá a neúčinná v likvidaci patogenních organismů. Většina moderních bioplynových stanic je provozována v teplotách mezofilních (s teplotami v rozmezí 35 °C až 40 °C) nebo termofilních (s teplotním rozmezím 50 °C až 55 °C). To zajišťuje jednak likvidaci nežádoucích organismů a také vyšší výkonnost při výrobě bioplynu, a to i při vysokých výkyvech venkovních teplot. Důležitým prvkem při anaerobní digesti je stálost teploty bioplynového reaktoru, neboť prudká změna teploty může vést ke snížení produkce bioplynu (Ward et al., 2008).

Vyšší teploty vedou k vyšší produkci bioplynu. Za termofilních podmínek dochází až k 150 % nárůstu produkce oproti mezofilním teplotám, také stupeň rozkladu organických látek je vyšší. Produkovaný bioplyn má pak vyšší podíl methanu a to zhruba o 2 %. Nevýhodou je nutnost dodávání energie na zvýšení a udržení teploty a větší náchylnost ke změnám vnějších podmínek. Z důvodu rychlejšího rozkladu organických látek je kratší doba zdržení biomasy v reaktoru a může tak dojít i ke zvýšení obsahů dusíkatých látek a těžkých kovů, což může mít negativní důsledky na průběh anaerobní fermentace (Vindis et al., 2009).

3.1.2.4 Hodnota pH a pufrací kapacita

Ideální hodnota pH pro anaerobní fermentaci zahrnuje poměrně úzký interval (pH 6,8 – 7,2), rychlost růstu methanogenních mikroorganismů je silně redukována při poklesu pH pod 6,6. Stejně tak silně alkalické prostředí vede k rozkladu mikroorganismů a k zastavení procesu. Na druhou stranu optimální pH pro hydrolyzu a acidogenezi se pohybuje mezi pH 5,5 – 6,5. Optimální pH pro methanogenezi se pohybuje mezi 6,7 – 7,4, při pH 8 dochází již k inhibici. Z tohoto důvodu se někdy preferuje rozdělení fermentoru jako dvoufázového procesu hydrolyza – acidogeneze a acetogeneze – methanogeneze (Ward et al., 2008).

Pufrací kapacita fermentované směsi je rovnováha mezi oxidem uhličitým a hydrogenuhličitanovými ionty, které poskytují odolnost vůči náhlým změnám hodnoty pH. Cromě Ca^{2+} a CO_3^- iontů se na pufracích mechanismech podílí celá řada dalších iontů. Kyseliny, vznikající při acidogenezi a acetogenezi, mají tendenci snižovat pH v reaktoru, na

druhou stranu amoniové inoty vznikající při rozkladu bílkovin mají zásaditou povahu a pH reaktoru naopak zvyšují, dochází tak k rovnováze mezi těmito dvěma faktory. Měření pufrací kapacity je spolehlivějším měřením vyrovnanosti procesu fermentace než přímé měření hodnoty pH. Při nízké pufrací kapacitě dojde k okamžitým změnám pH, což může vést k zastavení dějů fermentace, pokud je pufrací kapacita vysoká, změny pH se snáze vyrovnávají a k inhibici fermentace nedojde. V tomto případě je vysoká pravděpodobnost substrátového přetížení ve fermentoru (Wagner et al., 2013; Rajeshwari et al., 1999).

3.1.2.5 Složení substrátu

Vstupní surovina (popř. suroviny) významně ovlivňuje složení fermentované směsi, což se projeví ve výsledné produkci bioplynu a jeho složení. Nesprávné složení nebo náhlá změna vstupní suroviny může výrazně změnit vnitřní prostředí fermentoru a důsledkem toho může způsobit i kolaps celého procesu (Wagner et al., 2013).

Celulóza a hemicelulóza a další polysacharidy, nejvíce zastoupené v rostlinné biomase, se působením anaerobních mikroorganismů dobře rozkládají na metan a oxid uhličitý, ale díky přítomnosti ligninu, který je díky své struktuře vůči digesci zcela inertní a působí tak jako limitní faktor. Lignin obaluje molekuly celulózy a hemicelulózy, ty se pak stávají nepřístupnými pro enzymy mikroorganismů (McKendry, 2002). Škrobové polysacharidy se dobře rozkládají již při hydrolýze na jednoduché monosacharidy. Substráty bohaté na polysacharidy (např. brambory, řepa cukrová, kukuřice) mají tak kratší dobu zdržení ve fermentoru, což může při nedostatečné kontrole vést ke kolapsu procesu (Wagner et al., 2013).

Lipidy poskytují sice velmi vysoké obsahy methanu v bioplynu, jejich složitost využití spočívá v hydrofobních vlastnostech tuků, jež vyplouvají na hladinu digestované biomasy, oddělují se od vodné fáze, zpěňují hladinu a tvoří krustu, která brání dalšímu plnění bioreaktoru (Straka a kol., 2006).

Bílkoviny a proteiny se v anaerobní digesci rozkládají pomaleji než škrobové polysacharidy, a to z důvodu substrát-specifických enzymů potřebných k jejich rozkladu. Jednou z nevýhod je přítomnost dusíku a síry, které sice působí jako důležité živiny pro mikroorganismy, mohou však při vyšších koncentracích způsobovat nárůst koncentrací inhibičních látek, které mohou působit negativně na fermentační procesy (viz kapitola 3.1.2.7. Inhibitory) (Yang et al., 2015). Jednotlivé teoretické výtěžky bioplynu z popsaných látek jsou uvedeny v tabulce č. 4, kapitola 3.3.2.

Kromě obsahu látek v sušině je vlhkost substrátu dalším nezbytným parametrem pro správnou funkčnost anaerobní digesce. Celková vlhkost substrátu by neměla být nižší než 50 %, neboť hydrolyzující bakterie vyžadují ke správnému průběhu reakcí přítomnost vody (McKendry, 2002).

3.1.2.6 Nutrienty

Přítomnost přístupných živin v digestované biomase je kritickým parametrem hodnocení kvality vstupního materiálu a stability procesů v bioreaktorech. Bakterie anaerobní digesce vyžadují některé živiny a mikroelementy nezbytné pro jejich metabolismus. Jedná se zejména o dusík a fosfor, které jsou v digestátu hojně zastoupeny. A dále pak v nižších koncentracích síru, draslík, vápník, hořčík, železo, nikl, kobalt, zinek a měď. Přestože jsou potřebné pouze v malých koncentracích, jejich nedostatečná koncentrace může mít negativní vliv na přítomnost a růst mikrobiálních kultur (Rajeshwari et al., 2000).

Poměr uhlíkatých a dusíkatých látek (C:N) vstupního materiálu slouží jako orientační hodnocení vhodnosti tohoto materiálu. Poměr ve prospěch dusíkatých látek může vést k nárůstu inhibičních látek (NH_3 , N_2O , NO_x). Naopak poměr ve prospěch uhlíku vede k rychlému spotřebování dusíku a další rozklad biomasy methanogenními mikroorganismy se zpomaluje. Správným poměrem C:N až k optimálním hodnotám (20 - 30:1) je dosaženo kvalitním rozložením biomasy (Abbasi et al., 2012). Nejužší poměry C:N jsou pozorovány u kejdy a chlévské mrvy (C:N = 5 – 8:1), nejširší poměry pak u slámy (C:N = 60 – 100:1) a dřevěných pilin (C:N = 500:1). Široké poměry mají ty látky, které jsou bohaté na celulózu, hemicelulózu, lignin a další uhlíkaté látky. Užší poměry C:N jsou v kejdě (4 – 8:1) a mrvě díky vysokému obsahu dusíkatých látek, ať už bílkovin, aminokyselin a čpavku (Vaněk a kol., 2007).

Požadované optimum poměru C:N:P:S by mělo činit 100:5:1:1, což zhruba odpovídá odhadovanému složení mikrobiální biomasy (50 % C, 20 % O, 10 % H, 11 % N, 2 % P a 1 % S), z těchto důvodů je nutné mísit biomasu s širokým poměrem C:N s biomasou s vyšším obsahem dusíkatých látek (Drosg et al., 2008). Konkrétní poměry se pak odvíjejí od složení substrátu a jeho rozložitelnosti a tedy přístupnosti pro mikroorganismy. Optimální poměr C:N ve fermentované biomase pak tedy představuje 20 – 25:1 (Rajeshwari et al., 2000).

3.1.2.7 Inhibitory

Nižší mastné kyseliny jsou nepostradatelným prvkem fermentace, neboť právě z nich tvoří acetogenní bakterie kyselinu octovou jako substrát pro acetotrofní methanogenní bakterie. Nižší mastné kyseliny, jako kyselina propionová a kyselina máselná jsou ale také zodpovědné za inhibici anaerobní digesce při vyšších koncentracích v digestované biomase. Spíše než příčinou selhání procesu, jsou výsledkem přesycení fermentoru rychle rozložitelnými organickými látkami takovým způsobem, že acetotrofní methanogenní bakterie nejsou schopny dostatečně rychle zpracovávat nižší mastné kyseliny na methan. Výsledkem tohoto selhání je snížení pH a možný kolaps anaerobní digesce. Při fermentaci obtížně rozložitelných substrátů – lignocelulóзовé materiály jako dřevo, je pomalý nástup fermentace způsobený hydrolytickými bakteriemi, které nemohou díky ligninu rozložit celulózu na jednodušší látky. V obou případech je ale výsledek stejný, a to nízká produkce bioplynu (Ward et al., 2008).

Mezi další nižší mastné kyseliny (kyseliny s 6 a méně uhlíky), v anglické literatuře označovány jako „volatile fatty acids” (VFA), řadí Ahring et al. (1995) vedle kyseliny propionové, máselné a isomáselné, ještě kyseliny isovalerovou a valerovou.

Amoniak je produkován při biologické degradaci dusíkatých organických látek jako jsou proteiny a močovina. Amoniak slouží mikroorganismům jako zdroj dusíku a do koncentrace 200 mg.l⁻¹ má pozitivní účinky na růst a vývoj anaerobních bakterií. Při zvýšení koncentrace nad tuto úroveň může způsobovat nestabilitu fermentace. Ve fermentované biomase se vyskytují dvě formy amoniaku, disociovaný (NH₄⁺) a nedisociovaný (NH₃). Nedisociovaný amoniak je hlavní příčinou inhibice, neboť vstupuje přes permeabilní membránu do buňky bakterií, kde způsobuje narušení proteinové rovnováhy a deficienci draslíku. Zejména citlivé jsou acetotrofní a hydrogenotrofní methanogenní mikroorganismy, zatímco acidogenní populace zůstávají amoniakem téměř nedotčeny (Chen et al., 2008). Disociované amonné kationty (zásadité pH) pak působí jako pufr proti snížení pH způsobené nižšími mastnými kyselinami. Při vysokých koncentracích VFA a vysokých koncentracích NH₄⁺ nedojde k zastavení fermentace změnou pH, nýbrž přesycením substrátem (Wagner et al., 2013).

Chen et al. (2008) dále uvadějí zvýšení pH fermentované hmoty v důsledku zásadité povahy amoniaku, čemuž se předchází buď přidáním nebo již přítomnými kationty Ca²⁺, Na⁺ a Mg²⁺, které brání alkalickému působení amoniaku vyvázáním H⁺ kationtů, čímž dojde k

vyrovnání hodnoty pH. Adaptace mikroorganismů na přítomnost vyšších koncentrací amoniaku je také jednou z obranných schopností bakterií a zabraňuje kolapsu systému.

Sulfan je dalším významným inhibitorem fermentace, neboť svým kyselým působením snižuje pH. Přítomnost sulfanu ve fermentované biomase je způsobena sulfát redukujícími bakteriemi, které přetvářejí sírany v biomase, kromě methanu právě na sulfan. Působení sulfanu je redukováno pufracími mechanismy, popřípadě pomocí mikroaerace substrátu (Chen et al., 2008).

Těžké kovy nejsou, na rozdíl od výše uvedených substancí, biologicky degradovatelné a dochází k jejich kumulaci do potenciálně toxických koncentrací. Chrom, železo, zinek, kobalt, kadmium, nikl a měď jsou v určitých koncentracích pro mikroorganismy letální, nicméně některé z nich (Zn, Cu, Fe, a další) jsou v nízkých koncentracích nezbytnými prvky pro růst a vývoj bakterií. Acidogenní bakterie jsou citlivé na přítomnost zvýšené koncentrace mědi, na methanogeny působí pak zejména kadmium. V obou případech může dojít vlivem působení až k zastavení anaerobní fermentace. Omezení působení těžkých kovů je způsobeno prokázanou adsorbí na organickou hmotu nebo navázáním do chelátových vazeb (Chen et al., 2008).

Široké spektrum organických sloučenin je dalším významným inhibitorem fermentačních procesů. Látky jako fenoly, alkyly, nitrofenoly, alkoholy, halogenované alkoholy, ketony, étery, amidy, karboxylové kyseliny, nitrily, pyridin, některé detergenty a sufraktanty mají prokázaný efekt na účinnost anaerobní digesce. Jejich působení je látkově specifické a metody snižování jejich účinku omezené. Kromě adaptace mikroorganismů je možná změna genetické informace genetickým inženýrstvím nebo introdukce látkově specifických enzymů (Chen et al., 2008).

3.2 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 technologických zařízeních (reaktorech, digestorech, lagunách se zařízením na jímání bioplynu atd.). Bioplyn vzniká také v přírodě, například usazováním sedimentů na dně vodních ploch či toků, v půdě a v neposlední řadě vzniká v bachoru přežvýkavců (Pastorek a kol., 2004).

Bioplyn je zápalná (vznětlivá) směs plynů vzniklá přírodním procesem - anaerobní digescí (fermentací) bez přístupu vzdušného kyslíku. Hlavní složku tvoří methan (CH_4), dalšími, vedlejšími a často nežádoucími složkami jsou pak oxid uhličitý (CO_2), sulfan (H_2S), kyslík (O_2), a vodní pára (H_2O), poměr těchto plynů v produkovaném bioplynu bude uveden dále (Straka a kol., 2006).

3.2.1 Složení bioplynu

Hlavní složku bioplynu tvoří z 45 - 70 % methan a z 30 - 55 % oxid uhličitý, mezi vedlejší složky, podle původu vzniku bioplynu, řadíme dusík, sulfan, halogenované plyny a složku organickokřemičitou (Rasi, 2009).

Majoritními složkami bioplynu jsou především CH_4 a CO_2 , jejichž vzájemný poměr je velice proměnlivý, ovlivněný především složením degradovaného substrátu. Záleží také na aktuálním stavu procesu, kde vyšší koncentrace nižších mastných kyselin snižuje produkci methanu. Vyšší výtěžky 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).

Obsahy vedlejších složek v produkovaném bioplynu upřesňuje Herout et al. (2011) následovně: 0 - 10 % N_2 , 0 - 1 % H_2 , 0 - 3 % H_2S a 0 - 2 % O_2 . Dále uvádějí, že zvýšení plynů N_2 a O_2 je často v praxi způsobeno mikroaerálním odstraňováním sirných sloučenin.

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 – spalitelné látky (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).

3.2.2 Využití a aplikace anaerobní technologie

Výroby bioplynu je primárně využíváno v bioplynových stanicích (zemědělských, průmyslových i komunálních) a čistírnách odpadních vod, kde se bioplyn začal využívat. Bioplyn je v těchto zařízeních zachytáván, čištěn a sušen (odstranění $H_2O_{(g)}$ a H_2S) a následně spalován v kogeneračních (výroba energie a tepla) nebo trigeneračních jednotkách (kombinované výroby včetně výroby chladu). Efektivita výroby energie činí 30 - 43 %, přičemž 60 % připadá na výrobu tepelné energie. Zbýlých 10 % představují nezachytitelné tepelné ztráty. Teplo je pak možno využívat různými způsoby, například k ohřívání bioreaktorů a udržování stálého procesu anaerobní fermentace (Weiland et al., 2009).

Dalším možným využitím bioplynu je výroba paliva, biomethanu, kdy CH_4 dosahuje koncentrací 96 – 99 % z celkového bioplynu a je tak možné tento plyn využít jako náhradu zemního plynu (Čermáková, 2009). Nejnákladnějším je pak výroba vodíku z methanu, kdy ale vzniká ekologicky čisté palivo v podobě H_2 (Ruggeri et al., 2015).

3.2.3 Vedlejší produkty anaerobní fermentace

Kromě hlavního produktu, bioplynu, je anaerobní fermentací produkován také vedlejší produkt, tzv. digestát. Digestát je anaerobně stabilizovaný organický materiál bohatý na živiny, a skýtá tak možnost jej využít jako organické hnojivo, nebo dále zpracovávat například kompostováním (separát) (Tambone et al., 2010) nebo spalováním po jeho vysušení (Kratzeisen et al., 2010).

Digestát, směs kapalných a pevných frakcí, je možné dále dělit. Separací těchto dvou složek získáme fugát (tekutou frakci) a separát (pevnou frakci), které poskytují další možnosti využívání. Fugát jako náhražka močůvky nebo hnojůvky, tekutých stájových hnojiv, využívání

jako listového hnojiva, případně je možné jej využívat k ředění reaktoru. Separát je možné využívat jako podestýlkový materiál při chovu hospodářských zvířat, v podobě pelet jej spalovat nebo kompostovat (Kratzeisen et al., 2010), popřípadě jej využívat jako pěstebního substrátu (Tlustoš a kol., 2013).

3.2.3.1 Využití digestátu jako hnojiva

Hnojivé schopnosti digestátu, v porovnání s běžně používanými anorganickými a organickými hnojivy, popisuje Haraldsen et al. (2010) jako srovnatelné s organickými hnojivy. V porovnání aplikace digestátu a močoviny byly dosaženy srovnatelné hnojivé schopnosti. Při zapravení do půdy jsou zároveň eliminovány negativní sensorické vlastnosti digestátu (Riva et al., 2012).

Složení digestátu popisují Möller a Müller (2012) v tabulce č. 1. Složení se odvíjí od způsobu výroby digestátu, na vstupních surovinách a metodách předúpravy.

Tabulka č. 1 – Složení digestátu (Möller a Müller, 2012).

pH	sušina	org. látky	C:N	C	N
7,3 - 9	1,5 - 13,2 %	64 - 75 % sušiny	3 - 8:1	36 - 45 % sušiny	3 - 14 % sušiny
NH₄⁺	P	K	Ca	Mg	S
44 - 81 % celkového N	0,6 - 1,7 % sušiny	1,9 - 4,3 % sušiny	100 - 2300 ppm z kg sušiny	300 - 700 ppm z kg sušiny	200 - 400 ppm z kg sušiny

Využití digestátu jako hnojiva, poskytuje půdě a rostlinám rychle přístupné živiny, na druhou stranu vysoký obsah stabilizovaných organických látek napomáhá zvyšování koncentrací organické hmoty v půdě, čímž zlepšuje půdní strukturu a snižuje potřebu akutních anorganických hnojiv. Navíc, obvyklé, mírně zásadité pH digestátu může fungovat jako pufrací systém v případě aplikace na půdy s kyselým pH (Makádi et al., 2012).

Možným problémem v aplikaci organických hnojiv je kontaminace produktů bakteriemi (*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* a *Salmonella*) zejména u produktů konzumovaných v čerstvém stavu (saláty, zelenina) (Murphy et al., 2016). Anaerobní digesce je schopna odstranit nežádoucí zárodky hub, bakterií, virů a dokonce i semen plevelů. Účinnějšími se jeví vyšší teploty termofilní anaerobní digesce (Weiland et al., 2009).

3.2.3.2 Legislativní úprava hnojení digestátem

Z tohoto důvodu je aplikace digestátu jako hnojiva ošetřena zákonem č. 156/1998 Sb., o hnojivech a zejména pak vyhláškou 131/2014 Sb., o stanovení požadavků na hnojiva, ve znění pozdějších předpisů. Dle této vyhlášky je digestát organické hnojivo typové (typ 18.1 e) a musí splňovat limitní hodnoty rizikových prvků uvedených v příloze této vyhlášky v okolí povrchových vod a sousedních pozemcích. Nařízení vlády č. 262/2012 Sb., zejména pak omezení hnojení dusíkem a respektování období zákazu hnojení. Digestát je třeba aplikovat na pozemku rovnoměrně a je nutno zamezit vniknutí digestátu do podzemních vod. Nezbytná je také kontrola koncentrací rizikových prvků, jejichž hladiny nesmí pro použití digestátu jako hnojiva přesahovat limitní hodnoty uvedené v tabulce č. 2. Nitrátová směrnice řadí digestát mezi organická a organominerální hnojiva. Dávka digestátu a frekvence hnojení digestátem je v současné legislativě ještě omezena vyhláškou č. 377/2013 Sb., o skladování a způsobu používání hnojiv a Nařízením vlády č. 262/2012 Sb., o stanovení zranitelných oblastí a akčním programem (tzv. Nitrátová směrnice) (Došek a kol., 2015).

Tabulka č. 2 Limitní hodnoty rizikových prvků digestátu (dle vyhlášky č. 131/2014 Sb.)

Rizikový prvek	Cd	Pb	Hg	As	Cr	Cu	Mo	Ni	Zn
Koncentrace [mg.kg ⁻¹ sušiny]	2	100	1	20	100	150	20	50	1200

Digestát je jako organické hnojivo zařazen podle zákona č. 254/2001 Sb., o vodách, mezi tzv. závadné látky. Ten, kdo zachází se závadnými látkami, je povinen učinit přiměřená opatření, aby nevnikaly do podzemních nebo povrchových vod a neohrozily životní prostředí. To představuje dodržovat při aplikaci digestátu následující opatření, které jsou v souladu s výše zmíněným nařízením vlády č. 103/2003 Sb., o stanovení zranitelných oblastí a používání a skladování hnojiv a statkových hnojiv, střídání plodin a provádění protierozních opatření v těchto oblastech (Došek a kol., 2015). Pro aplikaci a použití digestátu existuje ještě celá řada dalších omezení, ty nejpodstatnější pro tuto práci jsou uvedeny v kapitole 3.4.3 Ekologické zemědělství ve vztahu k produkci bioplynu.

3.2.4 Suroviny pro anaerobní digesce

Jako suroviny využitelné k fermentaci se využívají zejména vedlejší produkty živočišné výroby jako kejda a mrva všech hospodářských zvířat. V některých státech dokonce i lidské exkrementy, kaly z čistíren odpadních vod a biologicky rozložitelný komunální odpad. Tyto uvedené zdroje produkují bioplyn v dostatečném množství samy o sobě. K navýšení produkce a zlepšení kvality bioplynu se využívá procesu kofermentace, kdy k výše uvedeným produktům živočišné výroby přidáváme buď konzervovanou nebo čerstvou biomasu získanou buď cíleným pěstováním (kukuřičná siláž, travní siláž se sníženým obsahem sušiny, piliny, cukrovarnické řízky, alternativní plodiny atd.) nebo komunální odpad. Produkce bioplynu z jednotlivých surovin je různá, jak již bylo uvedeno, a liší se i kvalitou vyprodukovaného plynu (obsah CH₄) (Pastorek a kol., 2004). V tabulce č. 3 je uveden zisk methanu z anaerobní digesce dle použitých surovin.

Tabulka č. 3 – Produkce methanu dle použitých surovin (Ward et al., 2008).

Surovina	Mrva skotu	Kejda prasat	Kukuřičná siláž	Čerstvá kukuřice	Komunální odpad	Řepka ozimá	Ozimý ječmen (biomasa)	Celulóza
CH ₄ [m ³ .kg ⁻¹ sušiny]	0,32 (0,14)*	0,36	0,39	0,37	0,22	0,42	0,36	0,36

*s tržní produkcí mléka

Použitím vedlejších produktů z živočišné výroby pro výrobu methanu se redukuje objem skleníkových plynů, které se běžně uvolňují při skladování těchto materiálů. Nevýhodou těchto materiálů je vysoká koncentrace čpavku, daleko za potřebami mikroorganismů, což může vést k nestabilitě procesu. Další složkou, jež působí proti kvalitní fermentaci těchto materiálů, je vysoký obsah obtížně rozložitelné vlákniny. Použitím metod předúpravy ke zmenšení vláknitých partikulí vstupního materiálu, zvětšení aktivního povrchu a tím snadnějšímu napadení mikroorganismy anaerobních kultur, je možno zvýšit produkci bioplynu až o 20 % (Ward et al., 2008).

3.3 Biomasa

Biomasa je definována jako organická hmota biologického původu, která zahrnuje rostlinnou biomasu (fytomasu) pěstovanou na půdě, hydroponicky nebo ve vodě, živočišnou biomasu, potraviny, vedlejší organické produkty a organické odpady. Biomasu je možno využívat k energetickým účelům, a to buď jako záměrně získávanou výsledkem výrobní činnosti, nebo využíváním odpadů ze zemědělské, potravinářské a lesní výroby, průmyslové výroby, z komunálního hospodářství, z údržby a péče o krajinu (Kára a kol., 2008; Bracmort, 2015).

3.3.1 Fytomasa

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. Obnovitelný charakter biomasy jako zdroje energie má 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.

Produkce energetických plodin podléhá kritice nejen ze strany odborné veřejnosti, ale také ze strany konzumentů a běžné populace. Východisko vidí Tilman et al. (2009) ve využívání odpadů z výroby potravin, bioodpadů, gastroodpadů a vedlejších produktů živočišné, ale i rostlinné výroby, popř. průmyslu (dřevozpracující), aby došlo k eliminaci negativních dopadů zemědělství, jehož část není využívána k produkci surovin, potravin a krmiv, nýbrž k energetickým účelům (Tilman et al., 2009).

3.3.1.1 Složení fytomasy

Rostlinné tkáně můžeme rozdělit do rozličných skupin dle umístění, mechanismu využívání rostlinou nebo chemického složení (Kögel-Knabner, 2002).

Hlavní složkou fytomasy jsou polysacharidy a lignin lokalizované zejména v buněčné stěně rostlinné buňky. Ta se kromě ostatních složek (lipidy, proteiny, lipoproteiny a popeloviny) skládá především z celulózy (34 %), hemicelulózy (37,5 %) a ligninu (8 až 22 %). Dlouhá vlákna celulózy a hemicelulózy jsou obaleny obtížně rozložitelným ligninem, který brání bakteriím v rozkladu a konzumaci celulózy a hemicelulózy. Tyto látky kromě mechanické a chemické obrany působí jako stavební látky a svou pevností umožňují vzpřímený růst rostlin (Forster-Carniero et al., 2012). Ostatní mono-, oligo-, a polysacharidy slouží jako zásobní látky (sacharóza, glukóza, fruktóza, škrob a další). Svým zastoupením ve fytomase se liší dle zkoumaných plodin a jejich schopnosti tyto látky tvořit (Kögel-Knabner, 2002).

Proteiny a bílkoviny slouží intracelulárně jako enzymy, transportní regulátory, zásobní látky a strukturální proteiny. Tyto vysokomolekulární polymery jsou složeny z 20 proteinogenních aminokyselin spojených peptidickými vazbami (Kögel-Knabner, 2002).

Lipidy jsou organické látky nerozpustné ve vodě. Jsou to deriváty mastných kyselin jednosytného nebo vícesytného alkoholu. Podle sytnosti alkoholu je dále dělíme na vosky (estery mastných kyselin a primárních nebo sekundárních alifatických alkoholů) a na tuky a oleje (estery mastných kyselin a terciárního alkoholu glycerolu – triacylglyceroly). Slouží především jako zásobní látky (triacylglyceroly), jako ochrana před vnějšími vlivy na povrchu rostlin (vosky) nebo jako pomocné látky zejména v membránách buněk, a to jako deriváty lipidů (fosfolipidy, glykolipidy a lipoproteiny) (Heldt a Piechulla, 2011).

Ostatní, minoritní, látky obsažené v tělech rostlin zahrnují alkaloidy, silice, glykosidy, třísloviny, saponiny a pryskyřice, které mají funkci obranou proti vnějším vlivům jako mikroorganismy, škůdci a choroby (Barnes et al., 2007).

3.3.2 Vliv složení biomasy na produkci a kvalitu bioplynu

Rozmanité makromolekulární složení fytomasy, přítomnost nežádoucích látek a strukturální složení jednotlivých orgánů rostlin ovlivňuje schopnost anaerobních mikroorganismů rozkládat dané organické látky a sloučeniny na bioplyn. 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 (Wagner et al., 2013). Weiland (2009), popisuje teoretickou výtěžnost bioplynu z jednotlivých komponent rostlinné biomasy v tabulce č. 4.

Tabulka č. 4 – Teoretická výtěžnost bioplynu ze specifických substrátů (Weiland, 2009).

	Objem bioplynu [l.kg⁻¹ sušiny]	Obsah CH₄ [%]	Obsah CO₂ [%]
lignin	0	-	-
polysacharidy	800	50	50
lipidy	1 200	70	32
bílkoviny	700	68	30

Wagner et al. (2013) uvádí nejvyšší výtěžnost methanu anaerobní digescí z bílkovinných a na lipidy bohatých substrátů, za předpokladu, že nedojde k inhibici mikroorganismů vznikajícím amoniakem (bílkovinné substráty), nebo zvýšenou koncentrací mastných kyselin (lipidové substráty). Substráty bohaté na polysacharidy (včetně celulózy) jsou dobrým zdrojem bioplynu, ale vzhledem k rychlému rozkladu ve vodním prostředí dochází k zvýšení koncentrace rychle rozložitelných monosacharidů, důsledkem toho je zvýšení koncentrace organických kyselin a změna pH.

Důležitým aspektem při hodnocení vhodnosti biomasy pro anaerobní digesci je nejen aktuální složení fytomasy, ale také stáří rostlin a fáze jejich fyziologického vývoje. V průběhu života rostliny totiž dochází ke změnám poměrů složení rostlinných buněk. Mladé buňky obsahují v intracelulárním prostoru více proteinů (33 %), lipidů (10 %) a minerálů (12 %) než staré rostlinné buňky s obsahem proteinů (7 %), lipidů (3 %) a minerálů (5 %). Obsah sacharidů v intracelulárním obsahu buněk oproti tomu vykazuje nárůst z 10 % u mladých buněk na až 25 % u buněk starších.

Na druhou stranu obsah látek v buněčné stěně mladých rostlinných buněk je relativně nízký. Poměr hemicelulózy (14 %), celulózy (18 %) a ligninu (3 %) u mladých rostlinných

buněk se mění na poměr hemicelulózy (23 %), celulózy (30 %) a ligninu (7 %) u starých buněk vlivem prodlužovacího růstu a tloušťnutí buněčné stěny. Rozložitelnost těchto substrátů je pak nižší a fyziologicky starší rostlinná biomasa je pak málo přístupná k rozkladu anaerobními mikroorganismy. Z tohoto důvodu se využívá metod předúpravy substrátu (Korres et al., 2013).

3.3.3 Předúprava

Pro zvýšení rozložitelnosti obtížně degradovatelných substrátů (lignocelulózy) jsou používány různé metody předúpravy, které vedou ke zvýšení rozložitelnosti a v souladu s tím i k vyšší produkci bioplynu a zastoupení methanu. Metody předúpravy jsou zaměřeny na fyzikální, chemické nebo biologické změny substrátu, vedoucí k jeho snazší rozložitelnosti. Ať změnou chemického složení, chemickým rozkladem, mechanickým rozkladem a tím k zvětšení aktivního povrchu (Ward et al., 2008).

Forster-Carniero et al. (2012) rozdělují metody předúpravy následovně:

- 1) Fyzikální metody jsou založené na principu usnadnění přístupu hydrolytických bakterií do rostlinné buňky fyzikálním poškozením rostlinné buněčné stěny a zpřístupněním snadno fermentovatelných látek.
 - a) Mechanické metody zahrnují zejména zvětšení povrchu přístupného pro bakterie rozmělněním biomasy na menší částice. Tím se také docílí lepší rozpustnosti a absorpce vody do substrátu. Mechanická předúprava zahrnuje také vysokotlakou homogenizaci substrátu, kde dochází ke zvýšení tlaku působícího na substrát, který se za prudkého podtlaku následně homogenizuje.
 - b) Termické metody využívají tepelnou nestabilitu organických látek a jejich rozpad na jednodušší sloučeniny. Další z termických metod je mražení substrátu, kde krystalky vody utvořené v buňkách rostlin penetrují buněčnou stěnu a dochází ke zvýšení přístupnosti obsahu buněk pro mikroorganismy anaerobní digesce.
 - c) Ultrazvukové metody aplikují silné zvukové vlny o dané intenzitě a vlnové délce (nad 20 kHz) do substrátu o vysoké vlhkosti. Tyto extrémně vysoké frekvence způsobují tzv. kavitaci. Kavitace je fenomén, při kterém vlivem ultrazvuku v tekutině vznikají malé bublinky plynu, které následně implodují a produkují tak lokálně vysoké teploty a změny tlaku. Tyto rázové vlny pak dramaticky působí na okolní struktury a zlepšují jejich přístupnost pro bakterie anaerobní digesce.
 - d) Kombinace výše uvedených, například termotlaké předúpravy

- 2) Chemické metody – alkalické či acidické hydrolýzy, ozonizace, vlhká oxidace, a organosolvence zlepšují rozpustnost organických látek ve vodném prostředí fermentoru a zlepšují pufrovací schopnosti substrátu.
- 3) Biologické metody enzymatické povahy využívají zpravidla dřevokazných hub a mikroorganismů k rozložení ligninových látek, nevýhodou je dlouhá časová náročnost a následná nutnost dosoušení a chlazení k testování efektivity enzymatické aktivity.

3.4 Ekologické zemědělství

Ekologické zemědělství je udržitelný systém hospodaření, s velkým dopadem na socioekonomický statut malých farmářů ve venkovských oblastech, zejména pak v rozvíjejících se zemích. Tento systém hospodaření obohacuje půdu a ozdravuje ekosystém, a to díky značnému legislativnímu omezení používání průmyslových hnojiv, pesticidů a uzavřenému koloběhu faremních odpadů (Nandwani a Nwosisi, 2016).

3.4.1.1 Současný stav ekologického hospodaření

Provoz ekologického zemědělského podniku v České republice a výroba biopotravin jsou v celém procesu upraveny zákonem č. 242/2000 Sb., o ekologickém zemědělství, v platném znění, vyhláškou MZe ČR č. 16/2006 Sb., kterou se upravují některá ustanovení zákona o ekologickém zemědělství a Nařízením Rady (ES) č. 834/2007, o ekologické produkci a označování ekologických produktů a o zrušení nařízení (EHS) č. 2092/91. Nařízením komise č. 889/2008, kterým se stanoví prováděcí pravidla k nařízení Rady (ES) č. 834/2007 a Nařízením komise (ES) č. 1235/2008, kterým se stanoví prováděcí pravidla k nařízení Rady (ES) č. 834/2007 o opatření pro dovoz ekologických produktů ze třetích zemí (Václavík, 2008; MZe ČR, 2015a; Šarapatka a Urban, 2007).

Kontrolou dodržování právních norem a certifikací jsou v současné době Ministerstvem zemědělství ČR pověřeny čtyři soukromé kontrolní subjekty: ABCERT AG, organizační složka, Brno; Biokont CZ s.r.o., Brno; KEZ, o.p.s., Chrudim a BUREAU VERITAS CZECH REPUBLIC, spol. s r.o., Praha. Jejich úkolem je kontrolovat, zda zemědělský podnik řádně dodržuje právní předpisy pro ekologické zemědělství, zaručit konzumentům pravost bioproduktu, umožnit producentovi používat ochrannou známku u uznaných bioproduktů a chránit jej před nekalou konkurencí. Neutralita a objektivita těchto orgánů je zajištěna akreditací kontrolního a certifikačního systému podle ČSN EN ISO/IEC 17065:2013 Českým institutem pro akreditaci, o.p.s. Dle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 882/2004 o úředních kontrolách za účelem ověření dodržování právních předpisů týkajících se krmiv a potravin a pravidel o zdraví zvířat a dobrých životních podmínkách zvířat, je Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský ustanoven jako státní kontrolní orgán pro ekologické zemědělství a je tedy pověřen prováděním úředních kontrol v ekologickém zemědělství (MZe ČR, 2015a).

Ekologické zemědělství vzniklo z poptávky společnosti po bezpečných a zdravých potravinách realizovaných za dlouhodobě udržitelné produkce. Přestože ekologické zemědělství nabývá na popularitě, čelí také mnoha překážkám k zajištění dostatečné produkce potravin k potřebám populace (Nandwani a Nwosisi, 2016).

V současné době plocha využívaná k ekologickému hospodaření činí světově cca 40 milionů hektarů (Nandwani a Nwosisi, 2016). V České republice pak představuje 493 971 ha (11,58 %) z celkové výměry 4 264 tis. ha zemědělského půdního fondu (MZe ČR, 2015b).

Vývoj v průběhu let 1999 – 2014 uvádí tabulka č. 5 (MZe ČR, 2015b). Dřívější data nebyla pro nedostatek dat uvažována. V roce 1990 u nás hospodařili 3 ekologické farmy na 480 ha. Roky 1991 – 1998 vykazují postupně rostoucí tendenci.

Tabulka č. 5 – Vývoj ekologického zemědělství v České republice v letech 1999 – 2014 (MZe ČR, 2015b).

Rok	Celková výměra [ha]	Orná půda [ha]	Trvalé travní porosty [ha]	Trvalé kultury [ha]	Ostatní plochy [ha]	Počet podniků [Σ]	Podíl ze ZPF [%]
1999	110 756	13 776	96 044	359	576	473	2,58
2000	165 699	15 295	149 705	462	237	563	3,86
2001	217 869	19 164	195 633	963	2 354	654	5,09
2002	235 136	19 536	211 924	898	2 778	721	5,50
2003	254 995	19 637	231 683	928	2 747	810	5,97
2004	263 299	19 694	235 379	1 170	7 056	836	6,16
2005	254 982	20 766	209 956	820	23 440	829	5,98
2006	281 535	23 479	232 190	1 196	24 671	963	6,61
2007	312 890	29 505	257 899	1 870	23 616	1 318	7,35
2008	341 632	35 178	281 596	3 105	21 753	1 946	8,04
2009	398 407	44 906	329 232	4 331	19 937	2 689	9,38
2010	448 202	54 717	369 057	5 939	18 054	3 517	10,55
2011	482 927	59 281	398 061	7 429	18 157	3 920	11,40
2012	488 483	58 625	404 950	7 693	17 215	3 923	11,56
2013	493 896	56 286	412 158	7 837	17 615	3 926	11,70
2014	493 971	56 395	412 644	7 774	17 158	3 885	11,72

3.4.1.2 Vliv ekologického hospodaření na životní prostředí

Ekologické zemědělství je alternativní produkční systém k současným konvenčním zemědělským praktikám, vyhýbá se použití syntetických pesticidů a průmyslových hnojiv a spoléhá se především na biologickou ochranu rostlin, bohatý osevní postup, zelené hnojení, kompostování a další využívání vedlejších produktů zemědělské produkce k udržení půdní úrodnosti. Hlavními cíli ekologického zemědělství a principy k jejich dosažení jsou především ochrana životního prostředí, minimalizace degradace půd, eroze, snížení znečištění a optimalizace biologické aktivity půd, zároveň tak udržování půdní úrodnosti, zvyšování biodiverzity v ekologických systémech hospodaření, uzavřený koloběh zdrojů a odpadů a spoléhání se na obnovitelné zdroje (Nandwani a Nwosisi, 2016).

Václavík (2008) dále doplňuje vytváření životních podmínek zvířat, které odpovídají jejich fyziologickým a etologickým potřebám, uchování přirozených ekosystémů krajiny, vytváření pracovních příležitostí, udržování osídlení venkova a tradičního rázu zemědělské kulturní krajiny a umožnit zemědělcům a jejich rodinám ekonomický a sociální rozvoj.

Tyto principy jsou v souladu s agroenvironmentální politikou Evropské Unie, která má za cíl ochranu a zlepšení životního prostředí, zachování krajiny a jejích vlastností. Dále podporuje zachování obhospodařovaných území, přírodních zdrojů, biologické rozmanitosti a údržbu krajiny. Mezinárodně byla tyto pravidla ustanovena Mezinárodní federací hnutí ekologických zemědělců IFOAM (International Federation of Organic Agriculture Movements) (Stolze et al., 2000).

Ekologické zemědělství je označováno za zemědělský systém, který vede k celkovému snížení dopadů hospodaření na životní prostředí. Studie provedené k tomuto tématu poukazují na fakt, že ekologické zemědělství má pozitivní vliv na životní prostředí, jen co se týče dopadů na jednotku plochy. Na jednotku produkce jsou dané dopady zpravidla nižší (Tuomisto et al., 2012).

3.4.2 Ekologické zemědělství ve vztahu k produkci bioplynu

Jak již bylo uvedeno jedním z principů ekologického zemědělství je využívání obnovitelných zdrojů a zároveň lepší využívání koloběhu zdrojů a vedlejších produktů na ekologické farmě (Nandwani a Nwosisi, 2016). Nezanedbatelný je také vliv přirozeně vznikajícího bioplynu z vedlejších produktů živočišné výroby. Methan a oxid uhličitý jsou hlavními skleníkovými plyny a jejich zachytávání a spalování, zejména methanu, vede k redukci jejich vlivů na životní prostředí, zejména z živočišné produkce (Chen et al., 2017).

Současná světová poptávka po energii a snaha nahradit fosilní paliva vedla k výraznému zvýšení produkce biomasy v zemědělských systémech pro účely obnovitelných a udržitelných zdrojů energie. Zároveň jsou kritizovány industriální producenti energetických plodin za celou škálu problémů s udržitelností produkce (pěstování monokultur, biodiverzita, vysoké vstupy do půdy, potravinová bezpečnost) (Siegmeier et al., 2015). Dle Cornelissen et al. (2012) bude produkce biomasy jako jednoho z hlavních pilířů obnovitelných zdrojů energie figurovat po dalších 10 až 20 let jako náhražka fosilních paliv a snižování emisí skleníkových plynů. Z pohledu politiky obnovitelných zdrojů Evropské unie a České republiky nejsou dosahovány primární cíle výstavby bioplynových stanic (vyšší ekologická stopa energetických plodin než odpadní biomasy, nedostatečné využití vznikajícího tepla v bioplynových reaktorech atd.) (Martinát et al., 2016).

Ekologické zemědělství poskytuje alternativní přístup k zemědělství a poskytuje řadu environmentálních a sociálních výhod. Ekologické praktiky redukuje negativní efekty spojené s konvenčními systémy za cenu nižších hektarových výnosů (Siegmeier et al., 2015).

Česká bioplynová asociace eviduje ke konci roku 2015 celkem 507 bioplynových instalací (včetně 70 kogeneračních jednotek využívajících elektřiny ze skládkového plynu) s celkovým výkonem 358 MW a produkcí elektřiny 2,6 TWh za rok. Z celkové výroby energie České republiky představuje bioplyn 3 %, to je zároveň 24 % podílu na výrobě elektřiny z obnovitelných zdrojů energie (CzBA, 2016). Nejsou uvedeny počty ekologických zemědělců provozujících bioplynovou stanici, vzhledem k současnému stavu lze předpokládat, že se tomuto odvětví, zejména z finančních důvodů věnuje malá hrstka českých ekologických zemědělců. Pro odpověď na otázku provozu ekologických bioplynových stanic se musíme obrátit do zahraničí, zejména pak do Německa, kde je v provozu 180 bioplynových stanic v ekologickém režimu (k r. 2011), což představuje 0,8 % všech ekologických zemědělců v

Německu (Sigemeyer et al., 2015). Malých bioplynových stanic, resp. domácích fermentorů, je využíváno zejména v Jihovýchodní Asii, kde slouží jako zdroj plynu pro chod domácností a jsou vzhledem k malé finanční náročnosti hojně rozšířené, zejména pak v Malajsii (Putra et al., 2016) a Číně (Chen et al., 2017).

Důvody k takto nízkému využívání bioplynu k výrobě energie v ekologickém zemědělství jsou především ideologické názory v opozici produkce bioenergie, nedůvěra v digestát a jeho hnojivé účinky včetně vlivu na půdní mikroorganismy, hygienu půdy. Dále etické problémy v pěstování plodin k energetickým účelům versus produkce potravin a krmiv. Tyto názory jsou ale prezentovány i konvenčními zemědělci. Nejdůležitějším důvodem je pak ekonomická situace ekologických zemědělců (Sigemeyer et al., 2015).

3.4.2.1 Příležitosti a překážky v energetice na ekologických farmách

Potenciálními přínosy výroby bioplynu pro ekologické zemědělství jsou výroba energie z vlastních zdrojů a zvýšení soběstačnosti ekologických farem, snížení ekologické (uhlíkové) stopy a vlivu zemědělství na životní prostředí. Kromě elektrické energie také výroba tepla, popř. chladu (Sigemeyer et al., 2015). Využití digestátu je popsáno dále.

Překážky pro využívání bioplynu v ekologickém zemědělství jsou vysoká pořizovací cena velkých bioplynových zařízení včetně kogeneračních jednotek, nedůvěra ve využívání digestátu jako hnojiva a zároveň kategorické odmítání bioplynové technologie zemědělci, a to nejen ekologickými. Dále je v ekologickém zemědělství omezeno použití silážovacích aditiv, které zajistí správnou a kvalitní přípravu siláže. Je tak omezena její kvalita a tím i energetický potenciál (Sigemeyer et al., 2015). Využíváním malých a dostupných, popř. rodinných fermentorů, by byly sníženy emise skleníkových plynů (CH_4 , N_2O) a zároveň by docházelo k výrobě elektřiny (s využitím kogeneračních jednotek malého výkonu – do 50 kW), popř. tepla alespoň pro částečné pokrytí energetických potřeb farmy. Vznikající digestát by bylo možné využívat jako hnojivo (Chen et al., 2017).

Nejvíce využívané substráty pro výrobu bioplynu v ekologickém zemědělství zahrnují kravský hnůj (24 %), prasečí hnůj (9 %), kejdu z chovu skotu (2 %), travní siláž se zvýšeným obsahem sušiny (4 %), obilnou siláž (9 %), kukuřičnou siláž (48 %) a ostatní substráty (4 %) a jejich vzájemnou kofermentaci (Einfalt a Kazda, 2015). Kukuřičná siláž je nejvyužívanějším substrátem pro kofermentaci s chlévskou mrvou jak v konvenčním, tak v ekologickém zemědělství, a její využívání je často kritizováno pro negativní ekologické dopady včetně eroze

a ohrožení potravinové bezpečnosti. Travní porosty, jeteloviny a jejich směsi, spolu s vedlejšími produkty živočišné výroby vytváří hodnotné substráty pro bioplynové stanice v ekologickém zemědělství. Travní porosty a jeteloviny slouží jako významné meziplodiny v ekologickém zemědělství, což z nich činí vhodný materiál pro kofermentaci bez konfliktů s produkováním potravin. Na farmách bez fermentorů jsou často pouze mulčovány a dochází tak ke ztrátám živin, zejména dusíku. Toto působení je ve fermentoru eliminováno a kofermentované travní porosty a jeteloviny slouží jako hodnotné hnojivo (Einfalt a Kazda, 2015).

Produkce bioplynu z hlediska produkovaného methanu je v ekologickém zemědělství nižší oproti konvenčním bioplynovým stanicím. To je způsobeno využíváním odlišných plodin pro produkci a zároveň větším zastoupením vedlejších produktů živočišné produkce, vesměs nižší teplotou bioreaktorů a dobou zdržení substrátů ve fermentoru. Fermentace chlévské mrvy je ovlivněna obsahem sušiny, skladovacími podmínkami, výživou zvířat a koncentrací vlákniny. Vláknina travních porostů a jetelovin poskytuje dobré výtěžky bioplynu, ale její zdržení v reaktoru k úplnému rozkladu musí být delší oproti například kukuřici (Einfalt a Kazda, 2015).

Energetická náročnost ekologické farmy o velikosti 1000 ha byla odhadnuta na 0,85 GWh za rok. S využíváním bioplynu jako hlavního zdroje elektrické energie by farma potřebovala 27 % plochy k výrobě energetických plodin, což by s účinností kogenerační jednotky 38 % zajistila 250 kWh kogenerační jednotka. Pro fungování takového zařízení je potřeba cca 300 krav, jejichž kejda by naplnila 660 m³ fermentoru o objemu 1000 m³ s retenčním časem 40 dní. Pro menší farmy lze realizovat i menší bioplynové stanice (Oleskowicz-Popiel et al., 2012).

3.4.2.2 Digestát

Vedlejším produktem bioplynové stanice je digestát, který by poskytoval ekologickým zemědělcům účelné hnojivo bohaté na živiny, zejména dusík, který určuje kvalitu a množství výnosu (Chen et al., 2017). Zároveň s dusíkem je do půdy dodávána organická hmota, která upravuje vlastnosti půdy, strukturu, pH, půdní sorpční komplex, zvyšuje mikrobiální aktivitu, lepší vododržnost, lepší přijatelnost živin a celkovou úrodnost především z dlouhodobého a udržitelného hlediska (Wentzel et al., 2015), to platí i u ostatních organických hnojiv jako hnůj, zelené hnojení (Clark et al., 1998). Kromě hnojivých vlastností a zlepšování úrodnosti uvádí Siegmeyer et al. (2015) také redukci semen plevelů ve fermentoru, což je důležitou vlastností,

z důvodu prohibice syntetických herbicidů v ekologickém zemědělství. Babička a Kouřimská (2007) také uvádějí snižování ztrát živin, snížení zásaditého pH kejdy a zmenšení zatížení životního prostředí pachem. Hygienizace digestátu ve smyslu redukce nežádoucích mikroorganismů je také přínosem pro zdraví rostlin a jejich ochranu vůči chorobám. Vliv nezávadnosti mikroorganismů digestátu na hygienickou kvalitu potravin a krmiv je ošetřen legislativně (viz dále). K aplikaci digestátu, popř. fugátu nebo separátu není potřebné žádné další technické a technologické zařízení.

Dle zákona o ekologickém zemědělství č. 242/2000 Sb. a dále dle Nařízení Rady Evropské Unie č. 889/2008 je digestát jedním z mnoha povolených hnojiv pro ekologické zemědělství, kde lze dále využívat:

- Kompostovanou nebo kvašenou směs domovního odpadu.
Produkt získaný z domovních odpadů tříděných u zdroje, které byly podrobeny kompostování nebo anaerobnímu kvašení určenému k výrobě bioplynu. Pouze rostlinný a živočišný domovní odpad, pouze pokud je vyroben v uzavřeném a kontrolovaném sběrném systému schváleném členským státem.
Maximální koncentrace rizikových prvků mg/kg sušiny: kadmium: 0,7; měď: 70; nikl: 25; olovo: 45; zinek: 200; rtuť: 0,4; chrom (celkově): 70; chrom (VI): nezjistitelný.
- Kompostovanou nebo zkvašenou směs rostlinné hmoty.
Produkt získaný ze směsí rostlinné hmoty, které byly podrobeny kompostování nebo anaerobnímu kvašení určenému k výrobě bioplynu.
- Digestát z bioplynové stanice obsahující vedlejší produkty živočišného původu vyhnívající společně s materiálem rostlinného nebo živočišného původu.

Vedlejší produkty živočišného původu (včetně vedlejších produktů z volně žijících zvířat). Nesmí pocházet z velkochovu. Nepoužije se na jedlé části plodin.

Přesné požadavky na složení jsou uvedeny v nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1069/2009 a postupy jejich výroby musí být v souladu s nařízením Komise (EU) č. 142/2011 (MZe ČR, 2015a).

Využitelnost digestátu jako hnojiva je pouze jednou z možností. Dalšími možnostmi využití je jeho kompostování (Jevič a kol., 2014), využití separátu jako substrátu při pěstování jedlých hub (Jasko et al., 2011), nebo jeho spalování po vysušení (Kratzesien et al., 2010). Využití fugátu jako kapalného hnojiva je také možné, ale jeho aplikace se provádí v jarních, letních a podzimních měsících a je tak nutné ho skladovat. Aplikace v zimních měsících je zakázána nitrátovou směrnicí (Koller, 2010).

3.5 Zemědělské plodiny vhodné k produkci bioplynu a jejich evaluace pro hospodaření v ekologickém zemědělství

3.5.1 Slunečnice topinambur (*Helianthus tuberosus* L.)

Slunečnice topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) čeleď *Asteraceae*, řád *Asterales*, původem ze Severní Ameriky, pěstovaná jako okrasná rostlina, zelenina a dříve i pro oddenkové hlízy („židovské brambory“) ke krmení zvířat (Novák a Skalický, 2012).

Slunečnice topinambur je rostlina morfologicky podobná slunečnici roční, jejímž květenstvím jsou úbory dosahující průměru až 10 cm. Přímá lodyha dorůstá výšky 1,2 – 3 m a v horní části se větví. Trichomy na stonku dosahují délky až 1 mm, u báze jsou načervenalé. Listy jsou na spodní části lodyhy vstřícné, na vrcholu rostliny spíše střídavé. Protáhlé oddenkové hlízy se zvrásněným povrchem a tenkou slupkou jsou pevně přirostlé ke stolonům (podzemním výhonkům), což je jednou z hlavních příčin, proč je pěstována pouze omezeně. Hlízy jsou zdrojem pro nepohlavní množení topinamburu a zároveň jsou vhodné ke konzumaci nebo zpracování. Počet hlíz pod stonkem se pohybuje okolo 12 – 26. Po vytvoření hlíz získává rostlina značnou obrůstací schopnost. Plodem je nažka, která umožňuje pohlavní rozmnožování a šlechtění s hmotností tisíce semen 60 – 100 g (Kays a Nottingham, 2008).

Oddenkové hlízy jsou v čerstvé hmotnosti složeny z 80 % z vody, z 15 % sacharidů (cukry, škrob, inulin) a přibližně 2 % bílkovin. Při přepočtu na obsah látek ve 100 g sušiny pak činí sacharidy (inulin, celulóza, hemicelulóza, škrob) 76 %, 11 % bílkoviny, 6 % popelovin a 3 % tuků. Zbylé 4 % představují ostatní látky jako vitaminy A, B, D, E, K a biotin. Složení nadzemní biomasy je ve 100 g sušiny následující: 27 % dusíkatých látek, 7 % sacharidů, 14 % celulózy, 10 % hemicelulózy, až 21 % ligninu a 12 % popelovin, zbylých 9 % představují ostatní organické sloučeniny (Kays a Nottingham, 2008).

Slunečnice topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) a její veliký výnosotvorný potenciál (35 - 100 t.ha⁻¹ a rok) spolu s širokými možnostmi využití způsobily zvýšení zájmu o tuto plodinu. Od kulinářského využití hlíz, přes výrobu alkoholu až po výrobu fruktóзовého sirupu. Hlízy mohou posloužit jako krmivo pro zvířata, kde na rozdíl od brambor nedochází ke ztrátám hmotnosti evaporací, a zároveň obsahují cenný inulin, vhodný například pro diabetiky. Šťáva získaná z hlíz slouží pro léčbu nemocí gastrointestinálního traktu. Hlízy jsou vhodné pro výživu zvířat, jsou prevencí acidóz skotu způsobených krmivem bohatým na snadno rozložitelné

sacharidy. Topinambur je vhodný k silážování a čerstvému zkrmení. Suché stonky mohou sloužit jako substrát pro pěstování hub (Kowalczyk-Juško et al., 2012).

Jako druh disponuje slunečnice topinambur výbornou schopností přeměny sluneční energie na biomasu a nachází tak využití při spalování biomasy a výrobě bioplynu. Další možností je využití topinamburu jako remediační rostliny na průmyslem zdevastovaných půdách (Kowalczyk-Juško et al., 2012).

Hnojí se vždy před založením porostu přibližně 30 – 40 tunami hnoje na hektar a má výbornou osvojovací schopnost k živinám půdy i ke staré půdní síle požadavky na výživu činí 60 – 120 kg N.ha⁻¹, 14 – 50 kg P.ha⁻¹ a 52 – 100 kg K.ha⁻¹. Na vodu není topinambur nijak náročný, ale dobré srážky přispívají k dobrým výnosům zejména oddenkových hlíz (Long et al., 2016).

Na kvalitních, úrodných půdách dobře zásobovaných vodou může výnos celkové čerstvé biomasy dosahovat až 35 - 100 t.ha⁻¹ a rok. S podílem 15 - 30 t.ha⁻¹ čerstvých hlíz. Výnosy sušiny nadzemních částí dosahují 12 - 30 t.ha⁻¹ a rok, výnos hlíz činí 6 - 8 t.ha⁻¹ sušiny. Topinambur je možné udržovat jako trvalou kulturu a sklízet pouze nadzemní biomasu, která každý rok regeneruje z oddenkových hlíz (Kowalczyk-Juško et al., 2012; Kays a Nottingham, 2008).

3.5.1.1 Inulin

Inulin je zásobní polysacharid složený z 2 až 140 jednotek β-(1,2)-fruktózy spojených glykosidickou vazbou. Na konci těchto jednotek se může nacházet glukóza. Inulin se jako zásobní látka vyskytuje u mnoha druhů rostlin ale pouze u topinamburu, čekanky a jiriny má význam jeho zvýšená koncentrace (75 % sacharidů v sušině) ke zpracování. Jeho využití je pak ve výživě lidí a zvířat jako druh vlákniny. Amyláza slin nedokáže inulin rozložit a slouží tak jako substrát pro bakterie gastrointestinálního traktu, které ho dokáží přeměnit na energii. Slouží tak jako prebiotikum. Inulin lze ale využít k výrobě ethanolu, bioplynu, butanolu a acetonu fermentací, nebo jeho chemickou úpravou k výrobě mannitolu a dalších derivátů (Kays a Nottingham, 2008).

3.5.1.2 Slunečnice topinambur jako energetická plodina

Potravinová bezpečnost je dle veřejného mínění ohrožena pěstováním kukuřice a cukrové řepy pro bioplynové stanice a další energetické využití, realita ovšem není takto katastrofická (Long et al., 2016). Jako jednou z alternativ k těmto plodinám se jeví slunečnice topinambur, která je tolerantní k podmínkám prostředí a chorobám rostlin. Díky vysokým hektarovým výnosům nadzemní zelené biomasy, současně s využitím oddenkových hlíz k potravinářským a dalším (např. průmyslovým) účelům je vhodnou plodinou k udržitelnému pěstování energetické biomasy (Long et al., 2016).

Nejžádanější vlastností rostlin pro energetické využití jsou zejména vysoký výnosotvorný potenciál a odolnost vůči klimatickým a stanovištním podmínkám za podmínek nízkých energetických a tím i finančních vstupů do porostu. Toto vše topinambur splňuje. Nevýhodou topinamburu pro přímé spalování je nízký bod tání popelovin, které snižují kvalitu vytvořených pelet a mohou tak poškozovat spalovací zařízení (Kowalzczyk-Juško et al., 2012).

Využitelnost topinamburu k produkci bioplynu je poměrně vysoká. S daným hektarovým výnosem lze dosáhnout 0,42 – 0,52 m³ bioplynu z kg sušiny z neupravených nadzemních částí rostlin. Po zasilákování se výtěžek bioplynu zvyšuje na 0,48 – 0,62 m³ bioplynu z kg sušiny. Hlízy poskytují průměrně 0,62 m³ bioplynu na kilogram sušiny. Procentuální zastoupení methanu v bioplynu se pohybuje v rozmezí 50 – 70 % obj. (Kays a Nottingham, 2008). V porovnání s výtěžností methanu hlíz topinamburu (průměrně 0,39 m³ methanu na kg sušiny) s nadzemní biomasou topinamburu (0,25 m³ methanu.kg⁻¹ sušiny) a kukuřičnou siláží (cca 0,45 m³ methanu.kg⁻¹ sušiny) je zřejmé že topinambur nedosahuje takové rozložitelnosti a objemu methanu jako kukuřičná siláž. Díky nenáročnosti a možnosti pěstování i na málo úrodných půdách je topinambur vhodný pro výrobu bioplynu, zvláště pak v marginálních oblastech (Šotnár et al., 2015).

3.5.1.3 Slunečnice topinambur v ekologickém zemědělství

Produkce slunečnice topinambur v ekologickém zemědělství je ve světě poměrně rozšířená, v České republice se jí zabývají 2 zemědělské subjekty (Hnutí DUHA, 2015). V roce 2014 se dle Českého statistického úřadu pěstovaly ostatní okopaniny, kam se řadí i topinambur, na 579 ha. V roce 2015 již pouze na 67 ha (ČSÚ, 2016).

Topinambur je pro ekologické zemědělství vhodný, vzhledem k jeho vlastnostem jako trvalé plodiny, což minimalizuje vstupy do půdy. Zařazením v osevním postupu i odplevelováním se podobá bramborám, je tedy plodinou zlepšující, lze jej pěstovat i extenzivně, tedy dlouhodobě na jednom stanovišti, mimo osevní postup. Není náročný na výživu ani vláhu. Vzhledem k rostoucímu zájmu o nezvyklé a dieteticky zajímavé plodiny jsou hlízy topinamburu vhodnou příležitostí nejen pro ekologické zemědělce, při sklizni zelené biomasy k silážování pro krmení zvířat (nebo k výrobě bioplynu) je tak rostlinou všestrannou. Lze jej pěstovat ve všech výrobních oblastech České republiky, bez velkého tlaku chorob a škůdců, kterým odolává. Sklizeň ani sadba není omezena speciální mechanizací a lze zakládat porosty, vyorávat a sklízet běžně dostupnou technikou a technologií jako např. brambor nebo kořenové zeleniny (Bárta a Diviš, 2008).

Nevýhodou produkce hlíz topinamburu je jejich nízká skladovatelnost, díky vysokému obsahu vody a nepravidelnému tvaru je napadán bakteriemi a ostatními nežádoucími skladištními chorobami, z tohoto důvodu je tedy potřeba zajistit jeho okamžité zpracování nebo přímý prodej konzumentům. Někteří zemědělci považují topinambur za plevelnou rostlinu, která dokáže snížit výnosy svou konkurencí až o čtvrtinu, to je způsobeno výbornou odnožovací schopností a prakticky nemožnou likvidací oddenkových hlíz. Důležitá je tak dobrá agrotechnika sklizně, kontrola stavu půdy a předseťová příprava následné plodiny (Bárta a Diviš, 2008; Kays a Nottingham, 2008).

3.5.2 Konopí seté (*Cannabis sativa* L.)

Konopí seté (*C. sativa* L.) 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).

Technické konopí se v osevním postupu zařazuje po okopanině, jetelovině nebo luskovině, výjimečně i po obilnině. Předseťová příprava zahrnuje podzimní podmítku po předplodině s možnou zaorávkou organických hnojiv. Jarní předseťová příprava je vykonávána maximálně do hloubky 5 – 6 cm. Dávky dusíku se stanovují v závislosti na předplodině a klimatických podmínkách, zpravidla 60 – 100 kg N.ha⁻¹. Seť probíhá v měsíci dubnu do hloubky 4 – 5 cm se zaválením rýhovanými válci. Osivo se nemoří, přípravky k ochraně jsou uvedené v Seznamu registrovaných přípravků na ochranu rostlin (Amaducci et al., 2013). Podle zákona č. 167/1998 Sb. o návykových látkách, je pěstitel konopí (a máku) povinen splnit ohlašovací povinnost na celní správu, pokud pěstuje konopí na celkové ploše větší než 100 m² a to i pokud toto pěstování provádí na několika místech, jejichž jednotlivá výměra tuto celkovou plochu nepřesahuje.

Technické konopí dosahuje v dobrých podmínkách až 12 - 18 t.ha⁻¹ sušiny, a to i v oblastech s vyšší nadmořskou výškou, kde není možné pěstovat obilniny. Hodnotné části konopné rostliny jsou lignocelulózní vlákna stonků a pazdeří pro průmyslové zpracování, popřípadě pro přímé spalování. Olejnatá semena jsou vhodná pro konzumaci, nejsou příliš vhodná pro dlouhodobé skladování a je možné z nich lisovat konopný olej a praktikovat výrobu kosmetických a léčivých přípravků (Wagner et al., 2013). V České republice bylo v roce 2015 pěstováno konopí na 427 ha. V roce 2014 nebyly žádné hektary evidovány (ČSÚ, 2016).

3.5.2.1 Konopí jako energetická plodina

Technické konopí je již delší dobu zvažováno jako vhodná energetická plodina. Dosahuje vysokých výnosů, a to i při nízkých vstupech do půdy, podobně jako slunečnice topinambur je nenáročná na podmínky prostředí a má potenciální využití v potravinářství i průmyslu (Rehman et al., 2013). Technické konopí lze využívat k přímému spalování (zimní sklizeň), nebo k výrobě bioplynu fermentací (podzimní sklizeň), přičemž obě metody mají zhruba stejný energetický potenciál (Prade et al., 2011).

Využívání konopí v anaerobní fermentaci poskytuje 0,25 – 0,30 m³ methanu z kilogramu sušiny. Methan je v bioplynu zastoupen ze 47 – 61 % obj. Se stárnutím rostlin se zvyšuje obsah ligninových látek díky dřevnatění stonku, a klesá tak rozložitelnost organické hmoty. Vhodné je použití metod předúpravy, které umožní lepší přístup mikroorganismů k jednoduše rozložitelné organické hmotě (Kreuger et al., 2011b; Adamovičs et al., 2014).

Konopí je tak vhodné k produkování bioplynu a methanu procesem anaerobní digesce, v porovnání s kukuřicí ale nedosahuje dostatečných objemů bioplynu. Jeho produkce by tak byla vhodná pouze v oblastech, kde není možno pěstovat kukuřici setou. Jinak je jeho využití pro masovou výrobu bioplynu i přes jeho výhody neekonomické (Sepälä et al., 2013; Kreuger et al., 2011b).

3.5.2.2 Konopí v ekologickém zemědělství

Konopí je hluboce kořenící rostlina, je tedy schopné poutat půdní vláhu i z větších hloubek, s tím je spojena lepší osvojovací schopnost živin a nižší náročnost na hnojení. Nenáchylnost k běžným chorobám je pro ekologického zemědělce také přínosem. Využívání všech jeho částí, tedy vláken stonku, pazdeří a semen pouze s malými ztrátami biomasy umožňuje dobré uplatnění produkce konopí. Zbylá biomasa může sloužit jako zelené hnojení, k výrobě kosmetiky nebo k přímému spalování, popř. k pěstování hub nebo krmení zvířat. Problematickou může být sklizeň, kde při plné síle stonku dochází k dřevnatění, zpevňování vláken a běžná sklízecí technologie přestává být účinná. Je tedy nezbytné při využívání větších ploch konopí využívat moderních technologií v tomto odvětví (Amaducci et al., 2014; Vogl et al., 2004).

3.5.3 Kukuřice setá (*Zea mays* L.)

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)

Wyatt (2016) uvádí, že kukuřice je co do objemu produkce nejdůležitější obilninou světa. Její využívání se pohybuje od pěstování na zrno, produkci nezralých klasů až k siláži pro výživu hospodářských zvířat. Následné využívání at' už k výrobě škrobu, cukru, glukózo-fruktózového sirupu a dalších potravin, tak i v průmyslu k výrobě etanolu, bioplynu a dalším energetickým účelům, zajišťuje využití veškeré biomasy kukuřice. 55 % světové produkce je využíváno ke krmení zvířat, 14 % produkce pak k výživě lidí, zbylých 31 % je využíváno průmyslem (Beta a Isaak, 2016). Sklizňová plocha kukuřice v České republice na zrno v roce 2014 činila: 98 749 ha s výnosem 8,43 t.ha⁻¹. Kukuřice na zeleno a siláž: 237 235 ha s výnosy 40,3 t.ha⁻¹. V roce 2015 byla kukuřice na zrno pěstovaná na 79 972 ha s výnosem 5,5 t.ha⁻¹, kukuřice na zeleno a siláž pak 244 956 ha s výnosem 29,3 t.ha⁻¹ (MZe ČR, 2016)

Vzhledem k širokému rozšíření a využití produkce byla kukuřice vyšlechtěna a upravena pro vysoké výnosy a kvalitu produkce. Díky tomuto procesu postupně ztratila přirozenou možnost ochrany proti vnějším vlivům a škůdcům. Zároveň má vysoké nároky na podmínky prostředí a výživu. Pro úspěšné pěstování kukuřice je potřeba dodat do půdy 40 kg N na 3 t sušiny siláže nebo 1,5 t zrna. 10 kg P a 50 kg K na tunu zrna a slámy, přičemž základní hnojení se pohybuje v dávkách 160 - 240 kg N.ha⁻¹. Běžně se v praxi hnojí 40 t hnoje na hektar. Použití pesticidů na ochranu rostlin je velmi žádané, neboť dochází k častému napadání škůdci (Vaněk a kol., 2007; Zhao et al., 2006).

3.5.3.1 Kukuřice setá pro produkci bioplynu

V současné době jsou kukuřice a kukuřičná siláž nejpoužívanějšími substráty pro kofermentaci v bioplynových stanicích, ta ale není vhodná do všech výrobních oblastí jak v České republice, tak v Evropě. Vlivem šlechtitelských programů byla vytvořena řada odrůd vhodných přímo ke zpracování na bioplyn. Tyto odrůdy poskytují v průměru vysoké výnosy, a to až 20 t.ha⁻¹ sušiny (Sepälä et al., 2013).

Pro celoroční provoz bioplynových stanic je vyžadováno kontinuální zásobování fermentoru organickou hmotou. Z tohoto důvodu je nutné bezztrátově uskladnit kukuřici.

Nejpoužívanější metodou je silážování, jehož se využívá i při výživě hospodářských zvířat. 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, které jsou označeny číslem FAO (číslo ranosti), kdy má kukuřice nejvyšší podíl sušiny a je stále silážovatelná. 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; Oslaj et al., 2010).

Kukuřice dosahuje nejvyšších produkcí bioplynu ze všech plodin, její nevýhodou je negativní působení na půdní vlastnosti, a to vlivem mělkého kořenění, vysokých vstupů do porostu technikou díky vysokému prošlechtění. Výtěžky bioplynu činí 0,58 m³ bioplynu z kg sušiny kukuřičné siláže s procentuálním zastoupením methanu až 61 % obj. Čerstvá hmota kukuřice dosahuje výnosu 670 l bioplynu z kilogramu sušiny s procentuálním zastoupením 60 % methanu (Oslaj et al., 2010; Šotnár a kol., 2015). Nižší výtěžky bioplynu z kukuřičné siláže jsou způsobeny přeměnou organických látek na látky konzervační (kyselina mléčná) při procesu silážování a následných ztrátách prodýcháním mikroorganismy mléčného kvašení. Díky jednoduššímu organickému složení kukuřice (nízké zastoupení ligninu, vysoké koncentrace snadno rozložitelných polysacharidů a bílkovin) dochází při silážování ke ztrátám na organické hmotě, zatímco u ostatních silážovaných plodin s vyšším obsahem ligninu dochází k narušení obtížně rozložitelné biomasy k snazšímu přístupu mikroorganismů anaerobní digesce (Kreuger et al., 2011a).

Problematika pěstování kukuřice k energetickým účelům se potýká s potravinovou bezpečností, kde je kritizováno pěstování hodnotných potravin využitelných k výživě zvířat i člověka a namísto toho jsou využívány k výrobě energie (Martinát et al., 2016).

3.5.3.2 Kukuřice setá v ekologickém zemědělství

Celosvětové rozšíření kukuřice přináší zároveň mnoho zkušeností s jejím pěstováním. Pro kukuřici existuje propracovaná pěstební a konzervační technologie spolu s dlouhodobou tradicí s pěstováním i v České republice (Fuksa et al., 2012). Dlouhodobé pokusy porovnávání pěstování ekologické a konvenční kukuřice neprokázaly přímý vliv zvýšení půdní organické hmoty na výnosy kukuřice v těchto systémech, mají však vliv na půdní úrodnost. Nedostatek dusíku je v ekologickém zemědělství limitním při pěstování kukuřice, není to však největším problémem. Tím je opožděný výsev ekologické kukuřice, který vede k největším redukcím na

výnosech z důvodu pomalého vzcházení rostlin kukuřice a tím i nižší konkurenceschopnosti vůči plevelným rostlinám (Kaffka et al., 2005).

V ekologickém zemědělství České republiky je pěstováno 641 ha kukuřice na zrno s výnosy $3,56 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ spolu s kukuřicí na zeleno a siláž, která je pěstována na 766 ha s výnosem $5,2 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ (MZe ČR, 2015b).

3.5.4 Travní porosty

Travní porosty mají důležitou roli ve světovém zemědělství, pokrývají 69 % zemědělských ploch světa. Jejich využívání je zaměřeno na výživu zvířat, a to buď k přímému zkrmování (zelené krmení, siláž se zvýšeným obsahem sušiny, seno) nebo pastevnímu využívání (Míchal et al., 2016; Zeman, 2006).

Pro efektivní využití dočasných travních porostů na orných půdách je roční potřeba dusíku 150 - 250 kg.ha⁻¹. Trvalé travní porosty využívané extenzivním způsobem není třeba hnojit z důvodu přítomnosti leguminóz a jejich schopnosti vázat pomocí mikroorganismů vzdušný dusík. Výhodou těchto porostů je snížení každoročních nákladů na jejich zakládání a zároveň možnost jejich uskladnění pomocí silážování nebo sušení na výrobu sena (Vaněk a kol., 2007).

3.5.4.1 Travní porosty pro výrobu bioplynu

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. Přírodní luční porost se skládá zpravidla z 50 – 70 druhů vyšších rostlin (Fuksa a kol., 2012).

Intenzivně využívané travní porosty, tedy ty, jež jsou pravidelně hnojeny, podléhají podobné agrotechnice jako ostatní plodiny a mají přesné zastoupení druhů, dosahují výnosů bioplynu 0,5 - 0,6 m³.kg sušiny s celkovým zastoupením methanu až 64 % obj. Oproti tomu extenzivně využívané travní porosty jako louky, pastviny a další trvalé travní porosty podrobené běžné pratotechnice s širokým zastoupením druhů ovlivňující složení biomasy a následně i produkce bioplynu, které činí 0,28 – 0,47 m³ bioplynu z kilogramu sušiny se zastoupením methanu až 62 % obj. (Míchal et al., 2016).

Oproti kukuřici mají travní porosty daleko lepší předpoklady k udržitelnému hospodaření s energetickými plodinami (Einfalt a Kazda, 2015).

3.5.4.2 Travní porosty v ekologickém zemědělství

V ekologickém zemědělství je využíváno 412 643 ha, což představuje 83 % celkové výměry ekologického zemědělství. Průměrné dosahované výnosy dosahují 3,33 t.ha⁻¹ (MZe ČR, 2015b). Využívání v ekologickém zemědělství je zpravidla extenzivní využívání pro výživu všech druhů hospodářských zvířat. Mají nezastupitelnou hodnotu v krajině a ekosystému, kde slouží jako centra biodiverzity s širokým zastoupením druhů nejen rostlin ale i živočichů, kterým slouží jako potrava a úkryt, ale i půdní mikroflóry (Begon a kol., 1997).

3.5.5 Ozdobnice čínská (*Miscanthus sinensis* N.J. Andersson)

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).

Stražil 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 fytomasy činily až 8,86 t.ha⁻¹. Nevýhodou pěstování ozdobnice jsou vysoké náklady při zakládání porostů zapříčiněné drahou sadbou. Vliv odrůdy nebyl spolehlivě prokázán.

Miscanthus dosahuje výtěžků bioplynu 0,34 m³ z kilogramu sušiny. Při objemu methanu 58 – 64 % bioplynu. Při použití předúpravy horkou parou (220 °C po 10 minut) dochází ke slabému nárůstu výtěžnosti bioplynu, celková výtěžnost methanu se ovšem nemění od neupravených variant (Menardo et al., 2012).

Ozdobnice v ekologickém zemědělství je problematickou plodinou, není sice ovlivněna prostředím a je málo náchylná k chorobám a škůdcům rostlin, ale byl prokázán její vliv na imobilizaci těžkých kovů z půdy do nadzemních částí rostlin, což by při potenciálním využití k výrobě bioplynu mohlo mít negativní vliv na kvalitu digestátu, respektive na průběh anaerobní fermentace. Zároveň je díky vysokým obsahům křemičitých látek v listech nevhodná ke krmení zvířat a hodí se tedy spíše ke stelivovému využití (Stražil, 2009).

3.5.6 Čirok obecný (*Sorghum bicolor* L.)

Čirok je jednou z nejdéle pěstovaných plodin. V současné době se ve světě řadí mezi pět nejvíce pěstovaných obilnin pro lidskou výživu. Čirok má značné nároky na teplotu a vyžaduje pozdní setí. Jak habitem, tak i pěstováním, se podobá kukuřici. V podmínkách České republiky se odrůdy a hybridy čiroku využívají především pro krmné účely a na výrobu bioplynu. Výnosy biomasy čiroku se pohybují v rozmezí 10 – 15 t.ha⁻¹ sušiny. Výnosy zelené píce k silážování činí 35 – 50 t.ha⁻¹ (Hermuth a kol., 2012).

Výroba bioplynu z čiroku je opět srovnatelná s produkcí bioplynu z kukuřice. Bioplyn z čiroku dosahuje výtěžků 0,42 – 0,6 m³ bioplynu z kg sušiny s objemovým zastoupením methanu 50 – 60 % (Zhang et al., 2016).

Čirok v ekologickém zemědělství je podobně jako kukuřice setá náročný na stanoviště a hnojení dusíkem. Jeho využití se pohybuje od výroby krmiva a steliva, ale je i vyhledávanou potravinou a alternativní obilninou s nízkým obsahem lepku (Hermuth a kol., 2012).

3.5.7 Křídlatka (*Fallopia Adans. Syn. Reynoutria Houtt.*)

Křídlatka je rostlina z čeledi rdesnovité, *Polygonaceae* (Novák a Skalický, 2012). Její druhy křídlatka japonská (*Fallopia japonensis* Adans.) a křídlatka sachalinská (*Fallopia sachalinensis* Friedr. Schmidt) po vzájemném křížení vytvořili sterilního hybrida (*Fallopia × bohémica* Chrtek et Chrtková). Jedná se o invazivní druh rostliny původem ze severovýchodní Asie. Dnes roste samovolně po celé Střední Evropě. Pro její růst a vývoj je optimální pH půdy v rozmezí od 4 – 5, což má za následek poutání těžkých kovů z půdy, které jsou v tomto pH půdy vysoce mobilní (Pyšek et al., 2002).

Vzhledem k velké schopnosti křídlatek tvořit biomasu, 21 – 25 t.ha⁻¹ sušiny se jeví jako vhodnou plodinou k produkci bioplynu. Její bioplynový potenciál dosahuje 0,27 – 0,29 m³ bioplynu z kilogramu sušiny, podíl methanu na bioplynu 53,2 % obj., takto nízké výtěžky bioplynu si lze vysvětlit dřevnatěním stonku křídlatky (Mast et al., 2014).

Invasivní povaha a prakticky nemožná regulace této plodiny znemožňují pěstování v ekologickém zemědělství, kde je regulace omezená pouze na mechanickou kultivaci, která je náročná ke kontrolování porostů. Křídlatka obsahuje léčivé látky (physcoïn, emodin), které by bylo možné z rostlin extrahovat (Quarles, 2009).

3.5.8 Další méně rozšířené plodiny

Mezi další uvažované plodiny pro produkci bioplynu jsou rychle rostoucí dřeviny (*Salix sp.*, *Populus sp.*), z dalších zemědělských plodin pak: šťovík krmný (*Rumex tianshanicus* x *Rumex patientia*), ježatka japonská (*Echinochloa esculenta*), chrpa luční (*Centaurea jacea*), zlatobýl obrovský (*Solidago gigantea*), laskavec ohnutý (*Amaranthus caudatus*), a mnoho dalších, které nejsou příliš závislé na podmínkách prostředí, kvalitě půdy a jsou vhodné k pěstování i v okrajových oblastech České republiky a potažmo Severní Evropy i v ekologickém zemědělství (Sepälä et al., 2013).

4 Experimentální část

V experimentální části této diplomové práce byly podrobeny analýze vzorky nadzemní biomasy a hlíz slunečnice topinambur v různých metodách předúpravy. Jako referenční vzorky byly použity kukuřičná siláž a směsný vzorek nadzemní a podzemní biomasy topinamburu v hmotnostním poměru 1:1. Analýzy byly zaměřeny na zjištění složení dané biomasy, dále na kvantitu i kvalitu vyprodukovaného bioplynu, průběh anaerobní digesce a zhodnocení výstupů.

4.1 Materiál a metody

Rostliny slunečnice topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) byly pěstovány v lokalitě Praha 6 - Suchdol, se souřadnicemi GPS (50°08'43.6"N 14°22'26.3"E). Rostliny byly při jejich pěstování pouze organicky hnojeny hnojem v dávce 60 t.ha⁻¹ a k jejich odběru pro analýzy došlo po jejich odkvětu, tedy ve fenofázi 67 – 69 (dokvétání, většina květních plátků opadlých nebo zaschlých - konec kvetení, viditelná násada plodů) na počátku listopadu. U vzorků rostlin byl stanoven podíl sušiny a jejich celkové složení. Před vlastním pokusem byla oddělena nadzemní a podzemní část rostlin. Referenční vzorky kukuřice v plné zralosti (*Zea mays* L.) byly pěstovány na pokusném pozemku Katedry agroenvironmentální chemie a výživy rostlin v Červeném Újezdu. Samotný experiment a následné analýzy se odehrávaly v laboratořích katedry agroenvironmentální chemie a výživy rostlin rovněž v Červeném Újezdu. Inokulum pocházelo z bioplynové stanice Krásná Hora nad Vltavou, která operuje v mezofilních teplotách (39 – 40 °C) a zpracovává kejdu skotu spolu s kukuřičnou siláží v hmotnostním poměru 60 % kejdy a 40 % kukuřice.

Vlastní pokus pak probíhal od 26. 4. 2016 až do 24. 6. 2016 formou vsázkových testů (tzv. batch test). V průběhu pokusu se u vybraných vzorků stanovoval úbytek sušiny a koncentrace amonného dusíku ve fermentované biomase a koncentrace nižších mastných kyselin. Vzorky byly rozděleny dle nadzemních a podzemních částí použité biomasy (nadzemní biomasa, hlízy a směsný vzorek hlíz a nadzemní biomasy v hmotnostním poměru 1:1) a dle metody předúpravy mražení (-18 °C) a sušení (105 °C). Čerstvá biomasa byla skladována při 3 °C. Jako kontrolní vzorky byly použity vzorky inokulum a kukuřice v plné zralosti.

4.1.1 Příprava materiálu před nasazením testu

Biomasa slunečnice topinambur byla zbavena nečistot a zbytků hlíny, rozdělena na nadzemní biomasu a hlízy a následně zvážena. Mražené vzorky byly zamrazeny na teplotu - 18 °C. Čerstvé vzorky byly uchovány v chladícím boxu o teplotě 3 °C. Sušené vzorky byly sušeny při teplotě 105 °C do konstantní hmotnosti. Veškeré vzorky, včetně kukuřice v plné zralosti, byly po daných předúpravách podrobeny sušení v laboratorní sušárně do konstantní hmotnosti při teplotě 55 °C a následně namlety na mlýnku Retsch SM 10 na frakci o velikosti 2 mm, čímž byla docílena homogenita vzorků a zvětšení aktivního povrchu pro mikroorganismy. Všechny vzorky byly naváženy s přesností $0,700 \pm 0,002$ g.

Vzorky byly rozděleny dle použité biomasy a dle použité předúpravy. Celkem bylo k dispozici 9 vzorků – čerstvý topinambur nadzemní biomasa, čerstvý topinambur hlízy, mražený topinambur nadzemní biomasa, mražený topinambur hlízy, sušený topinambur nadzemní biomasa, sušený topinambur hlízy, směsný sušený vzorek hlíz a nadzemní biomasy topinamburu v hmotnostním poměru 1:1, sušená kukuřice v plné zralosti – kontrola a samotné inokulum. Všechny varianty byly provedeny v 5 + 3 opakováních, přičemž poslední 3 opakování sloužily k hodnocení průběhu fermentace. Tyto vzorky byly postupně, vždy po týdně, odebrány a byly u nich zjištěny hodnoty pH, koncentrace mastných kyselin, úroveň degradace sušiny a koncentrace amoniakálního dusíku a chemické spotřeby kyslíku. Varianty a jejich kódy použité zároveň v ostatních částech této práce jsou popsány v tabulce č. 6.

Tabulka č. 6 – Varianty experimentu a jejich označení

Číslo vzorku	Substrát	Biomasa	Předúprava	Označení	
0	-	-	Inokulum	-	INOK
1	Nadzemní biomasa	-	Topinambur	Mražení	MTN
2	-	Hlízy	Topinambur	Mražení	MTH
3	Nadzemní biomasa	-	Topinambur	Sušení	STN
4	-	Hlízy	Topinambur	Sušení	STH
5	Nadzemní biomasa	-	Topinambur	Čerstvá (bez předúpravy)	CTN
6	-	Hlízy	Topinambur	Čerstvá (bez předúpravy)	CTH
7	Nadzemní biomasa	-	Kukuřice	Sušení	KUK
8	Nadzemní biomasa	Hlízy	Topinambur	Sušení	SMES

4.1.2 Stanovení složení biomasy

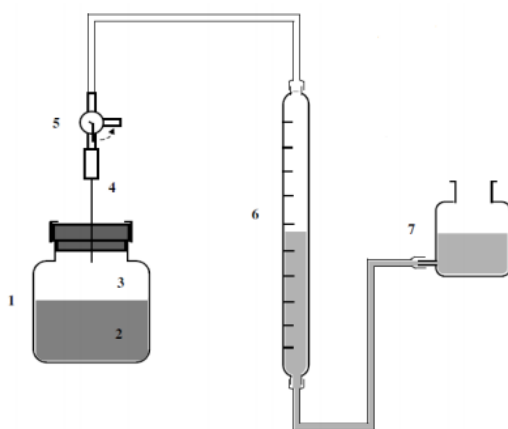
Složení biomasy, a to zejména obsahy prvků C, N, H, S, bylo stanoveno Dumasovou spalovací metodou pomocí automatického přístroje VARIO MACRO cube firmy Elementar Analysensysteme GmbH, Německo.

4.1.3 Stanovení produkce bioplynu

Stanovení produkce bioplynu bylo stanoveno na základě Metodiky – předpis pro provádění laboratorních jednorázových testů produkce bioplynu (Rosenberg, 2010). Nasazení testu se uskutečnilo do testovacích nádobek SIMAX o objemu 120 ml. Substrát byl dávkován po $0,700 \pm 0,002$ 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 s otvorem, čímž bylo zajištěno plynotěsné uzavření vzorku a zároveň bylo umožněno následné měření objemu a kvality bioplynu. Lahvičky byly následně kultivovány v termoboxu při konstantní teplotě 40 ± 1 °C po dobu 60 dnů.

Produkce bioplynu byla zjišťována pravidelným měřením. Při měřeních bylo použito metody objemového měření produkce plynu, která je založena na principu měření objemu kapaliny vytlačené plynem. Měření bylo zjišťováno, pomocí plynoměrné byrety (Obrázek 1), která byla naplněna roztokem NaCl titrovaným na methyloranž, který zabraňuje absorpci složek bioplynu do roztoku (Rosenberg, 2010). Měření bylo prováděno dle očekávané produkce bioplynu, na začátku pokusu každý den, ke konci pokusu jednou týdně.

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



- 1) testovací nádobka
- 2) testovaná směs
- 3) plynový prostor
- 4) jehla
- 5) trojcestný ventil
- 6) plynoměrná byreta
- 7) nádobka s uzavírací kapalinou

Hodnoty vyprodukovaného bioplynu odpovídají jednotkám ml na 0,7 g sušiny, převodem na 1 g sušiny (dle vzorce) byla zjištěna specifická produkce bioplynu v ml bioplynu na 1 g sušiny, což zároveň odpovídá l bioplynu na kg sušiny.

$$ml \text{ bioplynu z g sušiny } [ml. g^{-1}] = \frac{A}{0,7}$$

A = naměřená hodnota bioplynu [ml]

Naměřené hodnoty odpovídají hodnotám vlhkého plynu (s parciálním tlakem vodní páry) za teploty 40 °C. Z tohoto důvodu byly tyto výsledky upraveny na reálné produkce suchého bioplynu za 0 °C použitím stavové modifikované rovnice ideálního plynu.

Dále uvedené vzorce shrnují postup výpočtu koeficientu suchého bioplynu k přepočtu naměřených hodnot bioplynu na hodnoty bioplynu skutečné a normalizované.

$$p_v = n_v \frac{R \times T}{V} = \frac{m_v}{M_v} \times \frac{R \times T}{V} = \Phi \times \frac{R \times T}{M_v}; \quad p_v = \Phi \times \frac{R \times T}{M_v}$$

p_v = parciální tlak vody [kPa]

Φ = absolutní vlhkost plynu, připadající na jednotku objemu sledovaného plynu, pro vodní páru uvádí Straka a kol. (2006) 0,05115 kg.m⁻³ plynu.

R = univerzální plynová konstanta ideálního plynu s hodnotou 8,31432 J.mol⁻¹.K⁻¹

T = teplota [K] pro 0°C + teplota místnosti 40 °C, tedy 313,15 K

M_v = molární hmotnost vody; 18 g.mol⁻¹

V = sledovaný objem systému [m³]

m_v = celková hmotnost vody v systému [g]

Z uvedených hodnot byl vypočítán parciální tlak vody 7,38 kPa, potřebný pro výpočet koeficientu suchého plynu za 0 °C a normálním tlaku vzduchu 101,3 kPa.

$$p_{poměr.} = \frac{p_v}{p_n}$$

$p_{poměr.}$ = poměrný tlak parciálního tlaku páry vůči normálnímu atmosférickému tlaku

p_v = parciální tlak vodní páry

p_n = normální atmosferický tlak

Poměr představuje 0,072836, tedy objem vody v 1.m³ představuje 72,8836 l vodní páry. V 1 m³ bioplynu, tedy v 1000 l bude obsaženo 72,8836 l vodní páry. Suchý bioplyn dosahuje objemu 927,12 l, tedy 0,92712 m³, což je také koeficient pro vynásobení naměřených hodnot pro získání skutečného suchého bioplynu za normálního tlaku. Koeficient suchého plynu je tedy $k_p = 0,9271$.

Pro výpočet koeficientu vlivu teploty byl použit vzorec:

$$k_t = \frac{T_k}{T_k + T_C}$$

k_t = koeficient teploty pro přepočítání na 0 °C

T_k = teplota 0 °C v K, tedy 273,15 K

T_C = teplota systému, v tomto případě 40 °C – teplota inkubační místnosti

Po dosazení vychází poměrná hodnota 0,8722, koeficient vlivu teploty je tedy $k_t = 0,8722$. Pro zjednodušení výpočtů byl použit souhrnný koeficient vlivu teploty a suchého plynu, který byl vypočítán podle vzorce:

$$k = k_t \times k_p$$

k = souhrnný koeficient

k_t = koeficient teploty; 0,8722

k_p = koeficient plynu; 0,9271

Výsledný přepočítaný koeficient pro výpočet suchého plynu za normálního tlaku a teploty 0 °C, tedy představuje $k = 0,808692$. Tímto koeficientem byly vynásobeny všechny naměřené hodnoty pro zjištění skutečné produkce bioplynu a výsledky byly takto normalizovány.

4.1.4 Stanovení složení bioplynu

K měření obsahu methanu a oxidu uhličitého byl použit plynový chromatograf s teplotně vodivostním detektorem (TCD) Master GC od firmy DANI Instruments, při použití vodíku, jako nosného plynu. Použita byla kolona Agilent DB – FFAP, 30 m, Diam. - 0,250 mm, Film - 0,25 μm, od firmy Agilent Technologies, Inc. USA. Složení bioplynu se měřilo dvakrát týdně pro porovnání změn složení. V pozdější fázi pokusu, kdy došlo k poklesu produkce

bioplynu (30. den) bylo složení bioplynu měřeno pouze jednou týdně. Z důvodů časové náročnosti této analýzy byly měřeny pouze 3 vzorky ze stejné varianty. K odběru bioplynu z lahviček vsázkového testu byla použita chromatografická mikrostříkačka o objemu 500 µl. Pro vlastní analýzu bylo odebráno 200 µl vzorku bioplynu, který byl následně aplikován do chromatografu.

4.1.5 Stanovení sušiny a organické sušiny

Obsah sušiny byl stanoven u všech variant po předúpravě. Obsah sušiny se stanovoval i v průběhu a na konci pokusu u vzorků již fermentovaných. Samotné sušení vzorků probíhalo na hliníkové misce, v laboratorní sušárně při 105 °C do konstantní hmotnosti. Po vysušení byly vzorky zváženy a obsah sušiny se stanovoval dle vzorce:

$$\text{sušina [\%]} = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \times 100$$

m_1 = hmotnost hliníkové misky

m_2 = hmotnost vzorku před vysušením + hmotnost misky

m_3 = hmotnost vzorku po vysušení + hmotnost misky

Obdobným postupem byl stanoven obsah organické sušiny a popelovin. Obsah organických látek v sušině je roven úbytku hmoty při žihání. Zvážené misky s vysušenými vzorky z předchozího kroku byly vloženy do pece při teplotě 550 °C na dobu 3 hodin. Vysokými teplotami došlo k vyžhání organických látek a zbylé popeloviny byly přímo zváženy. Obsah organických látek v sušině je tak roven rozdílu hmotnosti po vysušení (105 °C) a po vyžhání (550 °C). Podíl organické sušiny u jednotlivých vzorků byl stanoven vzorcem:

$$\text{organická sušina [\%]} = \left(1 - \frac{m_4 - m_1}{m_3 - m_1}\right) \times 100$$

m_1 = hmotnost hliníkové misky

m_3 = hmotnost vzorku po vysušení + hmotnost misky

m_4 = hmotnost vzorku po žihání + hmotnost misky

Analýza sušiny, organických látek a popelovin byla stanovena gravimetricky a vlastní měření hmotnosti probíhalo na analytických vahách ACJ 320 – 4M (KERN).

4.1.6 Stanovení degradace biomasy

Při anaerobní fermentaci dochází k degradaci vstupního organického materiálu za vzniku bioplynu. Úbytek hmotnosti vzorků biomasy, které byly na počátku experimentu dávkovány v hmotnosti $0,700 \pm 0,002$ g sušiny do lahviček vsázkových testů, byl vypočítán následovně. Před počátkem pokusu a po jeho ukončení byly stanoveny hmotnosti lahviček, které obsahovaly zkoumanou biomasu, inokulum a vodu. Rozdíl mezi počáteční a koncovou hmotností pak vyjadřuje úbytek směsi materiálů po anaerobní digesci a nepřímo indikuje i množství degradovatelného uhlíku organické hmoty a jeho přeměnu na bioplyn. Od hmotnostního rozdílu byl následně odečten úbytek hmotnosti inokula. Z hmotností úbytků biomasy vzorku, inokula a z hmotností lahviček před a po ukončení pokusu je možné stanovit degradaci biomasy.

Vzorec pro výpočet procentuální degradace fermentované biomasy je následující:

$$degradace [\%] = \frac{(M_z - M_k) - M_i}{M_0} \times 100$$

M_z = hmotnost lahvičky na začátku pokusu

M_k = hmotnost lahvičky na konci pokusu

M_i = hmotnost úbytku inokula v kontrolní variantě

M_0 = hmotnost dávkovaného substrátu pro danou lahvičku

4.1.7 Stanovení amoniakálního dusíku

Koncentrace amoniakálního dusíku ve vzorcích byla stanovena spektrofotometricky, indofenolovou metodou dle Horákové (2003). Princip této analýzy je založen na reakci amoniaku, chlornanu a salicylanu za vzniku sloučeniny indofenolového typu. Tato látka je pak v alkalickém prostředí (prostředí reakce) disociována na intenzivně modré barvivo, které je vhodné pro spektrofotometrické stanovení. Reakce je katalyzována nitroprusidem sodným, který je zbarven žlutě, a zbarvení vzorků je ve směsi s modrým indofenolovým barvivem následně zelené.

Přístroje a pomůcky představují laboratorní sklo, které je pečlivě vymyté, spektrofotometr s vlnovou délkou $\lambda = 655$ nm a víálky.

Činidla pro tuto analýzu představovaly: vybarvovací činidlo se salicylanem sodným (130 g $C_7H_5O_3Na$), dihydrátem citronanu sodného (130 g $C_6H_5O_7Na_3 \cdot 2H_2O$), které byly

převedeny do 1000 ml baňky následně rozpuštěny v čerstvé destilované vodě. Dále byl přidán nitroprusid sodný dihydrát (0,95 g $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), a tento roztok byl doplněn destilovanou vodou na 1000 ml.

Dalším činidlem byl alkalický roztok dichlorisokyanuranatanu sodného (2 g $\text{C}_3\text{N}_3\text{O}_3\text{Cl}_2\text{Na} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) v hydroxidu sodném (32 g NaOH), opět v 1000 ml baňce doplněné po rysku destilovanou vodou.

Jako standardizační roztok byl použit roztok chloridu amonného (3,819 g NH_4Cl) rozpuštěného v 1000 ml baňce doplněné po rysku destilovanou vodou.

Čistící roztok použitý pro čištění odměrných baněk a viálek byl složen z 100 ml H_2O , 100 g NaOH a cca 900 ml ethanolu (95 %).

Vzorky vsázkových testů byly převedeny do plastových uzavíratelných zkumavek o objemu 50 ml. Následně bylo provedeno odstředění těchto vzorků na odstředivce Sigma 2-16P společnosti Sigma Laborzentrifugen GmbH, Německo, při 13 500 otáčkách za minutu a 15 892 G. Následně bylo odměřeno 2 ml odstředěného vzorku do odměrné baňky. Po tisíci násobném zředění byla přidána výše uvedená činidla, tento roztok byl důkladně promíchán a následně, po dobu jedné hodiny, probíhaly reakce. Po hodině došlo k úplnému vybarvení a vzorky byly změřeny na spektrofotometru značky HACH DR/4000V při vlnové délce $\lambda = 655 \text{ nm}$ (Horáková, 2003).

4.1.8 Stanovení chemické spotřeby kyslíku

Chemická spotřeba kyslíku (CHSK) vyjadřuje koncentraci kyslíku, která je rovna hmotnosti silného oxidačního činidla spotřebovaného za vymezených reakčních podmínek na oxidaci oxidovatelných látek obsažených v 1 litru vzorku v kapalné fázi. Hlavní skupinu těchto látek tvoří organické látky, které jsou ve vzorku obsaženy v různých koncentracích. Hodnota CHSK slouží k orientačnímu odhadu množství oxidovatelných organických látek ve vzorku. Udává se obvykle v $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ (mg kyslíku, odpovídající spotřebě oxidačního činidla na 1 litr vzorku) (Horáková, 2003).

Metoda je založena na oxidaci organických látek pomocí dichromanu draselného ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) v silně kyselém prostředí kyseliny sírové (H_2SO_4) při dvouhodinovém varu (teplota $150 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$). Oxidace organických látek je katalyzována ionty Ag^+ a probíhá v nadbytku dichromanu. Pro maskování chloridů, které by byly za podmínek stanovení oxidovány na Cl_2 a

způsobovaly by tak při stanovení CHSK_{Cr} pozitivní chybu, se přidává síran rtuťnatý (HgSO_4). Při oxidaci oxidovatelných látek přítomných ve vzorku se dichromanové ionty ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) redukují na ionty chromité (Cr^{3+}). Koncentrace chromitých iontů, která je úměrná obsahu organických látek ve vzorku, se stanoví metodou absorpční spektrofotometrie při vlnové délce $\lambda = 600 \text{ nm}$ (Horáková, 2003).

4.1.8.1 Přístroje, pomůcky

1. Mineralizační box na zkumavky s nastavitelnou teplotou $150 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.
2. Zkumavky se závitem o průměru 20 mm, výšky 100 mm a se šroubovým uzávěrem odolným teplotě $150 \text{ }^\circ\text{C}$, s těsněním.
3. Pístoventilové dávkovače na oxidační a katalyzátorový roztok.
4. Pístová pipeta pro dávkování 2,5 ml homogenizovaného vzorku.
5. Spektrofotometr DR/4000V (HACH) vybavený možností měření přímo ve zkumavkách při vlnové délce $\lambda = 600 \text{ nm}$.

4.1.8.2 Činidla

1. Oxidační roztok – roztok dichromanu draselného v koncentracích (10,2148 g $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), rozpuštěný v 500 ml destilované neredukující vody s následným přidavkem kyseliny sírové (167 ml) a síranu rtuťnatého (33,33 g HgSO_4), doplněno destilovanou vodou na objem 1000 ml.
2. Katalyzátorový roztok – koncentrovaná kyselina sírová (1 l) s přidavkem síranu stříbrného (10 g Ag_2SO_4).
3. Standardní zásobní roztok hydrogenftalanu draselného (1,7020 g KHC_8HO_4) v 1000 ml baňce doplněné po rysku destilovanou vodou – pro vytvoření kalibrace pro stanovení

4.1.9 Stanovení pH

Ke stanovení pH inokula a vzorků v průběhu pokusu byl použit pH-metr IQ 150 s elektrodou IS FET PH77-SS.

4.1.10 Stanovení obsahu mastných kyselin

Stanovení obsahu mastných kyselin (kyseliny octové, propionové, izomáselné, máselné, isovalerové, valerové a kapronové) bylo prováděno na plynovém chromatografu

ThermoFischer Scientific Trace 1310 Gas Chromatograph s FID detektorem vybaveným kolonou Agilent DB – FFAP, 30 m, o průměru 0,0250 mm s filmem 0,25 μm . Před analýzou byly vzorky fermentované biomasy odstředěny v 50 ml kyvetách při 13 800 otáčkách za minutu po dobu 10 minut. K vlastní analýze byla připravena směs 800 μl odstředěného vzorku a 35 μl kyseliny fosforečné zředěné v poměru 1:5, spolu s kapkou odpěňovače do 1 ml kyvety. Po přidání těchto činidel byla kyveta uzavřena, protřepána a znovu pootevřena k uvolnění vzniklého plynu. Po definitivním uzavření byl vzorek pomocí automatického dávkovače nastříknut do plynového chromatografu, kde je stanovena koncentrace mastných kyselin (Horáková, 2003).

4.1.11 Zpracování dat

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

K vyhodnocení rozdílů mezi jednotlivými variantami a zároveň k testování hypotéz diplomové práce byl použit program Statistica 12 společnosti Statsoft ČR s.r.o., s licenci od České zemědělské univerzity v Praze.

Pro ověření normality dat byl zvolen Shapirův – Wilkův test. Pro ověření homogenity rozptylů byl následně aplikován Leveneův test (Kába a Svatošová, 2012).

Dle výše uvedených testů, splňují vstupní data požadavky na normalitu dat a homoskedasticitu rozptylu, tudíž bylo možné použít jednofaktorovou analýzu rozptylu (ANOVA).

K vizualizaci vstupních dat produkce bioplynu a methanu byly použity krabicové grafy se zobrazením mediánu, kvartilů 25 – 75 %, rozsahem neodlehých hodnot, odlehých hodnot a extrémů.

Pro podrobnější vyhodnocení (post-hoc test) byla zvolena Scheffého metoda mnohonásobného porovnání, která umožňuje porovnat jednotlivé statistické významnosti mezi jednotlivými variantami.

4.2 Výsledky

4.2.1 Vlastnosti biomasy vzorků pro anaerobní digesci

Pro porovnání výtěžnosti bioplynu bylo nutné zjistit základní vlastnosti vstupní biomasy z důvodu odhadu výsledné produkce bioplynu. V tabulce č. 7 je uvedeno chemické složení biomasy.

Tabulka č. 7 – Chemické složení vstupní biomasy

Parametr	Jednotky	Topinambur		Kukuřice
		Hlízy	Nadzemní biomasa	Nadzemní biomasa
Sušina	[%]	18,16	35,21	32,26
Organické látky	[% sušiny]	91,44	89,61	86,32
Popeloviny	[% sušiny]	8,96	10,37	13,68
N	[% sušiny]	1,55	1,54	1,50
C	[% sušiny]	39,18	39,15	41,26
Poměr C:N		25,27	25,42	27,5
H	[% sušiny]	5,84	5,92	5,33
S	[% sušiny]	0,13	0,12	0,14

Z uvedených hodnot je patrné, že nadzemní a podzemní biomasa slunečnice topinambur se od sebe liší obsahem organických látek a popelovin. Také zastoupení sušiny je vyšší u nadzemní biomasy (35,21 %) než u hlíz (18,16 %). Nadzemní biomasa obsahuje 89,61 % organických látek v sušině, zatímco hlízy obsahují 91,44 % organických látek v sušině. Vliv na rozdílnou produkci bioplynu těchto vzorků bude mít právě obsah organických látek a jejich rozložitelnost, spolu se zastoupením vody v čerstvé biomase. Podobných hodnot jako nadzemní biomasa topinamburu dosahuje také nadzemní biomasa kukuřice ve fyziologické zralosti. Obsah sušiny dosahoval v našich pokusech 32,26 %. Drobný rozdíl je patrný ve zvýšeném zastoupení uhlíku v biomase kukuřice (41,26 % sušiny) oproti topinamburu (39,15 % sušiny). Vyšší zastoupení uhlíku v kukuřici poukazuje na její vyšší methanogenní potenciál, jelikož je uhlík centrálním atomem molekuly methanu.

Vlastnosti inokula použitého jako očkovací látky pro zahájení anaerobní fermentace a zároveň jako kontroly při stanovení množství a kvality bioplynu jsou uvedeny v tabulce č. 8.

Tabulka č. 8 – Vstupní vlastnosti inokula

pH	sušina [%]	org. sušina [%]	NH ₄ ⁺ [mg.l ⁻¹]	CHSK [mg.l ⁻¹]
8,3	5,75	70,7	2 185	19 745

4.2.2 Produkce bioplynu

Při měření produkce bioplynu bylo sledováno kolik ml bioplynu bude vyprodukováno při použití dané plodiny a za dané předúpravy. Měření probíhalo v laboratoři České zemědělské univerzity v Praze - Červený Újezd v termokomoře temperované na 40 ± 1 °C. Vzorky byly měřeny nejprve dvakrát denně, dále jednou za dva dny, následně až jednou týdně, vzhledem k množství vyprodukovaného bioplynu za jednotku času.

Všechny vzorky biomasy byly do lahvíček naváženy v přepočtu na 0,7 g sušené biomasy, z tohoto důvodu jsou veškerá data přepočítána na 1 g sušiny biomasy a množství bioplynu je zároveň přepočítáno na objem suchého plynu za 0 °C (viz kapitola 4.1.3). Veškeré hodnoty jsou uvedeny v ml.g^{-1} sušiny.

Celkové produkce bioplynu z jednotlivých variant, včetně popisných statistik jsou uvedeny v tabulce č. 9. Pro jejich výpočet byly zvoleny kumulativní produkce bioplynu na konci experimentu z pěti opakování dané varianty. Pro vyšší reprodukovatelnost výsledků byly naměřené hodnoty všech variant sníženy o průměrnou produkci samotného inokula, které průměrně produkovalo $132,5 \pm 10,7$ ml bioplynu. g^{-1} sušiny.

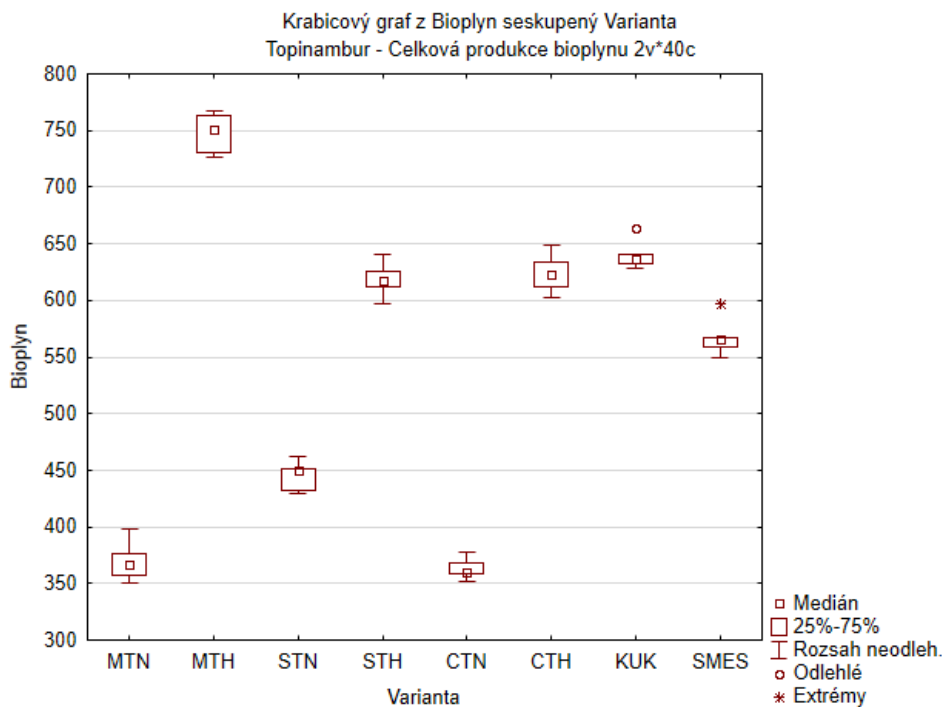
Tabulka č. 9 – Kumulativní produkce bioplynu z variant a popisné statistiky

	Průměr [ml]	Medián [ml]	Rozptyl [ml^2]	Sm. odch. [ml]	Var. koef. [%]
MTN	369,80	366,34	349,25	18,69	5,05
MTH	748,22	751,27	339,95	18,44	2,46
STN	445,20	449,98	195,78	13,99	3,14
STH	618,63	617,26	265,99	16,31	2,64
CTN	363,43	360,56	99,58	9,98	2,75
CTH	624,10	623,27	340,86	18,46	2,96
KUK	640,41	637,25	192,14	13,86	2,16
SMES	567,47	565,86	324,14	18,00	3,17

Z uvedených dat vyplývá, že nevyšší produkce bylo dosaženo u varianty mražených hlíz topinamburu ($748,2 \pm 18,4$ ml.g^{-1} sušiny). Nejnižší produkce bioplynu pak bylo dosaženo u varianty čerstvé nadzemní biomasy topinamburu ($363,4 \pm 9,9$ ml.g^{-1} sušiny). Žádná z variant nedosahovala významně rozdílného rozptylu, což poukazuje na vyrovnanost vzorků mezi jednotlivými opakováními. Nejvyšších rozptylů bylo dosaženo u vzorků mražené nadzemní biomasy a veškerých variant hlíz, a to pravděpodobně díky nedostatečné homogenizaci vzorků vstupní biomasy.

Pro zjištění statisticky významného rozdílu mezi jednotlivými variantami byla použita jednofaktorová analýza rozptylu, která umožňuje vyhodnotit vzájemné vztahy mezi variantami. Výsledky této analýzy jsou znázorněny v krabicovém grafu č. 1. Varianta se samotným inokulem nebyla uvažována (byla odečtena).

Graf č. 1 – Krabicový graf rozdílů mezi variantami - bioplyn



Z grafu vyplývá, že existují statisticky významné rozdíly mezi některými z variant, ale graf neprozrazuje, které varianty se od sebe významně odlišují. Pro podrobnější vyhodnocení bylo využito Scheffého testu zobrazeného v tabulce č. 10.

Tabulka č. 10 – Scheffého test – bioplyn

Scheffého test; proměnná Bioplyn (Celkové produkce bioplynu) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 343,71, sv = 32,000								
Varianta	MTN	MTH	STN	STH	CTN	CTH	KUK	SMES
MTN		0,000000	0,000019	0,000000	0,999707	0,000000	0,000000	0,000000
MTH	0,000000		0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
STN	0,000019	0,000000		0,000000	0,000004	0,000000	0,000000	0,000000
STH	0,000000	0,000000	0,000000		0,000000	0,999894	0,716721	0,006221
CTN	0,999707	0,000000	0,000004	0,000000		0,000000	0,000000	0,000000
CTH	0,000000	0,000000	0,000000	0,999894	0,000000		0,918202	0,001755
KUK	0,000000	0,000000	0,000000	0,716721	0,000000	0,918202		0,000034
SMES	0,000000	0,000000	0,000000	0,006221	0,000000	0,001755	0,000034	

Z porovnání p hodnot vyplývají existující rozdíly mezi většinou jednotlivých variant. Černá barva zobrazuje nevyskytující se statisticky významné rozdíly v testu (hladina významnosti $\alpha = 0,05$), Červená barva pak značí statisticky významné rozdíly na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. V 85,7 % případů existují statisticky významné rozdíly. V 14,3 % případů se mezi sebou jednotlivé varianty statisticky významně neliší.

Nadzemní biomasa topinamburu vykazuje ve všech variantách nižší produkci bioplynu než nadzemní biomasa kukuřice. U vzorku sušené nadzemní biomasy byl prokázán statisticky významný rozdíl v porovnání s nadzemní biomasou kukuřice, nedosahuje však dostatečných produkci. Hlízy topinamburu dosahují nejvyšší produkce bioplynu, v porovnání s kukuřicí však neexistuje statisticky významný rozdíl ve vzorcích sušených a čerstvých hlíz. Mražené hlízy dosahují statisticky významných rozdílů v produkci bioplynu na rozdíl od kukuřice.

Při statistickém šetření vlivu předúpravy byla zjištěna statisticky významně zvýšená produkce bioplynu u předúpravy nadzemní biomasy sušením. Předúprava nadzemní biomasy mražením nevykazovala odlišné produkce od neupravené, čerstvé varianty. Naopak u hlíz topinamburu existuje největší rozdíl mezi jednotlivými předúpravami. Mražením bylo dosaženo vyšší produkce než u neupraveného nebo sušeného vzorku.

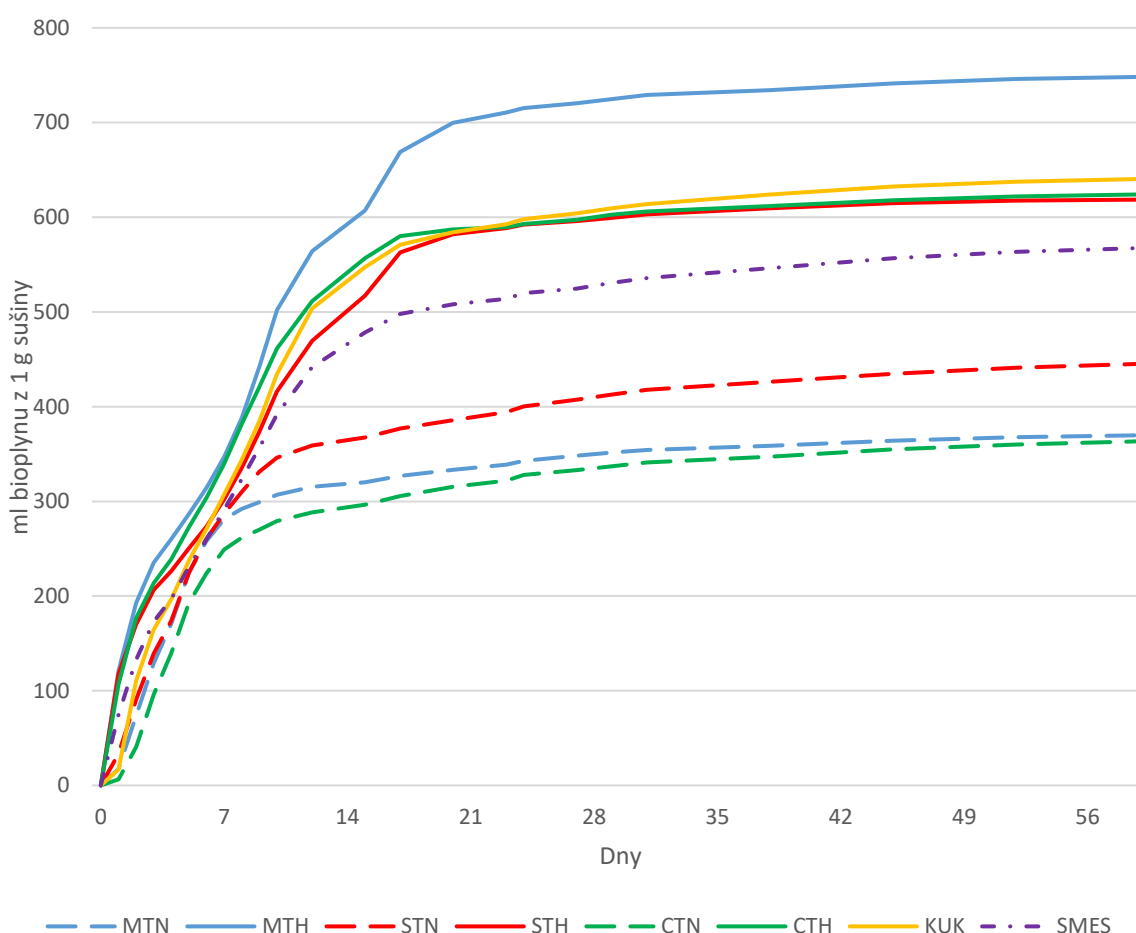
Směsný vzorek rostlin topinamburu nedosahuje se statistickou významností rovnocenných výsledků v porovnání s kukuřicí.

Z uvedených výsledků vyplývá, že na produkci bioplynu z celkové biomasy topinamburu má spíše vliv části použité rostliny než předúprava rostlinného materiálu, přestože mražení hlíz má výrazně pozitivní vliv na produkci bioplynu.

4.2.2.1 Produkce bioplynu v závislosti na použité plodině

Podrobnější a přehlednější rozdíly kumulativní produkce bioplynu jsou uvedeny v grafu č. 2, který znázorňuje postupnou produkci bioplynu v ml.g^{-1} sušiny za jednotku času (den).

Graf č. 2 – Kumulativní produkce bioplynu

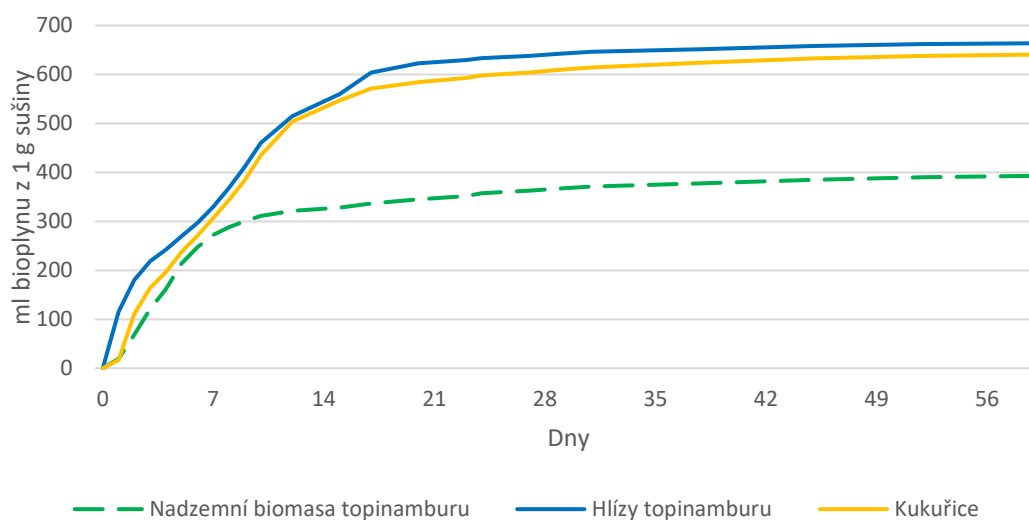


Jak již bylo výše uvedeno, nejvyšších hodnot výtěžnosti bioplynu bylo dosaženo u varianty mražených hlíz topinamburu ($748,2 \pm 18,4 \text{ ml.g}^{-1}$ sušiny) a nejnižších výtěžků, pak u varianty čerstvé nadzemní biomasy topinamburu ($363,4 \pm 9,9 \text{ ml.g}^{-1}$ sušiny). Kukuřice svými výtěžky bioplynu ($640,4 \pm 13,9 \text{ ml.g}^{-1}$ sušiny) překonala veškerou nadzemní biomasu slunečnice topinambur s maximem produkce $445,2 \pm 13,9 \text{ ml.g}^{-1}$ sušiny. Z grafu je zároveň

patrné, že 75 – 80 % produkce celkového bioplynu bylo u všech variant vyprodukováno již v prvních dvou týdnech pokusu. 90 % celkové produkce bylo nejrychleji dosaženo u varianty čerstvých hlíz topinamburu, a to již 15. den. Nejpomalejšího nástupu produkce bioplynu bylo dosaženo u variant sušené a čerstvé nadzemní biomasy, kdy 90 % celkové produkce bioplynu bylo dosaženo 25. den experimentu.

Hlízy topinamburu produkovaly průměrně více bioplynu než nadzemní části, jak je uvedeno v grafu č. 3

Graf č. 3 – Porovnání průměrné produkce bioplynu z nadzemní a podzemní biomasy topinamburu



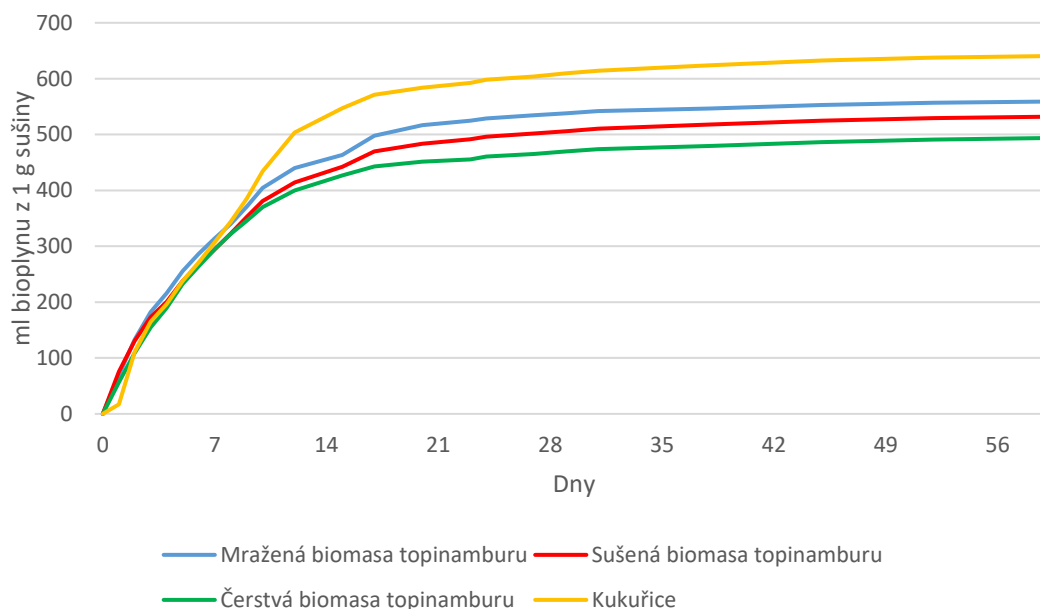
Hodnoty uvedené v grafu č. 3 byly vypočítány z průměrné výtěžnosti bioplynu jednotlivých předúprav celých rostlin (hlízy včetně nadzemní biomasy). Z uvedeného vyplývá, že hlízy topinamburu poskytují dobré výtěžky bioplynu, průměrně 663,7 ml.g⁻¹ sušiny oproti nadzemní biomase s produkcí 392,8 ml.g⁻¹ sušiny. Na druhou stranu, mražené hlízy topinamburu produkovaly nejvíce bioplynu ze všech vzorků (748,2 ± 18,4 ml.g⁻¹ sušiny), tudíž je průměrná produkce hlíz značně zkreslená. Kukuřice dosahuje výtěžků 640,4 ml.g⁻¹. Lze tedy usuzovat na značný bioplynový potenciál hlíz topinamburu v porovnání s kukuřicí, nikoliv však v porovnání kukuřice s nadzemní biomasou topinamburu.

4.2.2.2 Produkce bioplynu v závislosti na použité předúpravě

K posouzení vlivu použité předúpravy na produkci bioplynu byly eliminovány proměnné nadzemních a podzemních částí topinamburu a data byla vztažena k bioplynové produkci kukuřice. Tyto průměrné hodnoty pak odrážejí skutečný vliv potenciálu předúpravy

na rostliny slunečnice topinambur. Graf č. 4 popisuje kumulativní produkci bioplynu ve vztahu k použité metodě předúpravy.

Graf č. 4 – Produkce bioplynu ve vztahu k použité metodě předúpravy



Při pohledu na tento graf je patrné, že žádná z metod předúpravy celkové biomasy slunečnice topinambur nedosahuje výtěžnosti bioplynu z kukuřice sklizené v plné zralosti (634,5 ml bioplynu.g⁻¹ sušiny) a činí 89 % z produkce kukuřice. Mezi vlastními rostlinami topinamburu se pak mražení (průměrně 566,7 ml bioplynu.g⁻¹ sušiny) představuje jako účinná metoda předúpravy oproti čerstvé biomase (průměrně 492,2 ml bioplynu.g⁻¹ sušiny). Na druhou stranu směsný vzorek topinamburu (graf č. 2) dosáhl stejné produkce jako mražená biomasa topinamburu. To je zapříčiněno nízkými výtěžky bioplynu z nadzemní biomasy topinamburu, které snižují průměr z celé rostliny.

Z grafu č. 2 vyplývá že mražení má minimální vliv na produkci bioplynu z nadzemní biomasy, oproti tomu na hlízy má mražení vliv extrémně vysoký a přesahuje tak i produkci bioplynu kukuřice. Zároveň žádná metoda předúpravy nadzemní biomasy nedosahuje produkce bioplynu srovnatelné s biomasou kukuřice, oproti tomu předúpravou hlíz je možné dosáhnout hladin bioplynu srovnatelných s kukuřicí. Na produkci bioplynu může mít výrazný vliv i obsah sušiny ve vzorcích. Hlízy, které obsahovaly téměř 82 % vody, jsou pak pro mikroorganismy pravděpodobně mnohem lépe přístupné než nadzemních částí biomasy s obsahem vody přibližně 77 %. Takto vysoký obsah vody v hlízách také lépe podléhá nízkým teplotám a vznikající led tak narušuje strukturu hlíz lépe než u neupravených vzorků.

4.2.3 Produkce methanu

Celková produkce bioplynu je souhrnným faktorem v hodnocení jednotlivých plodin a metod předúpravy a určuje kvantitu vyprodukovaného bioplynu. Kvalitu bioplynu je možné stanovit na základě jeho nejhodnotnější složky, kterou je methan. Z důvodu vysoké náročnosti měření zastoupení methanu v bioplynu, bylo toto realizováno nejdříve dvakrát týdně, později až v týdenních intervalech.

Vypočtená průměrná celková produkce suchého bioplynu byla vynásobena průměrným procentuálním zastoupením methanu, která byla vypočítána ze všech měření zastoupení methanu v bioplynu v průběhu 58 dní experimentu. Z daných hodnot byly vyhodnoceny popisné statistiky a následná jednofaktorová analýza rozptylu pro zjištění statisticky významných rozdílů mezi variantami. V tabulce č. 11 jsou uvedeny popisné statistiky celkové produkce methanu. V tabulce č. 12 pak průměrné hodnoty procentuálního zastoupení methanu v bioplynu.

Tabulka č. 11 – Popisné statistiky produkce methanu

	Průměr [ml]	Medián [ml]	Rozptyl [ml ²]	Sm. odch. [ml]	Var. koef. [%]
MTN	248,69	246,36	157,95	12,57	5,05
MTH	507,97	510,04	156,68	12,52	2,46
STN	288,44	291,54	82,18	9,07	3,14
STH	411,32	410,42	117,59	10,84	2,64
CTN	233,68	231,84	41,17	6,42	2,75
CTH	422,27	421,70	156,04	12,49	2,96
KUK	389,88	387,96	71,21	8,44	2,16
SMES	367,04	366,00	135,60	11,64	3,17

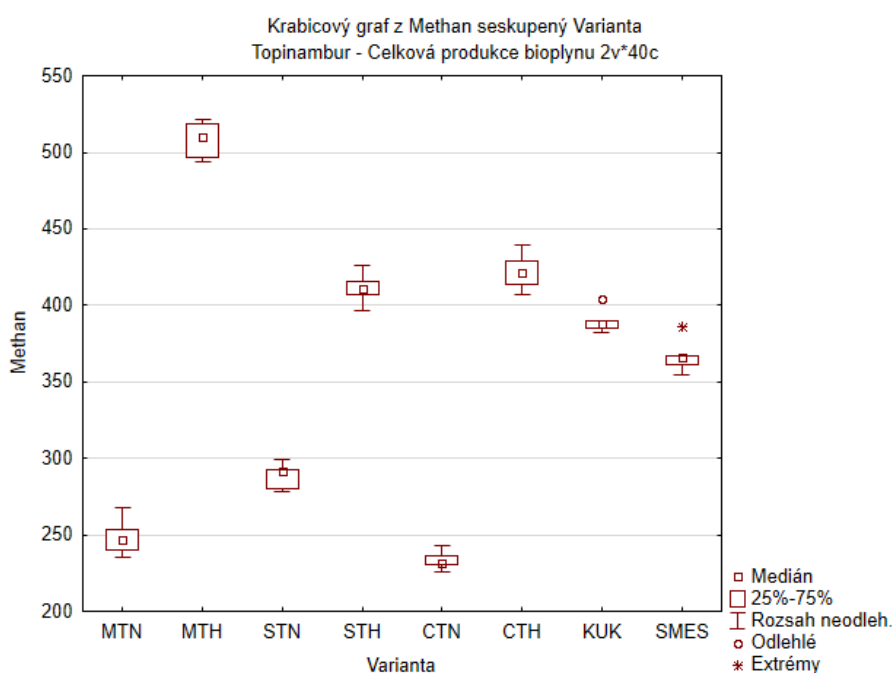
Tabulka č. 12 – Průměrné procentuální zastoupení methanu v bioplynu

	Průměr [%]	Směrodatná odchylka [%]
INOK	69,54	0,09
MTN	67,25	0,07
MTH	67,89	0,14
STN	64,79	0,06
STH	66,49	0,13
CTN	64,30	0,05
CTH	67,66	0,16
KUK	60,88	0,14
SMES	64,68	0,14

Obsah methanu v bioplynu činil u všech vzorků během prvního týdne 30 – 50 %, ve zbylých týdnech se již procentuální zastoupení methanu příliš nelišilo od jeho průměrné hodnoty pro každou variantu. Z tabulky č. 12 ve srovnání s produkcí bioplynu vyplývá, že nejvíce methanu, a tedy i nejkvalitnějšího bioplynu bylo dosaženo u varianty mražených hlíz slunečnice topinambur ($507,9 \pm 12,5 \text{ ml CH}_4 \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny), což odpovídá 67,9 % obj. CH_4 v bioplynu. Nejnížší množství methanu pak bylo dosaženo u varianty čerstvé nadzemní biomasy slunečnice topinambur ($233,7 \pm 6,4 \text{ ml CH}_4 \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny), což odpovídá 64,3 % methanu v bioplynu. Nejnížšího průměrného procentuálního zastoupení methanu v bioplynu bylo zjištěno u varianty kukuřice sklizené v plné zralosti s 60,8 % methanu v bioplynu o celkovém objemu methanu $389,8 \pm 8,4 \text{ ml CH}_4 \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny

Podrobnější vyhodnocení rozdílů mezi jednotlivými variantami poskytuje jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA), která byla podobně jako u hodnocení bioplynu vyhodnocena i u produkce methanu. Výsledky mezi jednotlivými variantami jsou k dispozici v tabulce č. 13. a v krabicovém grafu č. 5.

Graf č. 5 – Krabicový graf rozdílů mezi variantami – CH_4



Tabulka č. 13 – Scheffého test – CH₄

Scheffého test; proměnná Methan (Celková produkce methanu) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 147,58, sv = 32,000								
Varianta	MTN	MTH	STN	STH	CTN	CTH	KUK	SMES
MTN		0,000000	0,000747	0,000000	0,671073	0,000000	0,000000	0,000000
MTH	0,000000		0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000
STN	0,000747	0,000000		0,000000	0,000003	0,000000	0,000000	0,000000
STH	0,000000	0,000000	0,000000		0,000000	0,911535	0,227854	0,000141
CTN	0,671073	0,000000	0,000003	0,000000		0,000000	0,000000	0,000000
CTH	0,000000	0,000000	0,000000	0,911535	0,000000		0,009935	0,000003
KUK	0,000000	0,000000	0,000000	0,227854	0,000000	0,009935		0,164603
SMES	0,000000	0,000000	0,000000	0,000141	0,000000	0,000003	0,164603	

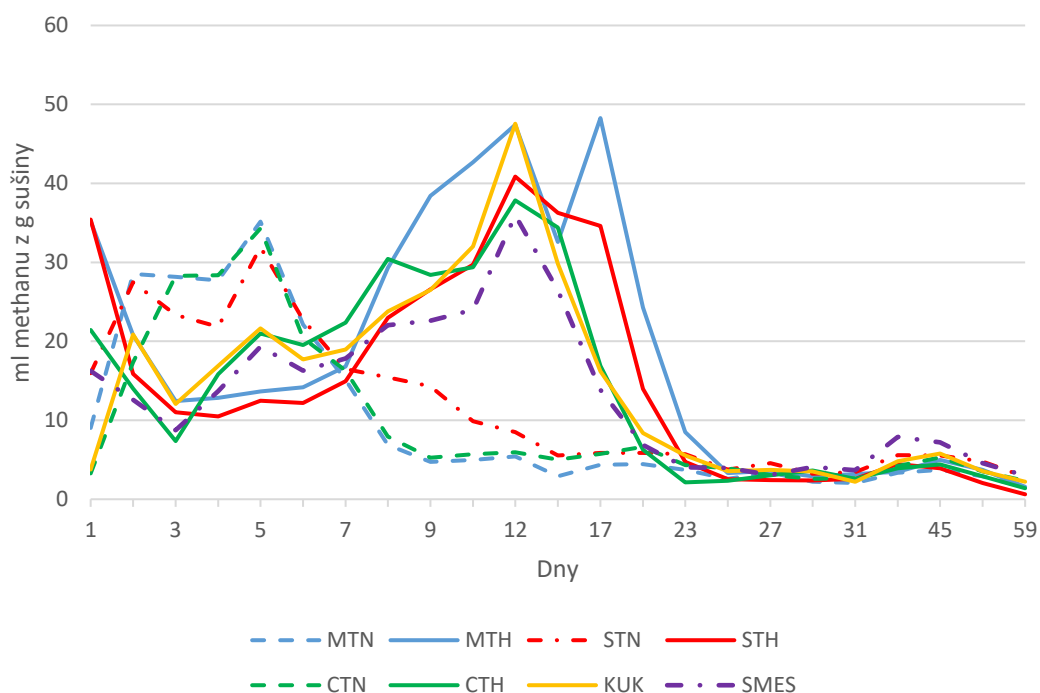
Černá barva zobrazuje nevyskytující se statisticky významné rozdíly v testu (hladina významnosti $\alpha = 0,05$), Červená barva pak značí statisticky významné rozdíly na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Z Scheffého testu – CH₄ vyplývá, že existují statisticky významné rozdíly (hladina významnosti $\alpha = 0,05$) mezi 85,7 % testovaných případů, zatímco mezi 14,3 % případů se statisticky významné rozdíly nevyskytují. Oproti analýze rozptylu bioplynu, se v analýze rozptylu methanu statisticky významně neliší varianty mražených hlíz topinamburu v porovnání se sušenou nadzemní biomasou, dále také mražená nadzemní biomasa hlíz od biomasy kukuřice a rozdíly se stírají i u čerstvé nadzemní biomasy topinamburu v porovnání s kukuřicí. Ostatní výsledky jsou vzájemně podobné, co se týče do položení na krabicovém grafu č. 5. Na první pohled existuje mezi grafy č. 1 a č. 5 značná analogie. Lze tedy předpokládat, že nejkvalitnějšího methanu bylo statisticky významně dosaženo u mražených hlíz topinamburu ($507,9 \pm 12,5$ ml CH₄.g⁻¹ sušiny), zatímco kukuřice sklizená v plné zralosti ($389,8 \pm 8,4$ ml CH₄.g⁻¹ sušiny) a směsný vzorek hlíz a nadzemní biomasy topinamburu v hmotnostním poměru 1:1 ($367,0 \pm 11,7$ ml CH₄.g⁻¹ sušiny) se pohybují ve středních hodnotách spektra.

Kumulativní produkce methanu byla téměř totožná s kumulativní produkcí bioplynu, pouze vzorky kukuřice dosáhly nižších hodnot produkce methanu než u produkce bioplynu, to je zapříčiněno nejnižším procentuálním zastoupením methanu (60,8 % obj.) ze všech variant.

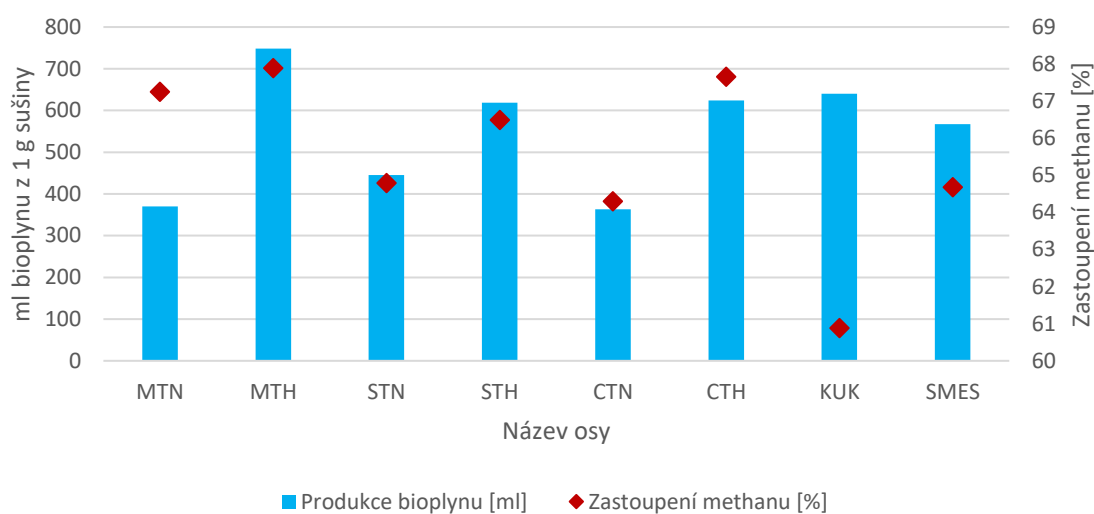
V grafu č. 6 jsou znázorněny aktuální produkce metanu v $\text{m}^3 \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny. Hodnoty byly vypočítány z aktuální produkce bioplynu za daný časový úsek a byly vynásobeny aktuálním procentuálním zastoupením methanu, dle jednotlivých měření kvality methanu, přičemž ve dnech, kdy nebyla kvalita bioplynu měřena, byla pro výpočet použita poslední naměřená hodnota procentuálního zastoupení methanu v bioplynu.

Graf č. 6 – Produkce methanu v závislosti na čase



Graf č. 6 je názornou ukázkou průběhu produkce methanu, potažmo bioplynu v čase. Nadzemní biomasa, bez ohledu na předúpravu, dosáhla maxima produkce kolem 5. – 7. dne experimentu, zatímco ostatní varianty hlíz topinamburu, kukuřice a směsného vzorku měly vrchol produkce až během 9. – 12. dne. Následný úpadek produkce 15. dne experimentu souvisí se spotřebováním substrátu během bouřlivého nástupu produkce methanu. Zvýšená produkce methanu v prvních dvou dnech produkce u všech vzorků biomasy hlíz poukazuje na přítomnost lehce rozložitelných organických látek v biomase. Jednotlivé varianty s produkcí bioplynu a procentuálním zastoupením methanu jsou znázorněny v grafu č. 7.

Graf č. 7 – Produkce bioplynu a procentuální zastoupení methanu



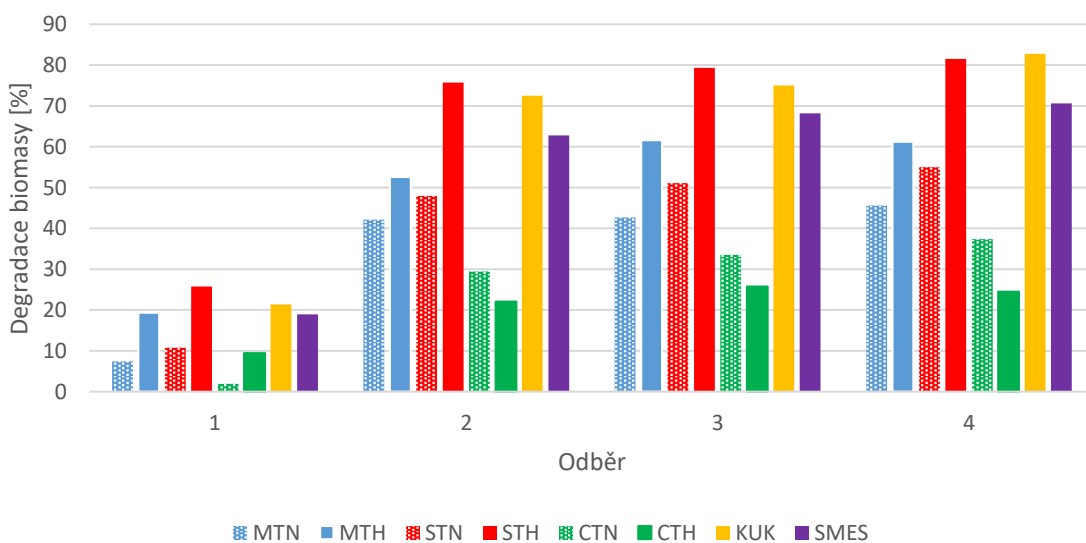
Z porovnání výtěžnosti bioplynu a kvality methanu vyplývá, že část rostliny je nejsilnějším faktorem při výtěžnosti methanu. Hlízy topinamburu s nejnižšími výtěžky $618,6 \pm 16,3$ ml bioplynu.g⁻¹ sušiny a 66,9 % methanu (sušené hlízy topinamburu), dosahují výsledků srovnatelných s kukuřicí ($640,4 \pm 13,8$ ml bioplynu.g⁻¹ sušiny a zastoupením 60,8 % methanu). Oproti tomu nadzemní biomasa topinamburu značně zaostává s nejvyššími výtěžky ($445,2 \pm 13,9$ ml bioplynu.g⁻¹ sušiny a zastoupením 64,8 % methanu) u varianty sušené nadzemní biomasy.

4.2.4 Degradace biomasy

Degradace biomasy v průběhu anaerobní fermentace je ukazatelem rozkládání biomasy na jednodušší organické látky a postupně na bioplyn. V tomto experimentu bylo prováděno měření degradace na základě hmotnosti lahvičky s inokulem a vzorkem na počátku a na konci experimentu vztažené k dané navážce substrátu. K tomu navíc u vybraných opakování také v průběhu fermentace. Z naměřených hodnot uvedených v grafu č. 10 byl po odečtení degradace samotného inokula určen stupeň degradace substrátu (biomasy) v průběhu fermentace.

Z hodnot uvedených v grafu č. 8 vyplývá, že nejsnáze podléhají rozkladu vzorky hlíz topinamburu, to je pravděpodobně zapříčiněno jejich chemickým složením, nejvyššího stupně degradace dosáhly vzorky sušených hlíz topinamburu (81,5 %), což nekoresponduje s výtěžností bioplynu, kde byly nejproduktivnější mražené hlízy (degradace biomasy 61,7 %). Nejhůře rozložitelným substrátem je pak nadzemní biomasa topinamburu, konkrétně čerstvá biomasa hlíz topinamburu (24,5 %). Ještě názorněji tuto situaci popisuje graf č. 10. Největší vliv na odbourávání substrátu má předúprava mražením, a to s výrazným vlivem na hlízy topinamburu. Sušení má slabý vliv na degradaci nadzemní biomasy oproti čerstvým i mraženým vzorkům. Hlízy podléhají vyšší degradaci biomasy, pravděpodobně díky vysokým obsahům vody. U vzorků kukuřice bylo dosaženo degradace biomasy 82,8 %, což je zároveň nejvyšší hodnota ze všech testovaných variant, to je pravděpodobně způsobeno nízkým obsahem ligninu v této biomase.

Graf č. 8 – Degradace biomasy vzorku



Z grafu č. 8 je také patrné postupné rozkládání biomasy v průběhu fermentace. Nejrychlejšího nástupu rozkladu dosahuje opět varianta mražených hlíz topinamburu, ta je díky svému složení lehce přístupná pro mikroorganismy anaerobní digesce. Vzorke prvního, druhého a třetího odběru byly k dispozici pouze z jedné experimentální lahvičky batch testu, zatímco u čtvrtého odběru se jedná o průměr z pěti lahviček.

4.2.5 Průběh fermentace a doplňkové analýzy

Na základě degradace biomasy a dalších dále uvedených analýz, bylo možné zhodnotit průběh anaerobní digesce. Díky čtyřem odběrům vzorků (tři průběžné a jeden závěrečný při ukončení experimentu) bylo možné nejen zhodnotit fermentaci na začátku a na konci, ale také ve třech dalších fázích a zohlednit tak i další faktory, které mají vliv na kvalitu a množství vyprodukovaného bioplynu.

4.2.5.1 Chemická spotřeba kyslíku – CHSK

Chemická spotřeba kyslíku udává množství obsažených organických látek, které je možno přeměnit na základní sloučeniny kyslíku a ostatních prvků. To dává možnost odhadnout přístupnost organických látek pro mikroorganismy fermentace, a zároveň odhadnout jejich degradabilitu v souvislosti s produkcí methanu a degradace biomasy. Hodnoty CHSK naměřené v tomto experimentu jsou uvedeny v tabulce č. 14.

Tabulka č. 14 – Chemická spotřeba kyslíku

	1. odběr	2. odběr	3. odběr	4. odběr
Varianta	CHSK [mg.l ⁻¹]			
INOK	5 870,0	5 465,0	4 705,0	3 308,8
MTN	8 420,0	6 825,0	5 390,0	3 723,5
MTH	5 880,0	6 360,0	4 820,0	3 100,5
STN	4 995,0	5 522,5	4 867,5	3 219,3
STH	6 362,5	4 827,5	3 942,5	3 129,0
CTN	5 187,5	6 665,0	4 970,0	4 046,2
CTH	4 832,5	5 312,5	5 425,0	3 414,8
KUK	4 290,0	5 375,0	4 417,5	3 508,0
SMES	4 677,5	3 842,5	4 802,5	3 149,2

Z tabulky č. 14 je patrná probíhající fermentace a její vliv na odbourávání organických, fermentovatelných látek. Na počátku pokusu byla průměrná chemická spotřeba kyslíku 5580,6 mg.l⁻¹. Na konci experimentu pak 3411,3 mg.l⁻¹. Nadzemní biomasa topinamburu vykazovala na konci experimentu lehce zvýšené hodnoty chemicky spotřebovaného kyslíku, a to pravděpodobně díky přítomnosti ligninu, který vykazuje hodnoty CHSK, ale dále není rozložitelný mikroorganismy. Vliv předúpravy na chemickou spotřebu kyslíku nebyl pozorován. Vyrovnané hodnoty na konci pokusu indikují proběhlou fermentaci, kde byla rozložena většina organických látek a další rozklad již za produkce bioplynu neprobíhá, pravděpodobně díky zastoupení ligninu a dalších organických látek, které nejsou dále mikroorganismy digesce rozložitelné.

4.2.5.2 Hodnota pH suspenze

Hodnota pH je orientačním posouzením průběhu anaerobní digesce. Jeho hodnota byla měřena na začátku, v průběhu a na konci pokusu. Tabulka č. 15 popisuje vývoj pH v průběhu fermentace.

Tabulka č. 15 – Vývoj pH v průběhu fermentace

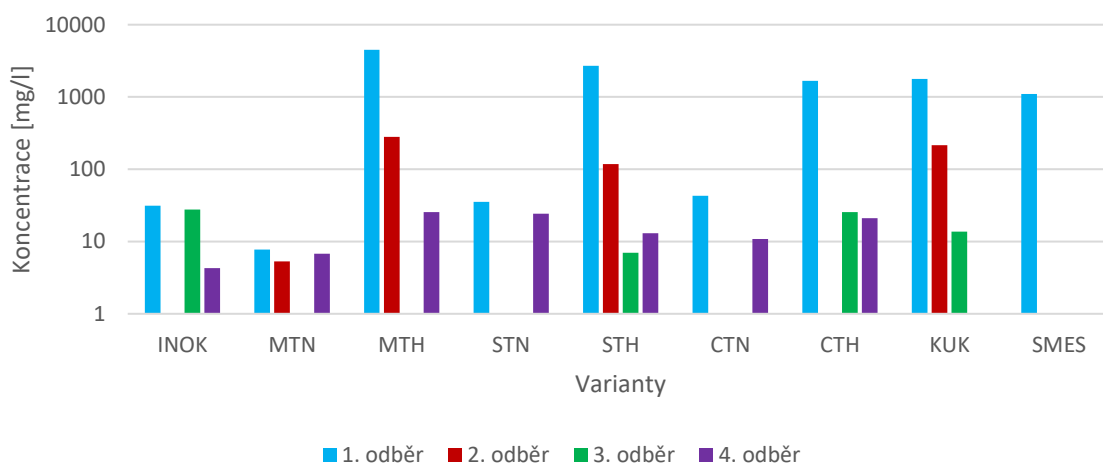
pH	1. odběr	2. odběr	3. odběr	Závěr
INOK	7,71	7,53	7,52	7,52
MTN	7,39	7,41	7,45	7,48
MTH	7,32	7,42	7,43	7,48
STN	7,38	7,42	7,47	7,50
STH	7,33	7,40	7,51	7,51
CTN	7,36	7,43	7,47	7,49
CTH	7,32	7,42	7,49	7,50
KUK	7,33	7,42	7,46	7,48
SMES	7,36	7,39	7,47	7,50

Vzorky byly smíšeny s inokulem s původním pH 8,30, které se naředěním vodou snížilo na průměrnou hodnotu 8,20. S postupující fermentací docházelo k odbourávání organických látek, tvorbě mastných kyselin, tvorbě a hromadění amoniakálního dusíku (viz dále). V raných fázích fermentace (1. odběr) bylo celkové pH na průměrné úrovni 7,38 s nejnižší hodnotou u vzorku s mraženými hlízami topinamburu. V dalších fázích pH postupně stoupalo, k průměrným hodnotám pH = 7,42 v 2. odběru vzorků a pH = 7,47 ve 3. odběru. Tento vzestup indikuje zpracování substrátu a v závěrečné fázi pokusu došlo k vyrovnání pH do průměrných hodnot pH = 7,49. Tato hladina pH se nachází v horních hladinách neutrálního spektra a je indikátorem správně proběhlé fermentace, neboť toto pH je v optimálních hodnotách pro anaerobní mikroorganismy. Pokles pH u vzorků hlíz je možné vysvětlit vysokou koncentrací mastných kyselin a nízkou koncentrací amoniakálního dusíku. Naopak u nadzemní biomasy, kde je produkováno více amoniakálního dusíku a méně mastných kyselin bylo pH průměrně vyšší.

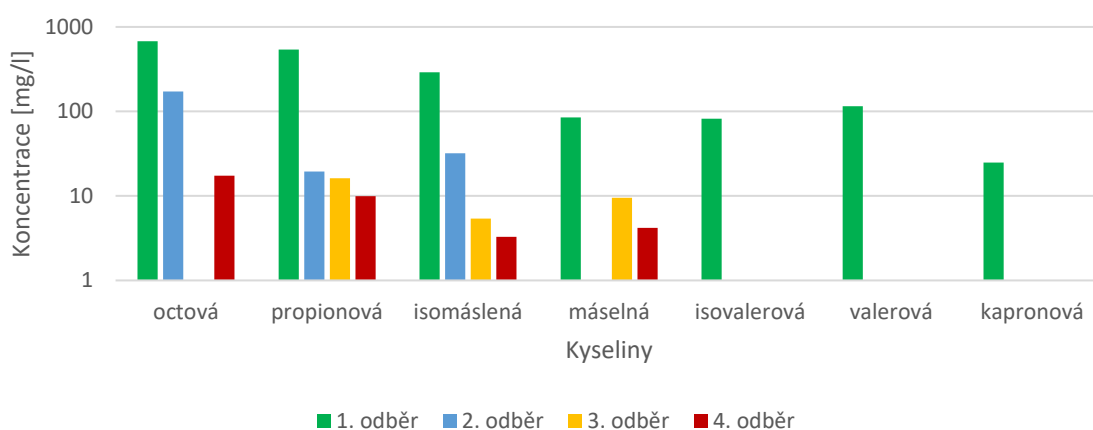
4.2.5.3 Koncentrace mastných kyselin

V průběhu anaerobní fermentace dochází k vývoji mastných kyselin, které se dále stávají substrátem pro tvorbu methanu mikroorganismy fermentace. Graf č. 9 popisuje souhrnnou koncentraci mastných kyselin dle varianty a odběru, zatímco graf č. 10 popisuje zastoupení jednotlivých mastných kyselin. Vzhledem k velkému naředění vzorku při zakládání batch testů, nebyla u některých vzorků detekována produkce jednotlivých kyselin. To ale není dáno jejich nepřítomností, nýbrž mezí detekce jednotlivých kyselin na používaném chromatografu. Grafy byly pro lepší názornost upraveny na logaritmickou stupnici.

Graf č. 9 – Koncentrace sumy mastných kyselin dle varianty a odběru



Graf č. 10 – Koncentrace jednotlivých mastných kyselin dle odběru



Jak je z grafů č. 9 a 10 patrné nejvyšší produkce kyselin byla na počátku fermentace. Nízko uhlíkaté mastné kyseliny (octová, propionová, a isomáselná) byly produkovány po celou dobu probíhajícího experimentu, a to s klesající koncentrací. Více uhlíkaté kyseliny (valerová,

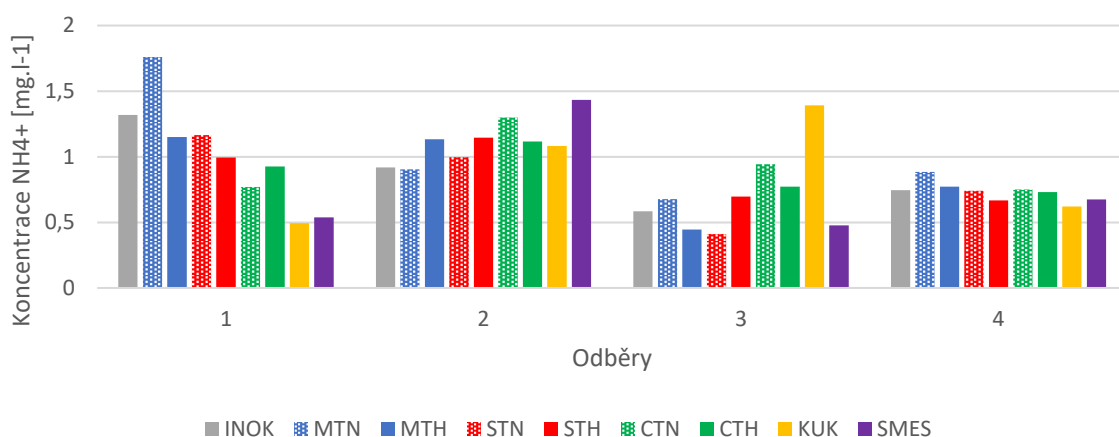
isovalerová, kapronová) jsou výsledkem hydrolyzy a acidogeneze substrátu, proto již v pozdějších fázích došlo k jejich odbourání acetogenními a methanogenními mikroorganismy. Nejvyšší koncentrace celkových kyselin bylo dosaženo u vzorku mražených hlíz topinamburu v prvním odběru, tedy prvním týdnem experimentu s 4503,08 mg kyselin v litru, což koresponduje s vysokým procentem rozložitelnosti biomasy tohoto vzorku. Tato koncentrace je poměrně vysoká, oproti ostatním vzorkům, které měly v současnou dobu koncentrace mastných kyselin přibližně poloviční. Nejnižších koncentrací dosahovaly vzorky nadzemní biomasy topinamburu, což zároveň koresponduje s produkcí methanu.

4.2.5.4 Koncentrace amoniakálního dusíku ve fermentované biomase

Podobně jako koncentrace mastných kyselin, tak i koncentrace amoniakálního dusíku reflektuje složení biomasy a průběh anaerobní fermentace. V grafu č. 11 jsou uvedeny naměřené koncentrace amoniakálního dusíku u jednotlivých variant ve všech odběrech.

Vývoj produkce amonného dusíku má téměř u všech variant klesající tendenci, s mírným nárůstem na konci experimentu. Nejvyšších hodnot dosahovala nadzemní biomasa topinamburu s maximem u mražené varianty 1,76 mg NH₄⁺·l⁻¹ a to ze všech odběrů. Nejnižších koncentrací bylo dosaženo u kukuřice v prvním odběru (0,49 mg NH₄⁺·l⁻¹), která ovšem dosáhla maxima produkce NH₄⁺ až při 3. odebrání vzorků. Vývoj produkce amoniakálního dusíku lépe znázorňuje graf č. 11.

Graf č. 11 – Koncentrace amoniakálního dusíku



Vyrovnaná koncentrace amoniakálního dusíku při závěru experimentu figuruje jako indikátor ustálení procesů, podobně jako produkce mastných kyselin, pH a methanu, resp. bioplynu. Výrazně nižších hodnot než u nadzemní biomasy topinamburu, bylo dosaženo

u hlíz topinamburu, bez ohledu na předúpravu nebo fázi fermentace. Vzhledem k podobnému zastoupení celkového dusíku v nadzemní biomase i hlízách (1,55 % sušiny) nelze předpokládat rozdílné zastoupení dusíkatých látek. Nejvyšší vliv na produkci amoniaku mělo pravděpodobně inokulum.

4.2.6 Produkce bioplynu a methanu vztažená k ploše

Pro porovnání výsledků a srovnání skutečných polních podmínek byly vypočítány výtěžky bioplynu a methanu z jednotky plochy, tedy m^2 . K výpočtu byly použity známé výsevky a spony, průměrné hektarové výnosy, naměřené procentuální zastoupení sušiny a výtěžky bioplynu a methanu. Skutečnost popisuje tabulka č. 16.

Tabulka č. 16 – Výpočet produkce bioplynu a methanu z jednotky plochy

Varianta	Bioplyn	Methan	Spon [m^2]	Výnos	Výnos	Sušina [%]	Bioplyn [$\text{m}^3 \cdot \text{m}^{-2}$]	Methan [$\text{m}^3 \cdot \text{m}^{-2}$]
	[$\text{ml} \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny]	[$\text{ml} \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny]		č. hm. [$\text{t} \cdot \text{ha}^{-1}$]	suš. [$\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$]			
MTH	748,2	508,0	$0,6 \times 0,6$	15	300	20	0,224	0,152
STH	618,6	411,3	$0,6 \times 0,6$	15	300	20	0,186	0,123
CTH	624,1	422,3	$0,6 \times 0,6$	15	300	20	0,187	0,127
MTN	369,8	248,7	$0,6 \times 0,6$	35	1 225	35	0,453	0,305
STN	445,2	288,4	$0,6 \times 0,6$	35	1 225	35	0,545	0,353
CTN	363,4	233,7	$0,6 \times 0,6$	35	1 225	35	0,445	0,286
KUK	640,4	389,9	$0,7 \times 0,18$	40	1 280	32	0,820	0,499
SMES	567,5	367,0	$0,6 \times 0,6$	50	1 848	28	0,794	0,513

Z tabulky č. 16 vyplývá, že přestože nejvyšších výtěžků bioplynu i methanu bylo dosaženo z hlíz topinamburu, jejich zastoupení na výnosu z m^2 je velice nízké. Oproti tomu Výtěžky nadzemní biomasy topinamburu v porovnání s kukuřicí dosahují téměř srovnatelných výtěžků methanu i bioplynu z jednotky plochy, to je způsobeno relativně vysokým zastoupením sušiny a vysokým hektarovým výnosem této biomasy. Směsný vzorek hlíz a nadzemní biomasy slunečnice topinambur dosahoval vůbec nejvyšších výtěžků z jednotky plochy.

4.3 Diskuze

Tato práce se zabývala vlivem předúpravy a použité plodiny pro experimentální výtěžnost bioplynu a jeho kvalitativního složení, tedy obsahu methanu.

Obsah sušiny byl nejvyšší u kukuřice (32,26 %), což je hodnota podobná obsahu sušiny v kukuřičné siláži a kukuřice ve fyziologické zralosti (30 – 35 %) (Pipavičius a Mikulomienė, 2010). Obsah sušiny nadzemní biomasy topinamburu v tomto experimentu činil 35,21 %, což je v porovnání s Vacek a kol. (2014), kteří dosáhli sušiny nadzemní biomasy 47,02 %, výrazně méně. Takto rozdílné obsahy sušiny jsou pravděpodobně způsobeny rozdílným termínem sklizně, v tomto experimentu byla sklizeň po odkvětu, zatímco Vacek a kol. (2014) sklízeli ve vyšším stupni vývoje topinamburu. Obsah sušiny v hlízách topinamburu činil 18,16 % v tomto experimentu. V porovnání s 19,63 – 23,55 % sušiny v pokusech Saengthongpinit a Sajjaanantakul (2005), je to obsah nižší, což poukazuje na vyšší obsah vody díky ranější sklizni.

Při analýzách vstupní biomasy byl zjištěn obsah organické sušiny 91,44 % z celkové sušiny u biomasy hlíz topinamburu a 86,61 % organické sušiny z celkové sušiny u nadzemní biomasy topinamburu. Zároveň byl zjištěn celkový obsah uhlíku, dusíku, vodíku a síry v sušině nadzemních částí a hlíz topinamburu. Uhlík byl u částí nadzemní i podzemní biomasy v obsahu 38,18 % sušiny, dusík v obou případech 1,55 % sušiny, síra 0,13 % sušiny a vodík 5,92 % sušiny hlíz a 5,84 % sušiny nadzemní biomasy. K podobným výsledkům došli při analýzách nadzemní biomasy topinamburu i Vacek a kol. (2014). Vacek a kol. (2014) uvádějí obsah organické sušiny 84,10 – 85,27 % sušiny, obsah uhlíku 38,62 % sušiny, obsah dusíku 1,98 % obsah síry 0,22 % sušiny a obsah vodíku 5,13 % sušiny. Zvýšený obsah síry a dusíku může být způsoben vyššími vstupy anorganických hnojiv, oproti tomuto experimentu. Vzhledem k podobnosti naměřených hodnot nadzemní biomasy a hlíz, lze předpokládat, že zastoupení prvků je shodné v celém těle rostliny. Biomasa kukuřice sklizená v plné zralosti byla rovněž podrobena analýze vstupní biomasy. Collins et al. (1997), uvádějí 89,5 % organických látek v sušině, 1,6 % dusíku v sušině, 42 % uhlíku v sušině, 5,6 % vodíku v sušině a 0,16 % síry v sušině. V porovnání s výsledky v tomto experimentu se příliš neliší, lze tedy usuzovat na podobnou vstupní biomasu u těchto pokusů. Oslaj et al. (2010) uvádějí poměr C:N u kukuřice širší (30 – 35:1), než je uveden v této práci (C:N 28:1), ale zároveň uvádějí, že poměr vyšší než 30:1 není vhodný pro optimální produkci methanu.

Tyto prvky obsažené v organických sloučeninách (polysacharidy, celulóza, bílkoviny, lipidy) slouží mikroorganismům jako substrát k vytvoření bioplynu, a jeho hlavní složky, methanu. Díky analýze zastoupení těchto prvků bylo možné odhadnout složení biomasy. Jednotlivé zastoupení významných látek jako celulóza, hemicelulóza, bílkoviny, sacharidy, lipidy zůstává nerozkryto. Podobnost prvkového složení biomasy s autory (Vacek a kol, 2014; Collins et al., 1997; Weiland, 2010) dává možnost porovnat výsledky této práce a extrapolovat informace o zastoupení biomolekul, které mají vyšší hodnotu při odhadování produkce bioplynu, respektive methanu. Kukuřice dle Amon et al. (2005) obsahuje v sušině 22 % celulózy, 25 % hemicelulózy, 6 % bílkovin, 24 % škrobu, 7,6 % ligninu, a 2,6 % tuků a 13 % popelovin. Vysoký obsah celulózy, hemicelulózy, škrobu a bílkovin poukazuje na vysoký methanový potenciál kukuřice, jelikož jsou tyto materiály snadno rozložitelné a díky nízkým obsahům ligninu zároveň snadno přístupné pro mikroorganismy anaerobní digesce (Wagner et al., 2013). Obsah těchto látek v sušině nadzemní biomasy slunečnice topinambur dosahuje dle Keys a Nottingham (2008) 14 % celulózy, 10 % hemicelulózy, až 21 % ligninu, 12 % popelovin a 9 % ostatních organických látek. Methanový potenciál nadzemní biomasy je tedy oproti kukuřici výrazně nižší, také vysoký obsah ligninu znemožňuje dobrou výtěžnost bioplynu (Wagner et al., 2013). Keys a Nottingham (2008) zároveň uvádějí obsahy těchto látek v hlízách, které jsou složeny z 76 % ze sacharidů (zejména inulin), 11 % bílkovin, 3 % tuků, 6 % popelovin a 4 % ostatních organických látek. Takto vysoký obsah sacharidů a relativně vysoké obsahy bílkovin a tuků poukazují na dobrou výtěžnost z hlíz topinamburu (Wagner et al., 2013; Weiland, 2010).

Hlízy dosahují vyšší produkce bioplynu než nadzemní biomasa (Šotnár et al., 2015) díky podílu inulinu, což je polysacharid, který snadno podléhá hydrolýze a je tak výborným substrátem pro mikroorganismy digesce. Nadzemní biomasa topinamburu tento polysacharid neobsahuje a její výtěžky jsou tak nižší. Výrazným retardantem anaerobní digesce je pak lignin, který je v nadzemní biomase zastoupen hojněji a zabraňuje tak anaerobním mikrobům přístupu k celulóze (Keys a Nottingham, 2008; Lehtomäki, 2006).

Přítomnost ligninu také dokazují zvýšené hodnoty chemicky spotřebovaného kyslíku (CHSK) u nadzemní biomasy topinamburu na konci pokusu. Ten dle Nada et al. (2013) podává nenulové hodnoty CHSK, ale jeho podíl na produkci bioplynu je nulový.

Experiment produkce bioplynu porovnával slunečnici topinambur, její hlízy a nadzemní biomasu s kukuřicí v plné zralosti. Z důvodu vyšší reprodukovatelnosti výsledků, byla odečtena průměrná hodnota produkce inokula 132,4 ml bioplynu od všech výsledků produkce bioplynu ostatních variant a byla tak vypočítána čistá produkce bioplynu ze substrátu. Z výsledků vyplynulo, že nejvyšší produkce bioplynu (748,2 ml.g⁻¹ sušiny) dosahovaly vzorky mražených hlíz topinamburu. Nadzemní biomasa kukuřice (640,4 ml.g⁻¹ sušiny) byla druhou nejproduktivnější variantou. Hlízy topinamburu (618,6 – 748,2 ml.g⁻¹ sušiny) produkovaly výrazně více bioplynu než všechny varianty nadzemní biomasy bez ohledu na použitou předúpravu (363,4 – 445,2 ml bioplynu.g⁻¹ sušiny). Směsný vzorek hlíz a nadzemní biomasy topinamburu dosahoval 567,47 ml bioplynu.g⁻¹ sušiny. Při zkoumání produkce bioplynu z hlíz a nadzemní biomasy topinamburu a nadzemní biomasy kukuřice Šotnár et al. (2015) dosáhli výsledků produkce bioplynu 690,2 ml.g⁻¹ sušiny u hlíz, 437,3 ml.g⁻¹ sušiny u nadzemní biomasy a 674,0 ml.g⁻¹ sušiny kukuřičné siláže. Předúprava nebyla v tomto experimentu uvažována. V porovnání s naším experimentem se hodnoty čerstvých hlíz slunečnice topinambur (624,1 ml.g⁻¹ sušiny) podobají výsledkům Šotnár et al. (2015), na druhou stranu zvýšená produkce u hlíz předupravených ať už mrazem nebo sušením je pravděpodobně způsobena danou předúpravou. Nadzemní biomasa topinamburu nedosahovala v čerstvé hmotě ani předupravené biomase mražením výsledků, ke kterým došli Šotnár et al. (2015), pouze sušená nadzemní biomasa poskytuje srovnatelné výsledky. To je pravděpodobně způsobeno shodným zpracováním biomasy při zakládání batch testů produkce bioplynu.

Porovnání průměrných produkcí bioplynu hlíz topinamburu (620,0 ml.g⁻¹ sušiny) a nadzemní biomasy topinamburu (420,0 ml.g⁻¹ sušiny) s ostatními plodinami vykazuje značné rozdíly. Konopí dosahuje výtěžnosti zhruba 460,0 ml.g⁻¹ sušiny (Gissen et al., 2014). Travní porosty dosahují produkce 400,0 – 500,0 ml.g⁻¹ sušiny (Míchal et al., 2016). Čirok dosahuje produkcí bioplynu 420,0 – 600,0 ml.g⁻¹ sušiny (Zhang et al., 2016). Miscanthus dosahoval v produkci bioplynu 340,0 ml.g⁻¹ sušiny (Menadro et al., 2012) a křídlatka pak 270,0 – 290,0 ml.g⁻¹ sušiny (Mast et al., 2014). Z výše uvedeného je patrné, že nadzemní biomasa topinamburu dosahuje srovnatelných výsledků s ostatními, méně rozšířenými plodinami využívanými k produkci bioplynu. Hlízy topinamburu tyto produkce vysoce převyšují.

Na rozdíl od hlíz brambor, jak uvádějí Szymońska et al. (2000) nedochází u hlíz topinamburu k výrazné depolymerizaci polysacharidů vlivem nízkých teplot (Saengthongpinit a Sajjaanantakul, 2005). To u hlíz brambor způsobuje „sládnutí“, tedy rozklad na jednodušší

polysacharidy až oligosacharidy, které by při fermentaci podléhaly rozkladu na mastné kyseliny a následně na methan nejrychleji. Tento rapidní rozklad by se projevil nárůstem mastných kyselin a produkcí methanu již okolo 3. – 5. dne experimentu (Kryvoruchko et al., 2009). V tomto experimentu bylo u mražených hlíz topinamburu dosaženo maximální produkce bioplynu a methanu okolo 9. – 12. dne (viz graf č. 2 a graf č. 8) a lze tedy depolymerizaci jako faktor zvýšené produkce vyloučit. Zvýšená produkce těchto vzorků je pravděpodobně způsobena pouze porušením buněčné stěny vlivem mražení.

Vliv použité předúpravy byl značně nesourodý. Mražení mělo pozitivní vliv na hlízy topinamburu, oproti čerstvému zpracování hlíz topinamburu. Sušení nevykazovalo u hlíz výrazné zlepšení produkce. Oproti tomu předúprava nadzemní biomasy měla pozitivní vliv na produkci bioplynu u vzorků sušených. Forster-Carniero et al. (2012) uvádějí, že sušení může zvýšit produkci bioplynu až o 20 – 30 % oproti neošetřeným variantám. V našem experimentu bylo dosaženo 18 % nárůstu oproti čerstvé biomase, nižší výtěžky vysvětluje Foster-Carniero et al. (2012) neschopností předúpravy sušením narušit lignin v biomase. Vzorky mražené a čerstvé nadzemní biomasy nebyly ovlivněny v produkci předúpravou (rozdíl 2 %) to zdůvodňuje Čater et al. (2014) neporušením ligninu, ale pouze narušením buněčné stěny vlivem nízkých teplot. Výtěžnost bioplynu mohla být také ovlivněna mletím biomasy (Taherzadeh a Karimi, 2008). Forster-Carniero et al. (2012) uvádějí, že mražení a mechanická předúprava mohou vést ke zvýšené produkci methanu, ale snižují obsah ligninu ve fermentované biomase.

Produkce methanu korespondovala v tomto experimentu s produkcí bioplynu a v průběhu celé produkce se pohybovala na stálé úrovni mezi 60 – 78 % bioplynu, s výjimkou prvního týdne produkce (50 % bioplynu). Po odečtení produkce inokula ($93,2 \text{ ml CH}_4 \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny) nejvyšší produkce bylo dosaženo u hlíz ($411,3 - 507,9 \text{ ml CH}_4 \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny) s absolutně nejvyšší výtěžkou $507,9 \text{ ml CH}_4 \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny u mražených hlíz topinamburu. Nejnižší produkci methanu pak vykazovaly vzorky nadzemní biomasy topinamburu ($233,6 - 288,4 \text{ ml CH}_4 \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny), směsný vzorek hlíz a nadzemní biomasy pak $367,0 \text{ ml CH}_4 \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny. Ke srovnatelným výsledkům došli i Šotnár et al. (2015). Keys a Nottingham (2008) uvádějí výtěžky methanu $390,0 \text{ ml CH}_4 \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny hlíz a $250,0 \text{ ml CH}_4 \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny nadzemní biomasy. V tomto experimentu bylo dosaženo srovnatelných výsledků.

Kukuřice v tomto experimentu dosáhla produkce methanu $389,8 \text{ ml CH}_4 \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny. V porovnání s výzkumem Šotnár et al. (2015), kde bylo dosaženo $450,0 \text{ ml CH}_4 \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny došlo u našich vzorků k značnému propadu produkce methanu. To může být způsobeno stářím rostliny, kdy kukuřice sklizená v mléčné zralosti, jak uvádějí Šotnár et al., (2015), produkuje díky vyšším obsahům lehce rozpustných látek více bioplynu než kukuřice sklizená v plné zralosti, jako v našem experimentu. Nadzemní biomasa topinamburu takových výtěžků methanu nedosahuje. V porovnání s produkcí methanu nadzemní biomasy topinamburu s konopím ($250,0 - 300,0 \text{ ml CH}_4 \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny) což se s produkcí topinamburu přibližně shodné (Kreuger et al., 2011a; Adamovičs et al., 2014). Čirok dosahuje produkcí $250,0 - 360,0 \text{ ml CH}_4 \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny (Zhang et al., 2016). Dle Míchala et al. (2016) dosahují travní porosty (ve všech metodách předúpravy) celkové methanové produkce ($180,0 - 372,0 \text{ ml CH}_4 \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny). Miscanthus dle Menardo et al. (2012) dosahuje produkce methanu $200 \text{ ml CH}_4 \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny. Produkce nadzemní biomasy je s těmito plodinami přibližně srovnatelná, methan vytvořený hlízami tuto produkci překonává a je srovnatelný s produkcí methanu z biomasy kukuřice.

Zisk methanu z jednotky plochy, tedy m^2 , popisují Braun et al. (2008) u nadzemní biomasy v rozmezí $0,27 - 0,59 \text{ m}^3 \cdot \text{m}^{-2}$, naše výsledky $0,28 - 0,35 \text{ m}^3 \cdot \text{m}^{-2}$ se nacházejí na spodní hladině tohoto spektra, zejména díky zvýšené koncentraci ligninu v této biomase a širokému sponu rostlin, který umožňuje větší tvorbu biomasy. Braun et al. (2008) dále popisují výnos methanu z m^2 u kukuřice, které dosahují $0,35 - 1,85 \text{ m}^3 \cdot \text{m}^{-2}$. V porovnání s kukuřicí v tomto experimentu s výnosy methanu $0,49 \text{ m}^3 \cdot \text{m}^{-2}$ se naše kukuřice pohybuje v nižších hodnotách tohoto intervalu, pravděpodobně z důvodu vyšší koncentrace obtížněji rozložitelných látek v kukuřici sklizené v plné zralosti oproti silážní kukuřici. Keys a Nottingham (2008) doplňují, že zpracování hlíz na bioplyn je značně nákladným procesem díky nutnosti jejich vyorávání z půdy a jejich následné omývání, aby bylo zabráněno zanášení fermentoru hlínou a dalšími nečistotami.

Degradace biomasy byla nejvyšší u hlíz topinamburu (60 – 80 %). To je dle Keys a Nottingham (2008) způsobeno vysokým zastoupením inulinu. Nižší degradace nadzemní biomasy (35 – 55 %) je zapříčiněna vysokým obsahem ligninu v nadzemní biomase rostlin topinamburu (Lehtomäki, 2006). Dle Straky a kol. (2006) platí, že čím vyšší je úroveň degradace substrátu, tím vyšší jsou výtěžky bioplynu. Tento poznatek byl potvrzen i naším experimentem.

Koncentrace mastných kyselin indikuje procesy anaerobní digesce. Při hydrolýze se přeměňují složité organické látky (celulóza, hemicelulóza, bílkoviny, lipidy) na látky jednodušší (polysacharidy, oligosacharidy, peptidy, mastné kyseliny). Ty jsou při následné acidogenezi přeměněny na mastné kyseliny, které byly zároveň v tomto experimentu hodnoceny. Nejvyšší koncentrace mastných kyselin s počtem uhlíků $C_2 - C_6$ v prvním týdnu produkce (v řádech tisíců $mg.l^{-1}$), značí probíhající acidogenezi. S postupným odbouráváním těchto kyselin dochází k tvorbě methanu a oxidu uhličitého se společnou přeměnou těchto kyselin na nižší s uhlíkatým řetězcem $C_2 - C_4$, které byly detekovány v 2. týdnu pokusu. To spolu se zvýšeným obsahem kyseliny octové (C_2) značí probíhající acetogenezi. Její pokles od 1. měření je důkazem probíhající methanogeneze (Angelidaki a Ahring, 1992). Opožděná produkce (cca 3 dny, viz graf č. 8) u vzorků hlíz topinamburu pak tvořila hlavní složku kyselin $C_2 - C_4$ v třetím odběru produkce. V závěru experimentu byla již většina mastných kyselin již odbourána a jejich koncentrace se projevila v řádech desítek $mg.l^{-1}$. Podobné výsledky zjistili ve svém výzkumu i Wang et al. (1999), kdy vlivem použitého substrátu došlo k opožděné produkci mastných kyselin. Wang et al. (1999) zároveň uvádějí, že kyseliny s vyšším počtem uhlíků, než C_4 nejsou kvalitním substrátem pro methanogenní organismy, které nemohou tyto kyseliny využít a musí dojít k jejich přeměně na nižší, nejlépe C_2 kyseliny.

Při anaerobní digesci bílkovin a aminokyselin, popř. močoviny dochází k produkci amoniakálního dusíku (Straka a kol., 2006). Vzhledem k vysoké produkci amoniaku ve vzorcích nadzemní biomasy lze předpokládat, že její složení je zejména bílkovinné a z části porfyrinové díky obsahu chlorofylu. Hlízy nemají vysoký obsah bílkovin a chlorofyl neobsahují vůbec (Keys a Nottingham, 2008). Lze tedy předpokládat zvýšení amoniakálního dusíku u nadzemních částí biomasy, což bylo potvrzeno také tímto experimentem. Amoniakální dusík může sloužit jako pufrční činidlo, díky své zásadité povaze ve vodném roztoku brání poklesu pH vlivem zvýšené koncentrace mastných kyselin (Wagner et al., 2013; Chen et al., 2008). Oproti výzkumům Borja et al. (1996), kteří uvádějí obsah amoniaku $2 - 3 mg.l^{-1}$, byly v tomto experimentu naměřeny hodnoty $0,4 - 1,7 mg.l^{-1}$. Dlouhodobé průměry koncentrace amoniakálních iontů v bioplynové stanici Krásná Hora nad Vltavou se pohybují na nízkých úrovních a díky použití inokula z této bioplynové stanice je velice pravděpodobné, že výsledky byly ovlivněny právě vlastnostmi inokula.

Hodnocení pH anaerobní digesce je pouze orientačním údajem v hodnocení průběhu anaerobní digesce (Rajeshwari et al., 1999). Spolu s analýzami mastných kyselin a amoniakálním dusíkem je ovšem zajímavým ukazatelem. Na počátku experimentu bylo pH

všech variant zvýšené, díky vlastnostem inokula pocházejícího z bioplynové stanice Krásná Hora nad Vltavou. Zvýšené pH inokula (8,3) nebylo zapříčiněno zvýšenými koncentracemi amonných iontů (viz výše), nýbrž pravděpodobným přesycením fermentoru vstupní biomasou. V prvním týdnu experimentu došlo k poklesu pH vlivem již výše zmíněných mastných kyselin, které nebyly u variant hlíz topinamburu pufrovány vyvíjejícím se amoniakem. S postupným odbouráváním kyselin a vyvíjejícího se amoniaku pH se postupně zvyšovalo až se na konci pokusu ustálilo na hodnotách okolo 7,91. Podobný průběh digesce uvádí i Pastorek a kol. (2004), kteří popisují pohyblivost pH při anaerobní digesci mnohem razantnější až o 1 – 1,5 stupně pH. V našem případě, jak již bylo popsáno, nedochází k tak razantním pohybům hladiny pH, pravděpodobně díky malému zastoupení substrátu v experimentální lahvičce a vysokému stupni naředění vodou.

Celkový průběh anaerobní digesce všech vzorků probíhal bez větších extrémních výkyvů v pH, produkci kyselin, chemické spotřeby kyslíku a produkci amoniaku. Produkce bioplynu byla vyrovnaná, a to až na některé vzorky hlíz topinamburu. To mohlo být způsobeno obtížným a rozdílným zpracováním vzorků rostlin a jejich nevyrovnanou homogenizací. Kontaminace zeminou (Keys a Nottingham, 2008), která mohla působit na nevyrovnanost produkce byla eliminována omytím hlíz již před založením experimentu.

5 Závěr

Před vypracováním diplomové práce byly zvoleny následující hypotézy:

1) Předpokládáme, že hlízy a nadzemní biomasa slunečnice topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) produkují stejné nebo podobné množství bioplynu jako konvenčně pěstovaná kukuřice na siláž.

2) Předpokládáme, že celkové množství methanu produkované hlízami a nadzemní biomasou slunečnice topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) je stejné nebo vyšší jako konvenčně pěstovaná kukuřice.

Ad 1) Existují statisticky významné rozdíly mezi nadzemní biomasou topinamburu a kukuřice, kdy kukuřice produkuje více bioplynu než nadzemní biomasa topinamburu. Z tohoto hlediska lze hypotézu zamítnout. Při porovnání produkce bioplynu hlíz topinamburu a kukuřice neexistují statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými variantami. Z tohoto hlediska hypotézu nelze zamítnout.

Ad 2) Existují statisticky významné rozdíly mezi nadzemní biomasou topinamburu a kukuřice, kdy kukuřice produkuje více methanu než nadzemní biomasa topinamburu. Z tohoto hlediska lze hypotézu zamítnout. Při porovnání produkce methanu hlíz topinamburu a kukuřice existují statisticky významné rozdíly, kdy hlízy topinamburu produkují více methanu než kukuřice. Z tohoto hlediska lze hypotézu zamítnout.

Varianta mražených hlíz topinamburu dosahovala nejvyšší produkce bioplynu ($748,2 \pm 18,4 \text{ ml.g}^{-1}$ sušiny) i methanu ($507,9 \pm 12,5 \text{ ml.g}^{-1}$ sušiny). Což je v porovnání s variantou kukuřice ($640,4 \pm 13,8 \text{ ml bioplynu.g}^{-1}$ sušiny; $389,9 \pm 8,4 \text{ ml CH}_4.\text{g}^{-1}$ sušiny) více, a to přibližně o 14 % více bioplynu a o 23 % více methanu. Při bližším prozkoumání byly nalezeny statisticky významné rozdíly, a to ve prospěch mražených hlíz topinamburu. Hlízy dosahovaly celkově srovnatelných výtěžků bioplynu a methanu s kukuřicí v plné zralosti. U nadzemní biomasy topinamburu nebyly pozorovány výtěžky bioplynu ani methanu srovnatelné s kukuřicí v plné zralosti. Nejvíce produktivní se jevila varianta sušené nadzemní biomasy topinamburu ($445,2 \pm 13,9 \text{ ml bioplynu.g}^{-1}$ sušiny a $288,4 \pm 9,0 \text{ ml CH}_4.\text{g}^{-1}$ sušiny), ta produkovala o 30 % méně bioplynu a o 25 % méně methanu než kukuřice v plné zralosti.

Při porovnání výtěžnosti methanu, který je hlavní složkou bioplynu, z jednotky plochy, bylo zjištěno, že nadzemní biomasa topinamburu je schopná poskytovat srovnatelné a lepší

výtěžky než kukuřice, pouze pokud je použita předúprava. Celková biomasa topinamburu v poměru hlíz a nadzemní biomasy 1:1 poskytovala nejlepší výtěžky methanu z jednotky pěstební plochy. Tento poměr ale není v podmínkách praxe dosažitelný, a lze očekávat pouze mírné navýšení produkce methanu. Pro produkci methanu se nezdá být celková biomasa topinamburu přijatelná, vzhledem k nutnosti čištění hlíz a homogenizaci celkové biomasy, spojené s vysokou pracností a nákladovostí produkce.

Produkce bioplynu dle použité předúpravy nebyla v případě nadzemních částí přesvědčivá. Pouze sušení dosáhlo významnějších rozdílů v produkci bioplynu. Předúprava hlíz mražením se jeví jako nejvíce produktivní, zatímco sušení nemělo na výtěžnost methanu ani bioplynu hlíz vliv ve srovnání s čerstvou biomasou hlíz.

Z uvedených skutečností vyplývá, že nadzemní biomasa topinamburu je pouze další alternativou k současně rozšířené kukuřici. Na druhou stranu hlízy topinamburu dosahují vyšších výtěžků bioplynu a methanu než kukuřice.

Cíleně pěstovaná energetická biomasa, je velice kontroverzním tématem, a existuje celá řada dalších vedlejších produktů zemědělské výroby, ale i dalších komunálních odpadů, jejichž energetický potenciál stále zůstává z části nevyužit. Při využívání malých fermentačních zařízení, by tak mohli zemědělci získávat organominerální hnojivo a pokrývat část energetické spotřeby podniku. K těmto účelům by byla vhodná nadzemní biomasa topinamburu, jakožto vedlejší produkt z produkce hlíz, vzhledem k nenáročnosti na podmínky pěstování a možnosti využívání jako jednoleté či víceleté plodiny v osevním postupu. To by bylo vhodné, vzhledem k plánům Evropské unie ke zvýšení podílu obnovitelných zdrojů energie, implementovat i na naše zemědělství.

Jak již bylo uvedeno, slunečnice topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) je vhodnou plodinou i do ekologického zemědělství, kde poskytuje hlízy vhodné k výživě lidí i zvířat a nadzemní biomasu vhodnou buď jako krmivo, stelivo nebo k dalšímu využití. Nezavrhováním využívání biomasy na energetické účely, která nebude přímo pěstovaná pro tyto účely, ale bude mít určitou přidanou hodnotu a další důvody k pěstování, můžeme i v ekologickém zemědělství dosáhnout snížení produkce skleníkových plynů a neporušit tak hlavní premisu ekologického zemědělství, tedy uzavřený koloběh živin.

6 Seznam použitých zdrojů

- Abbasi, T., Tauseef, S.M., Abbasi, S.A. 2012. *Biogas Energy*. Springer. New York. p. 184. ISBN: 9781461410393.
- 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. Southampton. p. 1045-1055. ISBN: 9781845648169.
- 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.
- Amaducci, S., Scordia, D., Liu, F.H., Zhang, Q., Guo, H., Testa, G., Cosentino, S.L. 2014. Key cultivation techniques for hemp in Europe and China. *Industrial Crops and Products*. (In Press).
- 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 (4). 173-182.
- Angelidaki, I., Ahring, B.K. 1992. Effects of free long-chain fatty acids on thermophilic anaerobic digestion. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 37. 808-812.
- Babička, L., Kouřimská, L. 2007. Bioplynová stanice jako součást ekologické farmy. In: *Sborník z konference Ekologické zemědělství 2007*. 6. - 7.2.2007. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. 195-199. ISBN:9788021316119.
- Barnes, J., Anderson, L.A., Phillipson, J.D. 2007. *Herbal Medicines*. 3rd ed. Pharmaceutical Press. London. p. 721. ISBN: 9780853696230.
- Bárta, J., Diviš, J. 2008. Topinambur. In: Prugar, J. (ed.). *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*. 1. vyd. Praha. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský. 327 s. ISBN 9788086576282.
- Begon, M., Harper, J.L., Townsend, C.R. 1997. *Ekologie - jedinci, populace a společenstva*. Vydavatelství Univerzity Palackého. Olomouc. 981 s. ISBN: 8070676957.
- Beta, T., Isaak, C. 2016. Grain Production and Consumption: Overview. In: Wrigley, C., Corke, H., Seetharaman, K., Faubion, J. *Encyclopedia of Food Grains*. 2nd ed. Elsevier. Oxford. p. 349-359. ISBN: 9780128035375.

- Borja, R., Sánchez, E., Weiland, P. 1995. Influence of Ammonia Concentration on Thermophilic Anaerobic Digestion of Cattle Manure in Uplflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Reactors. *Process Biochemistry*. 51 (5). 477 - 483.
- Bracmort, K. 2015. Biomass: Comparison of Definitions in Legislation. Congressional Research Service. 5-16.
- Braun, R., Weiland, P., Wellinger, A. 2008. Biogas from energy crop digestion. IEA bioenergy task. 37. 1-20.
- Clark, M.S., Horwath, W.R., Shennan, C., Scow, K.M. 1998. Changes in Soil Chemical Properties Resulting from Organic and Low-Input Farming Practices. *Agronomy Journal*. 90 (5). 662-672.
- Collins, H.P., Paul, E.A., Paustian, K., Elliot, E.T. 1997. Characterization of soil organic carbon relative to its stability and turnover. *Soil Science Society of America Journal*. 35. 157 - 168.
- Cornelissen, S., Koper, M., Deng, Y.Y. 2012. The Role of bioenergy in a fully sustainable global energy system. *Biomass Bioenergy*. 41. 21 - 33.
- CzBA. Česká bioplynová asociace - statistiky výroby bioplynu [online]. 31. prosince 2015. [cit. 2016-12-06]. Dostupné z <<http://www.czba.cz/statistiky-vyroby-bioplynu.html>>
- Čáter, M., Zorec, M., Marinšek, Logar, M.R. 2014. Methods of Improving Anaerobic Lignocellulic Substrates Degradation for Enhanced Biogas Production. *Springer Science Reviews*. 51 (2). 51-61.
- 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: 9788021440272.
- Český Statistický Úřad. Definitivní údaje o sklizni zemědělských plodin – 2015 [online] 11. Února 2016. [cit. 2017-01-28]. Dostupné z <<https://www.czso.cz/documents/10180/36740496/2701411602.pdf/0017f774-d2f7-4cc5-824f-a1375eb21591?version=1.0>>.
- Došek, M., Holba, M., Černý, M. 2015. Technologie vs. fermentační zbytek. Mendelova Univerzita v Brně. Z odpadů surovinami. Brno. 33. 1-12.

- Drosg, B., Braun, R., Bochmann, G., Al Seadi, T. 2013. Analysis and characterisation of biogas feedstocks. In: Wellinger A., Murphy, J., Baxter D. (eds.) *The biogas handbook - Science, production and applications*. Elsevier. Oxford. p. 52-84. ISBN: 9780857094988.
- Einfalt, D., Kazda, M. 2015. Characterisation of biogas plants on organic farms and potentials for improvement. In: *Organic Agriculture*. Springer. New York. ISBN: 1316501501333.
- Forster-Carneiro, T., Isaac, R., Pérez, M., Shcvtarz, C. 2012. Anaerobic Digestion: Pretreatment of Substrates. In: Mudhoo, A. (ed.) *Biogas Production*. John Wiley & Sons, Inc. USA. ISBN: 9781118062852.
- Fröschle, B., Heiermann, M., Lebuhn, M., Messenhäser, U., Plöchl, M. 2015. Hygiene and Sanitation in Biogas Plants. In: Geubitz, G.M., Bauer, A., Bochmann, G., Gronauer, A., Weiss, S. (eds.) *Biogas Science and Technology*. Springer. New York. p. 63-99. ISBN: 978331919929.
- 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: 9789535106005.
- Gerardi, M. 2003. *The microbiology of anaerobic digesters*. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey. p. 180. ISBN: 0471206938.
- 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.
- Haraldsen, T.K., Andersen, U., Krogstad, T., Sorheim, R. 2010. Liquid digestate from anaerobic treatment of source separated household waste as fertilizer for barley. In: *Proceedings of the 7th International ORBIT 2010 Conference*. Crete. p. 564-569. ISBN: 9789606865282.
- Heldt, H., Piechulla, B. 2011. *Plant Biochemistry*. 4th ed. Elsevier. Philadelphia. p. 647. ISBN: 9780123849861.
- Hermuth, J., Janovká, D., Stražil, Z., Ust'ak, S., Hýsek, J. 2012. Čirok obecný - *Sorghum bicolor* (L.) MOENCH, možnosti využití v podmínkách České republiky - Metodika pro praxi. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha. 52 s. ISBN 9788074270932.
- Herout, M. Malat'ák, J., Kučera, L., Dlabaja, T. 2011. Biogas composition depending on the type of plant biomass used. *Resources in Agriculture Engineering*. 57 (4). 137-143.

Hnutí Duha. Adresář Farmářů [online]. cit. [2016-12-03] Dostupné z <<http://www.adresarfarmaru.cz/>>

Holland, K.T., Knapp, J.S., Shoemith, J.G. 1987. Anaerobic Bacteria. Blackie & Son Limited. London. p. 214. ISBN: 9781461289951.

Horáková, M., Kollerová, L., Schejbal, P., Strnadová, N., Janda, V., Koller, J., Sýkora, V., Koubíková, J., Palatý, J. 2003. Analytika vody. VŠCHT. Praha. 334 s. ISBN 80-7080-520-6.

Chen, Y., Hu, W., Chen, P., Ruan, R. 2017. Household biogas CDM project development in rural China. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 67. 184-191.

Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S. 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. Bioresource Technology. 99. 4044-4064.

Izdebski, W. 2009. Jerusalem artichoke - Potential and possibilities of use in power industry. TEKA Commission of Motorization and Energetics in Agriculture. 9. 93-98.

Jasko, J., Skripsts, E., Dubrovskis, V. 2012. Novel substrates for biogas production: Paxillis involutus and Phaseolus schweinitzii mushroom biomass. International Conference of Agricultural Engineering. July 8-12. Valencia. Spain.

Jevič, P., Hutla, P., Šedivá, Z. Možnosti energetického využití kompostů a separátů z anaerobního zpracování biomasy [online]. 1. ledna 2014. VÚZT, v.v.i. Praha. 66 s. [cit. 2016-10-24]. Dostupné z <www.vuzt.cz/svt/vuzt/publ/P2014/081.pdf>.

Kába, B. Svatošová, L. 2012. Statistické nástroje ekonomického výzkumu. Vydavatelství a nakladatelství Aleš Čeněk s.r.o. Plzeň. s. 176. 9788073803599

Kaffka, S., Bryant, D., Denison, F. Comparisons of organic and conventional maize and tomato cropping systems from a long-term experiment in California [online]. Department of Plant Sciences. University of California. California. 1. ledna 2005. [cit. 2017-02-24]. Dostupné z <<http://orgprints.org/4384/>>.

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: 9788086884400.

Karafiát, Z., Vítěz, T. Biogas Transformation of Liquid Substrates [online]. Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno. 1. ledna 2009. [cit. 2016-10-24]. Dostupné z: <https://mnet.mendelu.cz/mendelnet09agro/files/articles/tech_karafiát.pdf>.

Kays, S.J., Nottingham, S.F. 2008. Biology and Chemistry of Jerusalem artichoke: *Helianthus tuberosus* L. Taylor & Francis group, LLC. Boca Baton. p. 498. ISBN: 9781420044959.

Kelly, D.P. 2015. Microbial Inorganic Sulfur Oxidation: The APS Pathway. In: Ljungdahl, L.G., Adams, M.W., Barton, L.L., Ferry, J.G., Johnson, M.K. Biochemistry and Physiology of Anaerobic Bacteria. Springer. New York. p. 205-220. ISBN: 387955925.

Kerlachoffs, H., Renquist, R. 2013. Biofuel from Plant Biomass. Agronomical Sustainable Development. 33. 1-19.

Khanal, S.K., Surampalli, R.Y., Zhans, T.C., Lansal, B.P., Tyagi, R.D., Kao, C.M. (eds.). 2010. Bioenergy and Biofuel from Biowastes and Biomass. American society of Civil Engineers. Reston. p. 522. ISBN:9780784410899.

Kögel-Knabner, I. 2002. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. Soil Biology & Biochemistry. 34. 139-162.

Koller, J. 2010. Treatment of Biogas for Use as Energy. Acta Polytechnica. 50 (2). 2010.

Koloničný, J., Hase, V. 2011. Využití rostlinné biomasy v energetice - 1. vyd. Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava. Ostrava. 150 s. ISBN 9788024825410.

Korres, N.E., O'Kiely, P., Benzie J.A.H., West, J.S. 2013. Bioenergy Production by Anaerobic Digestion. Routledge. New York. p. 473. ISBN: 9780415698405.

Kowalczyk-Juśko, A., Józwiakovski, K., Gizińska, M., Zarajczyk, J. 2012. Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) as renewable energy raw material. TEKA Commission of Motorization and Energetics in Agriculture. 12 (2). 177-121.

Kratzeisen, M., Starcevic, N., Martinov, M., Maurer, C., Müller, J. 2010. Applicability of biogas digestate as solid fuel. Fuel. 89. 2544-2548.

Kreuger, E., Nges, I. A., Björnsen, L. 2011a. Ensiling of crops for biogas production: effect on methane yield and total solids determination. Biotechnology and Biofuels. 44 (4). 900-915.

- Kreuger, E., Prade, T., Escobar, F., Svensson, S., Englund, J.-E., Björnsson, L. 2011b. Anaerobic digestion of industrial hemp – Effect of harvest time on methane energy yield per hectare. *Biomass and Bioenergy*. 35 (2). 893-900.
- Kryvoruchko, V., Machmüller, A., Bodiroza, V., Amon, B., Amon, T. 2009. Anaerobic digestion of by-products of sugar beets and starch potato processing. *Biomass and Bioenergy*. 33. 620-627.
- Lehtomäki, A. 2006. *Biogas Production from Energy Crops and Crop Residues*. Jyväskylä University Printing House. Jyväskylä. p. 91. ISBN: 9513925595.
- Long, X., Shao, H., Liu, L., Liu, L., Liu, Z. 2016. Jerusalem artichoke: a sustainable biomass feedstock for biorafinery. *Renewable and Sustainable Energy reviews*. 54. 1382-1388.
- Makádi, M., Tomócsik, A., Orosz, V. 2012. Digestate: A new Nutrient Source - Review. In: Kumar, S. (ed.). *Biogas*. InTech Europe. Rijeka. ISBN: 9789535102045.
- Martinát, S., Navrátil, J., Dvořák, P., Van der Horst, D., Klusáček, P., Kunc, J., Frantál, B. 2016. Where AD plants wildly grow: The spatio-temporal diffusion of agricultural biogas production in the Czech Republic. *Renewable Energy* 95. 85-97.
- Mast, B., Lemmer, A., Oechsner, H., Reinhardt-Hanisch, A., Claupein, W., Graeff-Hönniger, S. 2014. Methane yield potential of novel perennial biogas crops influenced by harvest date. *Industrial Crops and Products*. 58. 194-203.
- McKendry, P. 2002. Energy production from biomass (part 1): overview of biomass. *Bioresource Technology*. 83. 37-46.
- 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 CO₂ in greenhouses. *Bioenergy Resources*. 6 (2). 620-630.
- Míchal, P., Švehla, P., Plachý, V., Tlustoš, P. 2016. Anaerobic digestion of grass: the effect of temperature applied during the storage of substrate on the methane production. *Environmental Technology*. (In Press).
- Ministerstvo Zemědělství České republiky. 2015a. *Právní předpisy pro ekologické zemědělství a produkci biopotravin*. Praha. ISBN: 9788074342400.

- Ministerstvo Zemědělství České republiky. 2015b. Ročenka 2014 - Ekologické zemědělství v České republice. Praha. ISBN: 9788074342509.
- Ministerstvo Zemědělství České republiky. 2016. Zemědělství 2015. Praha. ISBN: 788074342929.
- Möller, K., Müller, T. 2012. Effects of anaerobic digestion on digestate nutrient availability and crop growth: A review. *Engineering in Life Sciences*. 12 (3). 242-257.
- Murphy, S., Gaffney, M.T., Fanning, S., Burgess, C.M. 2016. Potential for transfer of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Senftenberg from contaminated food waste derived compost and anaerobic digestate liquid to lettuce plants. *Food Microbiology*. 59. 7-13.
- Nada, A. A. M. A., Abou-Youssef, H., El-Gohary, S. E. M. 2003. Phenol formaldehyde resin modification with lignin. *Polymer - Plastics Technology and Engineering*. 42 (4). 689 – 699.
- Nandwani, D., Nwosisi, S. 2016. Global Trends in Organic Agriculture. In: Nandwani, D. (ed.). *Organic Farming for Sustainable Agriculture*. Springer. New York. p. 353. ISBN: 9783319268019.
- Novák, J., Skalický, M. 2012. *Botanika: cytologie, histologie, organologie a systematika*. Ed. 3 Powerprint. Praha. 336 s. ISBN 9788087415533.
- Oleskovicz-Popiel, P., Kadár, Z., Heiske, S., Klein-Marcuschamer, D., Simmons, B.A., Blanch, H.W., Schmidt, J.E. 2012. Co-production of ethanol, biogas, protein fodder and natural fertilizer in organic farming - Evaluation of a concept for a farm-scale biorefinery. *Bioresource Technology*. 104. 440-446.
- Oslaj, M., Mursec, B., Vindis, P. 2010. Biogas production from maize hybrids. *Biomass and Bioenergy*. 34. 1538-1545.
- Pastorek, Z., Kára, J., Jevič, P. 2004. *Biomasa: obnovitelný zdroj energie*. FCC Public. Praha. 288 s. ISBN: 8086534065.
- Pilipavičius, V., Mikulionienė, S. 2010. Effects of maize maturity stage and concentration of dry matter on maize silage fodder value. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. 8 (2). 691-694.

- 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.
- Putra, R.A., Liu, Z., Lund, M. 2016. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. (In Press).
- Pyšek, P., Sádlo, J., Mandák, B. 2002. Catalogue of alien plants of the Czech Republic. *Preslia*. 74. 97-186.
- Quarles, W. 2009. Giant Knotweed, Plant Disease Protection, and Immortality. *The IPM Practitioner*. 31 (3/4). 1-5.
- 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: 9789513936181.
- Rehman, M. S., Rashid, N., Saif, A., Mahmood, T., Han, J. 2013. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 18. 154-164.
- Riva, C., Orzi, V., Carozzi, M., Acutis, M., Boccasile, G., Lonati, S., Tambone, F., D'Imporzano, Adani, F. 2016. Short-term experiments in using digestate products as substitutes for mineral (N) fertilizer: Agronomic performance, odours, and ammonia emission impacts. *Science of the Total Environment*. 547. 206-214.
- Ruggeri, B., Tommasi, T., Sanfilippo, S. 2015. *BioH₂ & BioCH₄ Through Anaerobic Digestion*. Springer. p. 217. ISBN: 9781447164302.
- Saengthongpinit, W., Sajjaanantakul, T. 2005. Influence of harvest time and storage temperature on characteristics of inulin from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers. *Postharvest Biology and Technology*. 37. 93-100.
- Sepällä, M., Antti, L., Jukka, R. 2013. Screening of novel plants for biogas production on northern conditions. *Bioresource Technology*. 139. 355-362.
- Siegemeier, T., Blumenstein, B., Möller, D. 2015. Farm biogas production in organic agriculture: System implications. *Agricultural systems*. 139. 196-209.

- Šotnár, M., Vířez, T., Koutný, T. 2015. Anaerobic fermentation of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus*). MendelNet. Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno. 534-538.
- Stolze, M., Piorr, A., Häring, A., Dabbert, S. 2000. The Environmental Impacts of Organic Farming in Europe. University of Hohenheim. Germany. p. 143. ISBN: 3933403057.
- 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. 706 s. ISBN: 8073280906.
- Stražil, Z. 2009. Základy pěstování a možnosti využití ozdobnice (*Miscanthus*). Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha. 48 s. ISBN 9788074270062.
- Stražil, Z., Moudrý, J. 2011. Porovnání Chrastice rákosovité (*Phalaris Arundinacea* L.) a ozdobnice (*Miscanthus*) z produkčního hlediska. In: Acta Pruhoniciana. s. 5-11. ISBN: 9788085116793.
- Stronach, S.M., Rudd, T., Lester, J.N. 1986. Anaerobic Digestion Processes in Industrial Wastewater Treatment. Springer. New York. p. 189. ISBN: 9783642712173.
- Szymońska, J., Krok, F., Tomasik, P. 2000. Deep-freezing of potato starch. International Journal of Biological Macromolecules. 27 (4). 307-314.
- Šarapatka, B., Urban, J. 2007. Ekologické zemědělství v Praxi. PRO-BIO. Šumperk. 502 s. ISBN: 9788080358300.
- 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.
- Tambone, F., Scaglia, B., D'Imporzano, G., Schievano, A., Orzi, V., Salati, S., Adani, F. 2010. Assessing amendment and fertilizing properties of digestates from anaerobic digestion through a comparative study with digested sludge and compost. Chemosphere. 81. 577-583.
- Tilman, D., Socolow, R., Foley, J.A., Hill, J., Larson, E., Lynd, L., Pacala, S., Reilly, J., Searchinger, T., Somerville, C., Williams, R. 2009. Beneficial Biofuels - The Food, Energy, and Environment Trilemma. Science. 325. 270-271.

- Tlustoš, P., Kaplan, L., Száková, J., Dubský, M., Roubíková, I., Šrámek, F. 2013. Využití pevné složky digestátu pro přípdavu pěstebních substrátů - certifikovaná metodika. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha. ISBN: 9788021324305.
- Tuomisto, H.L., Hodge, I.D., Riordan, P., Macdonald, D.W. 2012. Does organic farming reduce environmental impacts? - A meta-analysis of European research. *Journal of Environmental Management*. 112. 309-320.
- Vacek, O., Havrland, B., Hutla, P., Ivanová, T. Liu, Z. 2014. Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.), above-ground biomass for solid biofuels in Jiangsu Province (People's republic of China). *Agritech Science*. 14. 1-7.
- Václavík, T. 2008. Ekologické zemědělství a rozvoj venkova. Spolek poradců v ekologickém zemědělství ČR, o.s. Brno. 18 s.
- Vaněk, V., Balík, J., Pavlíková, D., Tlustoš, P. 2007. Výživa polních a zahradních plodin. Praha. ProfiPress, Praha. 167 s. ISBN 9788086726250.
- Vindis, P., Mursec, B., Janezekovic, M., Cus, F. 2009. The impact of mesophilic and thermophilic anaerobic digestion on biogas production. *Journal of Achievments in Materials and Manufacturing Engineering*. 36 (2). 192-198.
- Vogl, C.R., Mölleken, H., Lissek-Wolf, G., Surböck, A., Kobert, J. 2004. Hemp (*Cannabis sativa* L.) as a Resource for Green Cosmetics: Yield of Seed and Fatty Acid Compositions of 20 Varieties Under the Growing Conditions of Organic Farming in Austria. *Journal of Industrial Hemp*. 9 (1). 51-68.
- 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.
- Wang, Q., Kuninonu, M., Ogawa, H.I., Kato, Y. 1999. Degradation of volatile fatty acids in highly efficient anaerobic digestion. *Biomass and Bioenergy*. 16 (6). 407-416.
- Ward, A.J., Hobbs, P.J., Holliman, P.J., Jones, D.L. 2008. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresource Technology*. 99. 7928-7940.
- Weiland, P. 2010. Biogas production: current state and perspectives. *Applied Microbiology Biotechnologies*. 85. 849-860.

- Wentzel, S., Schmidt, R., Piepho, H., Semmler-Busch, U., Joergensen, R.G. 2015. Response of soil fertility indices to long-term application of biogas and raw slurry under organic farming. *Applied Soil Ecology*. 96. 99-107.
- Wyatt, J. 2016. Grain and Plant Morphology of Cereals and how characters can be used to identify varieties. In: Wrigley, C., Corke, H., Seetharaman, K., Faubion, J. *Encyclopedia of Food Grains*. 2nd ed. Elsevier. Oxford. p. 51-73. ISBN: 9780128035375.
- Yang, G., Zhang, P., Zhang, G., Wang, Y., Yang, A. 2015. Degradation properties of protein and carbohydrate during anaerobic digestion. *Bioresource Technology*. 192. 126-130.
- Zeman, L. 2006. *Výživa a krmení hospodářských zvířat*. ProfiPress. Praha. 360 s. ISBN: 8086726177.
- Zhang, Z., Zhang, G., Li, W., Li, C., Xu, G. 2016. Enhanced biogas production from sorghum stem by co-digestion with cow manure. *International Journal of Hydrogen Energy*. 41. 9153-9158.
- Zhao, R., Chen, X., Zhang, F., Hailin, Z. 2006. Fertilization and Nitrogen Balance in a Wheat-Maze Rotation System in North China. *Agronomy Journal*. 98 (4). 938-945.
- Židek, M. 2004. Anaerobní digesce zvolených substrátů na laboratorním fermentoru. In: *Energie z biomasy III*. Energetický Ústav. Brno. s. 43-50. ISBN 8021428058.