

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA AGROBIOLOGIE, POTRAVINOVÝCH
A PŘÍRODNÍCH ZDROJŮ

KATEDRA AGROENVIRONMENTÁLNÍ CHEMIE
A VÝŽIVY ROSTLIN



VÝTĚŽNOST A KVALITA BIOPLYNU PŘI ANAEROBNÍ FERMENTACI TRÁVY

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor práce: Bc. JAN POLÁČEK

Vedoucí práce: prof. Ing. PAVEL TLUSTOŠ, CSc.

Konzultant práce: Ing. FRANTIŠEK JELÍNEK

© 2014 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci na téma **Výtěžnost a kvalita bioplynu při anaerobní fermentaci trávy** 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 8. 4. 2014

Bc. Jan Poláček

Poděkování

Rád bych zde poděkoval prof. Ing. Pavlu Tlustošovi, CSc. za cenné rady, připomínky a odborné vedení diplomové práce. Dále bych chtěl touto cestou poděkovat konzultantovi Ing. Františku Jelínkovi a Ing. Pavlu Míchalovi za jejich pomoc při realizaci experimentu, užitečná doporučení při vyhodnocování naměřených dat a za čas, který mi věnovali. V neposlední řadě tímto děkuji také Ing. Miroslavu Zgažarovi za jeho odborné konzultace, trefné komentáře a velice ochotný přístup.

Diplomová práce byla realizována v rámci projektu SV13-18-21140 s názvem „Stanovení produkce a složení bioplynu pomocí batch testů z dřevní biomasy a z travních společenstev v závislosti na různém způsobu předúpravy“. Výsledek práce vznikl rovněž v rámci řešení projektu CZ.1.05/2.1.00/03.0084 s názvem „Membránové inovační centrum“.

Souhrn

Bioplyn je všeobecně považován za obnovitelný zdroj energie. Ve skutečnosti jsou však tímto obnovitelným zdrojem biologicky rozložitelné organické materiály. Bioplyn je potom výsledným produktem anaerobní fermentace těchto materiálů. Měřítkem pro posouzení kvality produkovaného bioplynu je procentuální zastoupení methanu (CH_4), neboť tento plyn je energeticky nejhodnotnější složkou bioplynu.

V literární rešerši této práce byl charakterizován proces anaerobní fermentace. Na rozkladu organických materiálů se podílí směsná kultura anaerobních mikroorganismů. Vlastní fermentace je ovlivněna mnoha faktory, mezi které patří zejména teplota, hodnota pH, inhibiční látky a biologická rozložitelnost substrátů. Předúprava lignocelulosových materiálů zlepšuje přístupnost obtížně rozložitelných substrátových komponent vlastnímu enzymovému rozkladu, což se pozitivně projevuje na míře výtěžnosti a kvalitě produkovaného bioplynu.

Cílem experimentální části práce bylo posouzení vlivů intenzity pěstování trávníků a vlivů různých teplotních režimů jejich předúpravy na výtěžnost bioplynu a jeho kvalitu. Vzorky intenzivně a extenzivně pěstovaných trávníků byly podrobeny předúpravě při čtyřech různých teplotních režimech ($-18\text{ }^\circ\text{C}$, $+3\text{ }^\circ\text{C}$, $+18\text{ }^\circ\text{C}$, $+35\text{ }^\circ\text{C}$). Anaerobní fermentace travních porostů byla realizována prostřednictvím vsázkových testů po dobu 57 dní. Kultivace probíhala za mezofilních podmínek při teplotě $40\text{ }^\circ\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^\circ\text{C}$). Rovněž byla na počátku a na konci experimentu měřena chemická spotřeba kyslíku a hodnota pH směsi. U travních materiálů byl na počátku pokusu stanoven obsah sušiny a v ní zastoupený podíl organických látek a popelovin. U vybraných travních vzorků bylo analyzováno i jejich chemické složení.

Vzorky intenzivně pěstovaných trávníků byly vždy zdrojem vyšší produkce bioplynu v porovnání se vzorky trávníků extenzivních, bez ohledu na zvolený teplotní režim předúpravy travních materiálů. Intenzivně udržované trávníky zajistily rovněž vyšší výtěžnost methanu, tudíž produkci kvalitnějšího bioplynu. Předúprava vzorků mrazením při teplotě $-18\text{ }^\circ\text{C}$ jako jediná z teplotních režimů předúprav zajistila nárůst produkce bioplynu jak u intenzivních, tak u extenzivních trávníků. Byl zde pozorován pozitivní vliv uvedeného režimu předúpravy, který napomohl účinné desintegraci travních materiálů. Travní vzorky předupravené v režimu mrazení při $-18\text{ }^\circ\text{C}$ byly zároveň zdrojem bioplynu s nejvyšším procentuálním zastoupením methanu.

Klíčová slova: Bioplyn, methan, anaerobní fermentace, vsázkové testy (batch testy), intenzivně/extenzivně pěstovaný trávník, teplotní režim předúpravy.

Summary

Biogas is generally considered as a renewable source of energy. In fact, however, it is biodegradable organic material, that makes this source of energy renewable. Biogas is, then, the final product of anaerobic fermentation of these materials. Because energetically the most valuable component of biogas is methane (CH₄) its relative volume stands as the measure of biogas quality.

The process of anaerobic fermentation was characterized in the first part of this thesis. Organic materials are decomposed by mixed culture of anaerobic microorganisms. The anaerobic fermentation process is influenced by many factors, including in particular, temperature, pH, inhibitive substances and also biodegradability of organic substrates. Enzymatic degradation of difficultly biodegradable components of substrate can be improved by pre-treatment of ligno-cellulosic materials. This process has a positive effect on the rate of yield and quality of biogas.

The goal of the research was to evaluate the effects of growing intensity of grass and the effects of different thermal modes of pretreatment of grass-matter on biogas production and its quality. Samples of intensively and extensively grown grass were pre-treated in four different thermal modes (-18 °C, +3 °C, +18 °C, +35 °C). The anaerobic fermentation of grass-matter was implemented by batch tests for 57 days. The cultivation was carried out under mesophilic conditions at 40 °C (± 1 °C). Chemical oxygen demand (COD) of mixture and its pH were measured at the beginning as well as at the end of experiment. Dry matter content, volatile solids and ash in dry matter of grass materials were measured at the beginning of experiment. Selected grass samples were analyzed for their chemical composition.

The samples of intensively grown grass always yielded more biogas in comparison with samples of extensively grown grass, regardless the pre-treatment of grass material. The grass-matter from intensively maintained lawns also provided a higher relative proportion of methane, i.e. better quality of produced biogas. It is only the freezing mode pre-treatment (at -18 °C), that provided biogas yields increases for grass-matter from both intensively and extensively maintained lawns. Positive effect of this mode of pre-treatment, which caused the effective disintegration of grass materials, was observed. Grass samples pre-treated by freezing at -18 °C were also a source of biogas with the highest relative proportion of CH₄.

Keywords: Biogas, methane, anaerobic fermentation, batch tests, intensively/extensively grown grass, thermal mode of pre-treatment.

Obsah

1. Úvod	8
2. Vědecká hypotéza a cíle práce	9
3. Literární rešerše	10
3.1 Biomasa a bioplyn	10
3.1.1 Vymezení pojmů.....	10
3.1.2 Vlastnosti bioplynu a jeho využití	10
3.1.3 Skládkový plyn	11
3.2 Anaerobní fermentace – úvod.....	12
3.2.1 Hydrolýza.....	13
3.2.2 Acidogeneze.....	13
3.2.3 Acetogeneze.....	14
3.2.4 Methanogeneze	14
3.3 Komplexní pohled na anaerobní fermentaci.....	15
3.3.1 Výpočet produkce bioplynu.....	16
3.4 Faktory ovlivňující průběh anaerobní fermentace	17
3.4.1 Nutrienty	17
3.4.1.1 Specifika rozložitelnosti hlavních substrátových skupin.....	18
3.4.2 Teplota	20
3.4.3 Tlak	21
3.4.4 pH.....	21
3.4.5 Hlavní inhibiční a toxické látky.....	22
3.4.5.1 Amoniak.....	23
3.4.5.2 Nižší mastné kyseliny	24
3.5 Intenzifikace anaerobní fermentace	25
3.5.1 Metody intenzifikace	25
3.5.1.1 Mechanické metody	26

3.5.1.2 Fyzikální metody	26
3.5.1.2.1 Termotlaká hydrolýza	27
3.5.1.3 Chemické metody	28
3.5.1.4 Biotechnologické metody	28
3.5.1.4.1 Buněčný lyzát	28
3.5.1.4.2 Enzymatická hydrolýza.....	29
3.6 Trávy jako energetická surovina	29
3.6.1 Trvalé travní porosty	29
3.6.2 Využití travní biomasy pro výrobu bioplynu.....	31
3.6.2.1 Silážování a sušení travní biomasy	33
3.7 Technologie výroby bioplynu	34
3.7.1 Zemědělské, komunální a průmyslové bioplynové stanice	34
3.7.2 Technologické varianty BPS dle obsahu sušiny v substrátu.....	35
3.7.2.1 Mokrý fermentace	35
3.7.2.2 Suchá fermentace	38
3.7.2.3 Výhody a nevýhody mokré i suché fermentace	40
3.7.3 Další výstupy z BPS	42
3.7.4 Aktuální situace a budoucí vývoj BPS	42
4. Experimentální část	44
4.1 Materiál a metodika	44
4.1.1 Charakteristika vstupního materiálu	44
4.1.1.1 Intenzivně pěstovaný trávník	44
4.1.1.2 Extenzivně pěstovaný trávník	45
4.1.2 Předúprava vstupního materiálu	46
4.1.3 Založení experimentu	47
4.1.4 Měření produkce bioplynu	48
4.1.4.1 Postup měření produkce bioplynu	50
4.1.5 Analýza kvality bioplynu (obsah CH ₄).....	50

4.1.5.1 Postup analýzy kvality bioplynu	51
4.1.6 Procentuální úbytek travních substrátů	51
4.1.7 Stanovení obsahu sušiny	53
4.1.8 Stanovení obsahu organických látek a popelovin v sušině	54
4.1.9 Chemická spotřeba kyslíku	54
4.1.10 Stanovení hodnoty pH	56
4.1.11 Analýza chemického složení travních substrátů	56
4.1.12 Statistická analýza dat	58
4.1.12.1 Popisné charakteristiky	58
4.1.12.2 Analýza rozptylu (ANOVA)	59
4.2 Výsledky	60
4.2.1 Chemické složení travních materiálů	60
4.2.2 Analýza produkce a kvality bioplynu	61
4.2.2.1 Popisné charakteristiky celkové produkce	61
4.2.2.2 Analýza rozptylu celkové produkce	63
4.2.2.3 Vliv faktorů předúpravy a pěstování trávníků na výtěžnost bioplynu	65
4.2.2.4 Závislost celkové produkce na úbytku substrátu	67
4.2.2.5 Odbourávání organických látek	68
4.2.2.6 Kumulativní produkce a analýza kvality bioplynu	69
4.2.2.7 Kumulativní produkce methanu	71
4.2.2.8 Měrná produkce methanu	72
4.2.3 $CHSK_{Cr}$	73
4.2.4 Hodnota pH	74
5. Diskuse	75
6. Závěr	89
7. Seznam literatury	92
8. Seznam použitých zkratk a symbolů	100
9. Samostatné přílohy	101

1. Úvod

Bioplyn představuje energetický zdroj s vysoce pozitivními přínosy pro ochranu životního prostředí. Přesto zatím není schopen vytlačit fosilní paliva z jejich dominantního postavení na trhu s energiemi a nejspíše bude vždy považován za doplňkový zdroj v energetickém mixu, a to jak v národním, tak i celosvětovém měřítku. Na rozdíl od fosilních paliv má však bioplyn velice dobrou budoucí perspektivu, a to především v decentralizovaných energetických systémech (Benda a kol., 2012; Krátký, 2010; Straka a kol., 2006;).

Podle České bioplynové asociace (CZBA) bylo v České republice k 1. 1. 2014 instalováno na 500 bioplynových zařízení. Tento počet zahrnuje jednak bioplynové stanice (BPS) zemědělské, komunální, průmyslové, ale i bioplynové stanice na skládkách odpadů a v rámci čistíren odpadních vod. Více než 300 z výše jmenovaných typů zařízení představují bioplynové stanice čistě zemědělské, které zpracovávají zejména cíleně pěstované plodiny (např. kukuřice). Otázka energeticky využitelné biomasy, která je záměrně získávána na zemědělské či lesní půdě, je však předmětem současných diskusí, neboť má mnoho pozitiv i negativ.

Množství biologicky rozložitelných komunálních odpadů (BRKO), které mohou rovněž podléhat anaerobní fermentaci za současné produkce bioplynu, neustále roste. Jejich obrovský energetický potenciál však zatím není ve větší míře využíván a naprostá většina těchto BRKO je, nejen v České republice, stále skládkována. Hlavním problémem komunálních bioplynových stanic, které zpracovávají biologicky rozložitelné odpady, je ekonomika jejich provozu. Komunální bioplynové stanice jsou technologicky náročnější než BPS čistě zemědělské. S touto skutečností jsou samozřejmě spojené vyšší pořizovací náklady. Dalším problémem je nestabilita, nespolehlivost a nízká efektivita procesu anaerobní fermentace BRKO. Rovněž nejsou dořešeny způsoby konzervace zpracovávaných materiálů, neboť dlouhodobější uskladnění neupravených biologicky rozložitelných odpadních surovin je příčinou nežádoucích samovolných procesů rozkladu materiálu a tím klesá energetický potenciál. Jednou z možností pro zvýšení konkurenceschopnosti komunálních BPS by mohla být intenzifikace procesu anaerobní fermentace biologicky rozložitelných odpadů, která následně zajistí vyšší výtěžnost i kvalitu produkovaného bioplynu.

2. Vědecká hypotéza a cíle práce

Před vypracováním této diplomové práce byly stanoveny následující hypotézy:

- 1. Odlišně pěstované travní porosty budou poskytovat rozdílné kvantitativní i kvalitativní výstupy produkovaného bioplynu.**
- 2. Různorodost výsledků bude záviset nejen na způsobu pěstování travníků, ale i na primárním režimu teplotní předúpravy (uskladnění) travních vzorků, které budou podrobeny anaerobní fermentaci.**

Jedním z cílů práce bude zpracování literární rešerše na téma anaerobní fermentace, produkce bioplynu a jeho složení. V rámci předložené práce budou představeny různé metody předúpravy, které mají vliv na intenzifikaci anaerobní fermentace a následnou produkci bioplynu. V neposlední řadě budou popsány aspekty možného využití travní biomasy pro výrobu bioplynu a zahrnuta bude i kapitola popisující principy dostupných technologií bioplynových stanic.

Experimentální část této diplomové práce bude založena na měření množství a kvality bioplynu produkovaného při anaerobní fermentaci travních porostů. „Mokrý“ anaerobní fermentace bude realizována prostřednictvím vsázkových testů (tzv. batch testů) v plynotěsných lahvíčkách. Výsledky měření budou statisticky vyhodnoceny a hlavním cílem experimentální části práce bude posouzení vlivů intenzity pěstování travníků a vlivů různých teplotních režimů jejich předúpravy na výtěžnost bioplynu a jeho kvalitu.

3. Literární rešerše

3.1 Biomasa a bioplyn

Bioplyn je všeobecně považován za obnovitelný zdroj energie. Ve skutečnosti je tím základním obnovitelným zdrojem biomasa a bioplyn je v podstatě výsledným produktem jednoho ze způsobů využití této biomasy (Benda a kol., 2012).

Podle Bechníka (2009) je biomasa obecněji definována jako veškerá organická hmota na Zemi, která se účastní koloběhu živin v biosféře. Jedná se o těla všech živých i mrtvých organismů, od největších druhů až po mikroskopické – tj. živočichů, rostlin, hub, bakterií a sinic.

Z energetického hlediska je však významná pouze energeticky využitelná biomasa (energetická biomasa, někdy zkráceně pouze biomasa). Tuto biomasu je možné považovat za akumulované sluneční záření. Energetickou biomasu lze rozčlenit do několika kategorií, které se však mohou částečně překrývat. Pro účely výroby bioplynu se jedná zejména o cíleně pěstovanou fytomasu (např. kukuřice) a odpadní biomasu. Odpadní biomasa může pocházet jak z rostlinné (sláma, plevy,...), tak i živočišné (hnůj, kejda,...) výroby. Do odpadní biomasy se řadí rovněž biologicky rozložitelné odpady (BRO), které vznikly při lidské činnosti (komunální BRO, průmyslové BRO a splašky z kanalizace) (Bechník, 2009).

3.1.1 Vymezení pojmů

V technické praxi se „bioplyn“ považuje za směs plynů s vysokým obsahem CH_4 a CO_2 , která vzniká anaerobní fermentací vlhkých biologicky rozložitelných organických materiálů v technických zařízeních, zpravidla s řízeným procesem. Pro takový proces se v literatuře vyskytuje kromě názvu anaerobní fermentace také např. označení anaerobní digesce, methanová fermentace, methanové kvašení, vyhnívání, biogasifikace nebo biomethanizace (Benda a kol., 2012). V technologiích čištění odpadních vod se často používá i termín „anaerobní stabilizace kalů“ (Straka a kol., 2006).

3.1.2 Vlastnosti bioplynu a jeho využití

Protože je tvorba methanu rovnovážným procesem, kde spolupracují různé druhy mikroorganismů, neobsahuje vyprodukovaný bioplyn pouze čistý methan. Vždy je směsí s oxidem uhličitým, ale i dalšími plyny. Obsah CH_4 se může pohybovat v širokém rozmezí

50 – 85 %, zbývající podíl do 100 % je téměř výlučně tvořen CO₂. Většinou se však v technické praxi nesetkáme s takto „ideálním“ bioplynem a vedle majoritních plynů methanu a oxidu uhličitého je zde ještě celá škála dalších plynů minoritních, které může bioplyn obsahovat. Jedná se například o zbytky vzdušných plynů (N₂, O₂). Dusík většinou pochází z počáteční fáze zavzdušnění reakčního prostoru. Přítomnost kyslíku zpravidla signalizuje poruchu vzduchotěsnosti zařízení. Další minoritní složkou bioplynu mohou být i neúplně spotřebované produkty acidogeneze (např. H₂) a příměsi z předcházejících, popř. simultánních reakcí organické hmoty (H₂S, N₂O, NH₃, HCN, siloxany, uhlovodíky a jejich deriváty). Větší množství vodní páry může představovat riziko v podobě nežádoucí kondenzace. Stopové množství oxidu uhelnatého signalizuje ložiska s vysokou teplotou a hrozí riziko samovznícení, především na skládkách. Kvalitní bioplyn z bioplynových stanic (BPS) však obsahuje pouze zlomky procenta dusíku, prakticky žádný vodík (méně než desetiny %), ani žádný kyslík (Benda a kol., 2012; Straka a kol., 2006).

Ve velké většině případů se obsahy methanu v reaktorovém bioplynu nalézají v užších mezích, než bylo uvedeno výše, pohybují se mezi 60 – 65 %. Obsahu methanu v bioplynu v úrovni pod 55 % by vždy měl být důvodem k prověření procesu, což může zároveň pomoci včas odhalit i možný technologický problém (Straka a kol., 2006).

Energetická využitelnost bioplynu je dána zejména procentuálním zastoupením methanu. Podíl vodíku, sulfanu a některých dalších energeticky využitelných složek je pouze minimální, a tudíž se v praxi do energetického potenciálu bioplynu vůbec nezapočítávají. V případě absolutně vysušeného bioplynu je výhřevnost rovna spalnému teplu. Výhřevnost bioplynu s 60 % podílem CH₄ se uvádí 21,5 MJ/m³ a výhřevnost čistého CH₄ činí 35,9 MJ/m³ (Benda a kol., 2012).

V motorech kogenerační jednotky je vznikající bioplyn transformován na elektrickou energii a teplo (+ chlazení v případě trigenerace). Dále je také bioplyn možné různými metodami tzv. upgradovat (oddělit z něj nežádoucí složky) a vyseparovaný biomethan pak vtlačet do distribuční sítě zemního plynu. Taktéž může sloužit jako perspektivní biopalivo v podobě CNG (Compressed Natural Gas) pro dopravní prostředky (Poláček a Zgažar, 2013).

3.1.3 Skládkový plyn

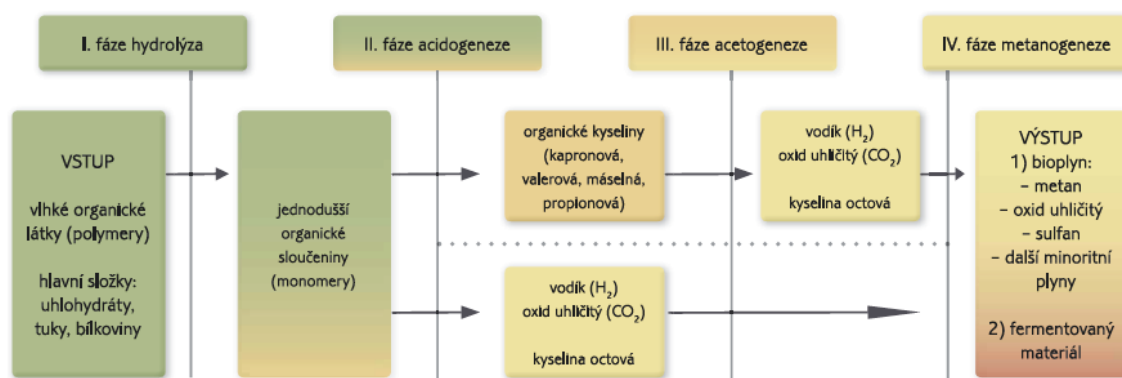
Zvláštní kapitolu mezi bioplyny představují plyny pocházející ze skládek odpadů obsahujících biologicky degradovatelné materiály. I když jde v principu o zcela stejné procesy jako u reaktorové anaerobní fermentace, bývá složení skládkových plynů mnohem proměnlivější a složitě se tedy vymezuje hranice, která rozhoduje o tom, zda se ještě

o bioplyn jedná, či nikoliv. Termín skládkový plyn se někdy používá pro veškeré plyny, které pocházejí z tělesa skládky odpadů bez ohledu na to, zda obsahuje třeba pouze 1 % methanu nebo i 10 % kyslíku. Kvalitní skládkový plyn se však svým složením velice blíží bioplynu, který pochází z reaktorů. Měly by být zastoupeny především nízké obsahy N_2 a velmi nízké až nulové obsahy O_2 při majoritním podílu CH_4 a CO_2 . Pro skládkový plyn se začala používat již dnes rozšířená zkratka LFG (Landfill Gas) a ze skládky se může odčerpávat 30 i více let (Straka a kol., 2006).

3.2 Anaerobní fermentace – úvod

Proces anaerobní fermentace je soubor dějů, při nichž směsná kultura anaerobních mikroorganismů postupně rozkládá bez přístupu vzduchu organické látky (substrát). Produkt jednoho druhu mikroorganismů se stává substrátem pro mikroorganismy navazující, a tak je celý řetězec procesů anaerobní fermentace velice citlivý k sebemenším výkyvům. Soubor procesů musí být v dynamické rovnováze a nepřiměřená změna podmínek může ovlivnit funkci celého systému (Poláček a Zgažar, 2013). Konečným produktem je bioplyn a „stabilizovaná organická hmota“ – digestát, který obsahuje i nově vytvořenou biomasu (Dohányos a kol., 1998; Straka a kol., 2006).

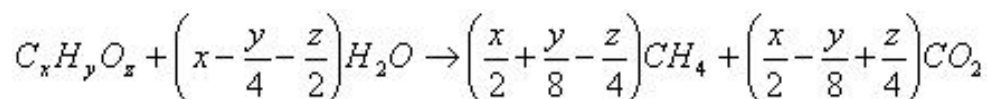
Obr. č. 1 – Anaerobní fermentace (zjednodušené schéma)



(Benda a kol., 2012)

Anaerobní rozklad organických látek striktně vyžaduje koordinovanou metabolickou součinnost různých mikrobiálních skupin. Vlastní proces je tedy možné rozdělit na následující čtyři fáze: hydrolyzu, acidogenezi, acetogenezi a methanogenezi (Straka a kol., 2006).

Obecně známá rovnice vzniku methanu podle Buswella ve zjednodušené podobě je následující:



(Buswell and Symons, 1933)

3.2.1 Hydrolýza

První fází anaerobní fermentace je hydrolýza. Jedná se o rozklad makromolekulárních rozpuštěných a nerozpuštěných organických látek (polysacharidů, lipidů a proteinů) na nízkomolekulární látky rozpustné ve vodě. Hydrolýza polysacharidů poskytuje disacharidy (např. sacharosa, laktosa, maltosa, celobiosa) a jednoduché monosacharidy (např. glukosa, fruktosa). Mezi enzymy, které se podílejí na štěpení polysacharidů, patří např. celulasa, amylasa a další. Primárním štěpením triglyceridů pomocí enzymu lipasy vznikají vyšší mastné kyseliny a glycerol, zatímco proteiny se hydrolyzují za působení proteas na peptidy a aminokyseliny. Celý proces první fáze anaerobní fermentace zajišťují obecně tzv. extracelulární hydrolytické enzymy (hydrolasy) (Straka a kol., 2006).

Nízkomolekulární látky vznikající při hydrolýze jsou na rozdíl od vysokomolekulárních schopny transportu do těl bakteriálních mikroorganismů (Brandejsová a Příbyla, 2009).

V této fázi ještě může být přítomen vzdušný kyslík, který je postupně spotřebováván aktivitou aerobních bakterií. Hydrolytické mikroorganismy nevyžadují striktně bezkyslíkaté prostředí, důležitým faktorem pro jejich činnost je však obsah vlhkosti vyšší než 50 % (Benda a kol., 2012).

3.2.2 Acidogeneze

Acidogeneze je následující rozklad produktů hydrolýzy na jednodušší organické látky uvnitř acidogenních bakterií. Tvoří se celá řada redukovaných produktů, které jsou závislé na charakteru původního substrátu a podmínkách prostředí. Při nízkém parciálním tlaku vodíku jsou produkovány zejména kyselina octová, oxid uhličitý a vodík, při zvýšeném parciálním tlaku potom nižší nasycené mastné kyseliny (kys. kapronová, valerová, máselná, propionová) a vyšší alkoholy (Dohányos, 2008; Ust'ak a Váňa, 2005).

Fakultativní anaerobní mikroorganismy, představované početnými hydrolytickými a acidogenními mikroorganismy, jsou tedy schopné činnosti v přítomnosti i nepřítomnosti

kyslíku. Poměrně rychle však vytvoří plně anaerobní prostředí, v němž se pak mohou rozvíjet methanogeny.

Hydrolyzu a acidogenezi tedy zajišťují velmi pestré a početné kultury, které přísluší k čeledím *Streptococcaceae* a *Enterobacteriaceae* a k rodům *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium* a dalším (Straka a kol., 2006).

3.2.3 Acetogeneze

Vedle CO₂, H₂ a kyseliny octové vznikají v průběhu acidogeneze i substráty, které nemohou být methanogenními bakteriemi přímo převedeny na methan. Jedná se zejména o nižší nasycené mastné kyseliny, které se právě v průběhu acetogeneze transformují pomocí acetogenních bakterií na methanogenní substráty (Al Seadi et al., 2008).

Syntrofní acetogenní mikroorganismy jsou vrcholně důležité pro anaerobní rozklady. Poskytují krok za krokem kratší alifatické kyseliny, produkují kyselinu octovou a také směs H₂ a CO₂ (Straka a kol., 2006). Na druhou stranu vysoký obsah vznikajícího H₂ brzdí tvorbu kyseliny octové. Existuje zde ale symbióza mezi methanogenními bakteriemi a syntrofními mikroorganismy. Hydrogenotrofní methanogenní bakterie využívají vznikající H₂ jako substrát pro tvorbu methanu a napomáhají tím funkční rovnováze fermentačního procesu (Ušťak a Váňa, 2005).

Mezi důležité syntrofní acetogeny patří *Syntrophobacter wollii*, který rozkládá kyselinu propionovou na kyselinu octovou, vodík a oxid uhličitý (Archer et al., 1988).

Skupina homoacetogenních mikroorganismů (*Clostridium thermoaceticum*, *Butyribacterium methylotrophicum*) tvoří taktéž kyselinu octovou, ale bez doprovodné tvorby vodíku. Do fáze acetogeneze dále patří tvorba kyseliny octové a H₂ denitrifikačními a sulfátredukcujícími bakteriemi, které spotřebovávají i anorganické anionty dusičnanové (NO₃⁻) a síranové (SO₄²⁻) a jejich produktem je pak také dusík a sulfan (Straka a kol., 2006).

Důsledkem působení acidogenních a acetogenních mikroorganismů je postupný pokles pH prostředí do kyselé oblasti (4 – 5,8).

3.2.4 Methanogeneze

Vlastní methanogeneze je pak tvorba methanu z kyseliny octové pomocí acetotrofních methanogenních bakterií a tvorba methanu z CO₂ a H₂ hydrogenotrofními methanogenními bakteriemi (Straka a kol., 2006). Podle Dohányose (2008) jsou zdrojem methanu i další látky

jako je methanol, kyselina mravenčí nebo např. methylaminy. V průběhu této fáze tedy pH opět roste k neutrální hodnotě.

Působením acetotrofních methanogenních bakterií dochází ke vzniku cca 70 % methanu z celkového zastoupení v bioplynu a zároveň se podílí na regulaci pH celého procesu, neboť rozkládají kyselinu octovou (Ušťak a Váňa, 2005).

Ve stadiu tzv. stabilní methanogeneze dojde k navození dlouhodobě udržované rovnováhy mezi navazujícími procesy, zejména pak mezi procesy acidogenními a methanogenními. Mezi methanogeny se řadí zejména kultury rodu *Methanobacterium*, *Methanococcus*, *Methanobacter* a *Methanomicrobium* (Straka a kol., 2006).

Pro činnost methanogenů i pro průběh reakcí směřujících k tvorbě methanu má velký význam stav a pohyb vodíku ve sledovaném prostředí (Straka a kol., 2006). Methanogenní bakterie jsou nejdůležitější trofickou skupinou, kladou vysoce specifické nároky na substrát i životní podmínky a vedle acetogenů, které zpracovávají kyselinu propionovou, se často stávají limitním faktorem celého procesu (Brandejsová a Příbyla, 2009).

Přítomnost vodíku v bioplynu vždy poukazuje na narušení rovnováhy mezi acidogenními a methanogenními procesy, které je obvykle provázeno i poklesem pH a může být způsobeno např. přetížením reaktoru, nevhodnou skladbou substrátu nebo inhibicí činnosti hydrogenotrofních bakterií. Nízké pH prostředí a vyšší přítomnost H₂ jsou nejcitlivější indikátory průběhu a stavu anaerobní fermentace a signalizují většinou rychle končící tvorbu methanu (Straka a kol., 2006).

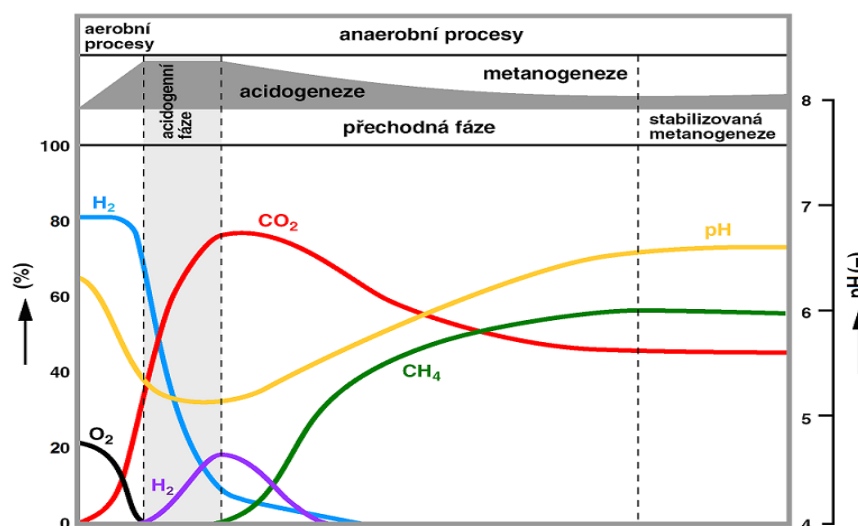
Methanogenní bakterie patří mezi nejstarší živé organismy na Zemi. Jejich nároky na bezkyslíkaté prostředí jsou vysoké a někdy vykazují až extrémní citlivost na přítomnost kyslíku. Pro všechny druhy methanogenních organismů je O₂ prudkým jedem a to i ve velmi nízkých koncentracích (Straka a kol., 2006). O přizpůsobivosti methanogenů však svědčí to, že přežívají až do dnešní doby v symbióze s jinými druhy mikroorganismů, které jim jsou schopny bezkyslíkaté prostředí poskytnout (Benda a kol., 2012).

3.3 Komplexní pohled na anaerobní fermentaci

Anaerobní fermentace je proces, při kterém dochází do značné míry ke stabilizaci biologicky degradabilních materiálů za současného vzniku energeticky využitelného bioplynu. Při vlastním procesu zároveň dochází i ke snížení počtu patogenních mikroorganismů ve zpracovávaném substrátu (Chen et al., 2008).

Jednotlivé fáze procesu jsou v předchozí kapitole uvedeny postupně, při kontinuálním provozu však probíhají zároveň. Jestliže je anaerobní fermentace rozdělena do dvou stupňů, pak v prvním stupni zpravidla probíhá hydrolýza a acidogeneze a v následujícím stupni acetogeneze a metanogeneze. Acetogenní fázi nelze zcela prostorově oddělit od metanogeneze vzhledem k syntrofickému vztahu acetogenních bakterií produkujících H_2 a methanogenních hydrogenotrofních bakterií (Straka a kol., 2006).

Graf č. 1 – Vývoj složení bioplynu při náběhu anaerobní fermentace



(Pastorek a kol., 2004)

Methanogeneze probíhá přibližně pětikrát pomaleji než acidogeneze a acetogeneze. Nejpomalejší fází však zpravidla bývá hydrolýza. Pro stabilitu fermentačního procesu je proto velice důležitá rovnováha v kinetických rychlostech jednotlivých fází. Této skutečnosti je tedy potřeba přizpůsobit konstrukci technologie a dávkování surového substrátu, jinak hrozí přetížení fermentoru s různými negativními důsledky (Kára a kol., 2007).

3.3.1 Výpočet produkce bioplynu

Nejjednodušší způsob orientačního výpočtu produkce bioplynu je použití tabelovaných údajů, které jsou zpravidla vztaženy na jednotku hmotnosti vlhkého materiálu. Přesnější výpočet lze získat, pokud je k dispozici měrná produkce bioplynu, vztažená na 1 kg organické sušiny nebo 1 kg rozložené organické sušiny substrátu (l/kg ; m^3/kg).

Nejpřesnější údaje však získáme, máme-li k dispozici hmotnostní podíl polysacharidů, proteinů a lipidů. Poté se počítá výtěžnost bioplynu pro každou složku zvlášť a výsledkem je součet všech tří podílů. Orientační hodnotu produkce bioplynu pro konkrétní materiál

lze zjistit i pomocí laboratorních testů v modelových podmínkách, avšak podobných podmínkám provozním (Benda a kol., 2012).

Tab. č. 1 – Produkce bioplynu ze základních stavebních látek

Druh látky	Měrná produkce bioplynu (l/kg org. sušiny)	Obsah methanu [%]
Polysacharidy	790	50
Proteiny	700	71
Lipidy	1250	68

(Benda a kol., 2012)

3.4 Faktory ovlivňující průběh anaerobní fermentace

Anaerobní mikroorganismy se stávají aktivními, jakmile se pro ně vytvoří příznivé podmínky, za kterých se množí. Stabilizovaný anaerobní proces je dán optimálním působením mnoha faktorů, a to materiálních i procesních. Primárním a nejdůležitějším požadavkem je bezkyslíkaté prostředí. Mezi další faktory patří zejména obsah sušiny, složení materiálu na vstupu, hodnota pH, procesní teplota a limitní obsah inhibičních či toxických látek (Benda a kol., 2012; Straka a kol., 2006).

3.4.1 Nutrienty

Po celou dobu procesu by měl být zajištěn dostatek živin, které jsou obsaženy v sušině biologicky rozložitelných organických látek. Obvykle se obsah sušiny substrátu pro mokrou fermentaci pohybuje od 8 do 12 %, protože zpracovávaný materiál musí být pro potřeby této technologie v čerpatelné formě. Suchá fermentace zpracovává materiály s obsahem sušiny ideálně 20 – 30 %, mezní hranicí je cca 50 %, kdy se nedostatek vlhkosti už začíná projevovat inhibičně.

Významnou roli hraje i prvkové složení substrátu na vstupu. Optimální poměr C : N je 25 – 30 : 1. Tohoto optima lze dosáhnout i mísením různých druhů materiálů. Obecně platí, že exkrementy hospodářských zvířat mají poměr C : N < 10, kdežto rostlinný materiál se v zeleném stavu blíží optimálnímu poměru a čím je rostlinný substrát vyzrálejší, tím se poměr C : N zvyšuje. Při příliš širokém poměru C : N však hrozí přetížení reaktorů v důsledku velkého množství organických (uhlíkatých) látek a naopak při poměru příliš

úzkém může docházet k nežádoucímu uvolňování plynného amoniaku. Obsah dalších důležitých prvků by měl mít poměr ideálně $C : N : P : S = 600 : 20 : 6 : 1$. Methanogenní bakterie samozřejmě potřebují pro svůj růst a přežití i četné stopové prvky jako Na, K, Ca, Mg, Fe, Co, Cu, Ni, Se, W, Mo a další (Benda a kol., 2012; Al Seadi et al., 2008).

Methanogenní bakterie využívají jako zdroj dusíku NH_4^+ a pokud mají dostatek energetických zdrojů ke svému růstu, pak vyžadují koncentraci amonných iontů alespoň 10^{-3} až 10^{-4} mol/l. Dalším zdrojem dusíku pro methanogeny mohou být i aminokyseliny. Je zřejmé, že nedostatek dusíku může snížit produktivitu anaerobních reaktorů. Nadbytek amoniaku NH_3 však může proces fermentace rovněž inhibovat (viz kapitola 3.4.5 Hlavní inhibiční a toxické látky) (Straka a kol., 2006).

Obecně platí, že je možné bioplyn získat za určitých podmínek z každého vlhkého organického materiálu, pro který se vžil název biomasa. Takový materiál by měl mít pouze malý podíl anorganické složky (popelovin), které se fermentačního procesu neúčastní. Hlavním zdrojem pro vývoj bioplynu je tedy anaerobní rozklad organické složky v podobě vybraných polysacharidů, proteinů a lipidů (Benda a kol., 2012).

3.4.1.1 Specifika rozložitelnosti hlavních substrátových skupin

Podle Straky a kol. (2007) jsou v procesu anaerobní fermentace ve zjednodušeném pohledu pouze tři zdrojové skupiny organických látek poskytující bioplyn:

Polysacharidy

Polysacharidy jsou polymerní látky se základní strukturou $(CH_2O)_n$. Do této skupiny patří:

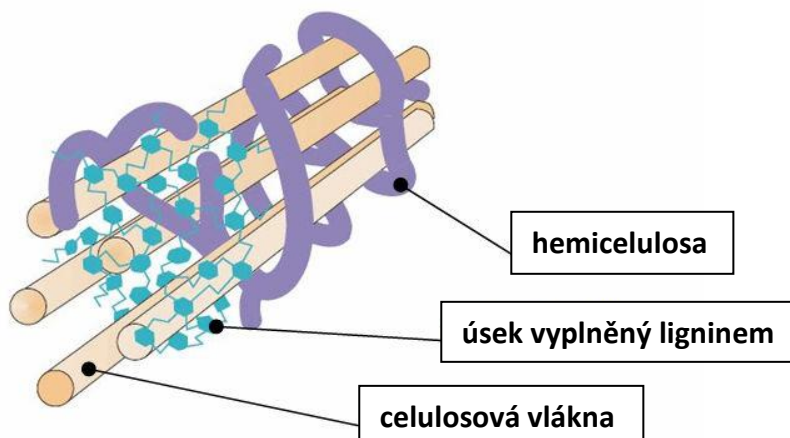
- polysacharidy celulosového typu
- polysacharidy hemicelulosového typu
- polysacharidy škrobového typu

U mnoha běžných organických substrátů (odpady, rostlinná biomasa, kaly,...) pochází majoritní podíl bioplynu právě z rozkladu polysacharidů. Společným rysem skupiny polysacharidů je však nižší koncentrace CH_4 v bioplynu (cca 50 %), která je dána relativně vysokým obsahem O_2 v polysacharidech (Straka a kol., 2007).

Celulosa, jako základní stavební jednotka buněčných stěn fytohmoty, podléhá ze všech polysacharidů hydrolytickému štěpení nejobtížněji. Podpůrný polysacharid hemicelulosa

a škrob jako zdroj energie (v podobě amylosy a amylopektinu) podléhají enzymatické hydrolýze mnohem ochotněji než celuloza, avšak je třeba počítat s nižšími obsahy CH_4 v bioplynu na úkor růstu obsahů CO_2 . Hemicelulosa společně s celulosovými polysacharidy a ligninem tvoří hrubou vlákninu.

Obr. č. 2 – Struktura lignocelulosových materiálů



(Krátký, 2010)

Důležitou stavební a zpevňující strukturou buněčných stěn rostlinných materiálů je výše zmíněný lignin (aromatický heteropolymer fenypropanového typu), který je však v anaerobních procesech téměř inertním materiálem. Nizami et al. (2009) uvádí, že lignin je nerozpustný ve vodě a zároveň je resistantní vůči mikrobiálnímu rozkladu i oxidačním procesům. Hlavním problémem je u lignocelulosových materiálů dostupnost polysacharidových řetězců pro hydrolýzu uvnitř ligninové struktury. Obsah ligninu v dřevních hmotách dosahuje až 30 %, v rostlinných produktech bylinného typu se podíl ligninu pohybuje do 10 – 12 %. Obsah ligninu a stupeň asociace s polysacharidy se obecně zvyšuje se stárnutím rostlin (Stražil a kol., 2011). Další téměř nerozložitelnou složkou jsou lignany a terpeny (isoprenoidy). Ze skupiny terpenů se jedná zejména o monoterpeny a seskviterpeny. Lignany se považují za prekursory tvorby ligninu a patří tedy do společné skupiny tzv. fenypropanoidů. (Benda a kol., 2012; Straka a kol., 2006; Straka a kol., 2007).

Proteiny

Proteiny jsou vysokomolekulární polymery, složené převážně z aminokyselin. Bílkoviny jsou dobře biologicky rozložitelné látky a vykazují vysokou výtěžnost CH_4 (až 71 %). Jako jediné z výše uvedených substrátových skupin obsahují ve svých strukturách vedle uhlíku, vodíku a kyslíku také heteroatomy, zejména dusík a síru. Síra se v průběhu

fermentace transformuje na H_2S . Bioplyn s nadměrným obsahem toxického sulfanu pak může kvůli korozivním účinkům způsobovat problémy např. v kogeneračních jednotkách. Ještě větší potíže však způsobuje organicky vázaný dusík, který při anaerobní fermentaci přechází na amoniak a při vyšších koncentracích může způsobovat inhibici tvorby methanu (viz kapitola 3.4.5 Hlavní inhibiční a toxické látky) (Straka a kol., 2006; Straka a kol., 2007).

Lipidy

Hlavní složkou této skupiny jsou triacylglyceroly dlouhých mastných kyselin (nejčastěji $C_{12} - C_{22}$). Lipidy vynikají značnou výtěžností bioplynu s vysokým obsahem methanu (až 68 %), (viz tabulka č. 1). Obvykle však nebývají ve fermentovaných substrátech většinou zastoupeny. Exkrementy a zvláště odpady živočišného původu jich obsahují více. U lipidů je hlavním problémem technické zvládnutí celkového rozkladu. Díky svým vlastnostem mají tendence vyplouvat k hladině, oddělovat se z vodné fáze či neúnosně zvyšovat tvorbu pěny. Při jejich aplikaci je také potřeba prodloužit dobu zdržení substrátu a předejít tím přetížení fermentoru (Benda a kol., 2012; Straka a kol., 2007).

3.4.2 Teplota

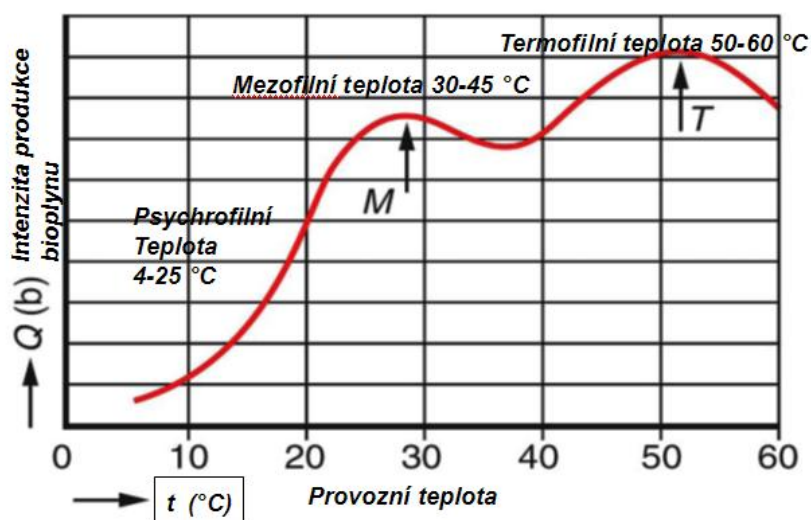
Pro dlouhodobou stabilní produkci bioplynu je velice důležitým faktorem udržování konstantní teploty ve fermentorech. Zejména methanogenní bakterie jsou velice citlivé a i náhlá změna o $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ může způsobit kolaps BPS (Turovskiy and Mathai, 2006).

Většina anaerobních mikroorganismů začíná vykazovat aktivitu při teplotách nad $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. U anaerobních procesů se většinou rozlišují tři základní režimy teplot. Psychrofilním mikroorganismům vyhovuje teplota do 20 až $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Teplotní interval od 30 do $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ odpovídá mezofilnímu režimu a pro termofilní mikroorganismy je charakteristický interval teplot od 50 do $60\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nad $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ již dochází ke koagulaci bílkovin a většina kmenů anaerobních mikroorganismů odumírá. Byly ale objeveny i ultratermoofilní bakterie, které přežívají i při teplotách $80 - 100\text{ }^{\circ}\text{C}$. V okolí hlubokomořských vývěrů horkých vod žijí však i bakterie v prostředích o teplotách přesahujících $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ a za působení tlaků okolo 300 MPa . (Benda a kol., 2012, Straka a kol., 2006).

Většina BPS využívá mezofilní režim teploty. Termofilní proces je však charakterizován hlubším rozkladem organické hmoty, intenzivnější produkcí bioplynu (viz graf č. 2) a účinnějším hubením patogenů. Na druhou stranu se však vyšší teplota projevuje nižší stabilitou procesu a vyšší koncentrací inhibujícího volného NH_3

(Chen et al., 2008; Poláček a Zgažar, 2013). Podle Benda a kol. (2012) procentuální obsah methanu v bioplynu s rostoucí teplotou mírně klesá. Celková energetická bilance BPS tedy vychází lépe pro mezofilní režim teplot, poněvadž na udržení teploty 37 °C je potřeba menší množství energie. Tato teplota je přirozenou i pro bakterie ve zvířecích exkrementech. Chladnější proces je také méně citlivý k výkyvům teplot a BPS se lépe uvádí do provozu. Pro náročné průmyslové technologie nebo methanizační nádrže v čistírnách odpadních vod (ČOV), se však doporučuje termofilní režim např. kvůli vyšší rozpustnosti tuků.

Graf č. 2 – Teplotní režimy anaerobního procesu



(Benda a kol., 2012)

3.4.3 Tlak

Vlivy tlaku na procesy anaerobní fermentace nebyly zatím předmětem rozsáhlých studií, ale dosavadní aplikační výzkum ověřil vysokou toleranci methanogenů vůči tlakovým podmínkám. Výsledky tohoto výzkumu a vývoje jsou zároveň potvrzovány i nálezy aktivních kultur v horkých anaerobních prostředích hluboko na oceánských dnech, dobře prosperujících za velmi vysokých tlaků (Kargel, 2000).

3.4.4 pH

Pro optimální růst methanogenních mikroorganismů je velice důležitým faktorem hodnota pH. Methanogeny většinou vyžadují hodnotu pH v neutrální oblasti (6,5 – 7,5) (Dohányos, 2008). Tato hodnota se však v průběhu fermentace mění. V důsledku tvorby organických kyselin nejprve pH klesá na hodnotu 4 – 5,8, ale následným vlivem

methanogenních bakterií je hodnota pH opět stabilizována do blízkosti neutrální hodnoty (viz graf č. 1).

Podle Dohányose (2008) je nejčastější příčinou výkyvu pH jeho pokles vlivem přetížení fermentoru, kdy produkce nižších mastných kyselin rychlejšími mikroorganismy (acidogenní a acetogenní) je vyšší než jejich spotřeba a dochází k akumulaci těchto kyselin v systému. O inhibičních vlivech je možné hovořit při poklesu hodnoty pH pod 6, přičemž trvalejší pokles hodnoty pH pod 5 již ohrožuje stabilitu procesu. Na druhou stranu nárůst pH nad 7,6 může procesy rovněž inhibovat, zde však zvýšeným množstvím volného amoniaku NH_3 . Při vysoké koncentraci amoniaku již ovšem pH není citlivým ukazatelem. Proto je třeba řídit zatížení fermentoru podle množství a složení nižších mastných kyselin v médiu, aby nedošlo ke kolapsu procesu, nebo udržovat dostatečnou neutralizační kapacitu přidávkem alkalizačních činidel (Benda a kol., 2012; Dohányos, 2008; Straka a kol., 2006).

Když je pH příliš nízké, doporučuje se dávkování rozpustného hydrogenuhličitanu sodného (NaHCO_3). Ke zvýšení pH lze také použít $\text{Ca}(\text{OH})_2$, může ale dojít ke vzájemné reakci s hydrogenuhličitanem za vzniku nerozpustného uhličitanu vápenatého (CaCO_3) (Turovskiy and Mathai, 2006).

3.4.5 Hlavní inhibiční a toxické látky

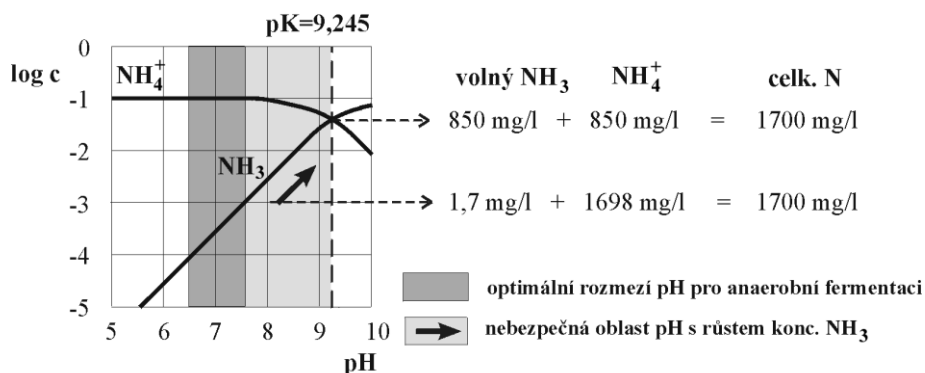
Proces anaerobní fermentace se může potýkat s problémy různého typu. Mezi nejzávažnější patří nízké procentuální zastoupení methanu v produkovaném bioplynu a vlastní nestabilita celého procesu. Jednou z hlavních příčin je přítomnost inhibičních či toxických látek ve zpracovávaném materiálu (Chen et al., 2008). Mezi nejčastější inhibitory anaerobní fermentace patří zejména amoniak a nižší mastné kyseliny. Zde je nutno upozornit, že v obou případech působí tyto látky inhibičně pouze v nedisociované formě. To znamená, že inhibice těmito látkami je závislá na hodnotě pH a jejich celkové koncentraci v systému. Při nízkém pH mohou inhibičně působit mastné kyseliny, při vysokém naopak volný NH_3 (Dohányos, 2008).

V neposlední řadě je potřeba zmínit, že průběh anaerobní fermentace je ovlivněn ještě celou škálou dalších inhibičních faktorů, jako je přítomnost nadlimitního množství sulfidů, těžkých kovů, ale i jiných anorganických i organických látek (Chen et al., 2008).

3.4.5.1 Amoniak

Intoxikace methanogenních mikroorganismů volným amoniakem je zvláště velkým problémem při anaerobní fermentaci substrátů s vysokými obsahy organicky vázaného dusíku. Typickou substrátovou skupinou pro demonstraci vlivů amoniaku jsou proteiny a močovina (Kayhanian, 1999; Straka a kol., 2006). Obsahy organického dusíku např. u masokostních mouček mohou překročit i hranici 10 % hmotnosti (Straka a kol., 2005). Dusík vázaný v proteinech peptidickými vazbami ($-\text{NH}-\text{CO}-$) je při anaerobních procesech převáděn do podoby amonných iontů (NH_4^+), resp. amoniaku (NH_3). Jak již bylo výše zmíněno, vhodný poměr C : N je důležitý pro správný průběh anaerobního procesu. Jestli je tento poměr široký, dochází k dusíkovému deficitu. Při úzkém poměru následuje vysoká produkce $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$. Nedisociovaná forma amoniaku – NH_3 je při vyšších koncentracích toxická zejména pro methanogenní bakterie. Koncentrace volného amoniaku závisí především na hodnotě pH prostředí, s vyšším pH silně vzrůstá (viz graf č. 3) (Straka a kol., 2006; Straka a kol., 2007).

Graf č. 3 – Rovnovážný diagram koncentrace $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$



(Straka a kol., 2007)

Anaerobní fermentace materiálů s vysokými obsahy dusíku (vedle masokostních mouček i další odpady živočišného původu) probíhá snadno a s vysokými výtěžky bioplynu. Jakmile ale překročí koncentrace volného amoniaku limity toxicity, začne rychle ustávat tvorba bioplynu. Liu and Sung (2002) tvrdí, že koncentrace NH_3 pod 200 mg/l na průběh anaerobní fermentace ještě žádný negativní vliv nemá, ba naopak je prospěšná z nutričního hlediska. Na druhou stranu, Kratochvílová a kol. (2009) popisují inhibiční vlivy amoniaku od koncentrací 150 mg/l. V grafu č. 3, Straka a kol. (2007) poukazují na počátek inhibičních vlivů volného amoniaku již při koncentraci 1,7 mg/l. Je tedy patrné, že přesně definovanou

hranici limitů toxicity volného amoniaku není jednoduché kategoricky určit a nejspíš bude tato hranice odlišná pro různé kultury mikroorganismů.

Hodnota pH, při níž se tvorba methanu zcela zastaví, ještě nemusí být definitivní. Pokud odolnější a rychlejší acidogenní bakterie stále pracují, může být zastavení tvorby bioplynu doprovázeno ještě následným strmým poklesem pH až na kyselou úroveň.

Toxický vliv amoniaku je možno alespoň částečně regulovat pomocí kofermentace, což znamená společnou fermentaci se substráty s nižším obsahem dusíku (např. seno, sláma). Tím je příznivě ovlivněn poměr uhlíku k dusíkatým a sírným sloučeninám ve vstupním materiálu (Straka a kol., 2006; Straka a kol., 2007).

3.4.5.2 Nižší mastné kyseliny

Nižší mastné kyseliny (NMK) patří k nejcitlivějším indikátorům stavu a stability procesu anaerobní fermentace. Podstatně větší vypovídací hodnotu má sledování koncentrace jednotlivých NMK, než jejich celkové sumy. Mezi nejvýznamnější patří kyselina propionová, kyselina máselná, kyselina valerová a kyselina kapronová. Kyselina octová sice nepatří svou chemickou povahou mezi nižší mastné kyseliny, ale vzhledem k její důležitosti v kinetice anaerobních fermentačních procesů a vztahu právě k NMK je do této skupiny právem zahrnuta. Akumulace NMK v systému poukazuje na kinetickou nerovnováhu mezi aktivitou mikroorganismů produkujících a rozkládajících mastné kyseliny a může se projevit inhibicí či kolapsem anaerobního procesu (Straka a kol., 2006).

Mnoho autorů se již snažilo kvantifikovat koncentrace jednotlivých nižších mastných kyselin, při kterých je možné udržet stabilitu fermentačního procesu. Podle Tvrzníka a kol. (2013) jsou doporučené koncentrace uvedených kyselin následující: kyselina octová 3000 mg/l, kyselina propionová 500 mg/l (případně 1/2 obsahu kyseliny octové), kyselina máselná 200 mg/l a kyselina valerová rovněž 200 mg/l.

Avšak, již z povahy anaerobního procesu vyplývá a bylo to i experimentálně ověřeno, že není možné paušálně definovat limitní koncentrace NMK, které indikují stabilitu či nestabilitu procesu. Maximální koncentrace NMK, při které je anaerobní proces v dynamické rovnováze, totiž závisí na celém spektru ovlivňujících faktorů. Jedná se zejména o složení substrátu, zatížení reaktoru, dobu zdržení, neutralizační kapacitu, ale neméně důležitá je hodnota pH nebo teplota. Zároveň zde hraje roli i technologické uspořádání systému (např. jedno či vícestupňová fermentace). Zvyšující se koncentrace nižších mastných kyselin je tedy vždy důsledkem, nikoli příčinou nestability procesu (Straka a kol., 2006).

3.5 Intenzifikace anaerobní fermentace

Biologická rozložitelnost a tím i výtěžnost bioplynu závisí na chemickém složení vstupního substrátu, na obsahu a poměru polysacharidů, lipidů, proteinů, na podílu celulosy, hemicelulos, ligninu a případně dalších např. inertních složek materiálu.

Při anaerobní fermentaci fytomasy není vzhledem k nízké biologické rozložitelnosti celulosy a také přítomnosti téměř nedegradovatelného ligninu poměrně značná část přítomného organického uhlíku (40 – 60 %) transformována do bioplynu a zůstává nevyužita. Zvýšení biologické rozložitelnosti a tím i vyšší výtěžnosti bioplynu lze dosáhnout vhodnou předúpravou vstupní suroviny (Dohányos, 2009; Zábranská, 2010).

Intenzifikace anaerobní fermentace by měla vycházet ze základních vlastností procesu. Mikroorganismy, které se účastní methanizačních procesů, jsou specifické nízkými růstovými rychlostmi a pomalým zpracováním substrátu. Limitující reakcí celého systému je reakce nejpomalejší. Tou bývá zpravidla hydrolýza makromolekulárních látek. Za určitých okolností, v případě snadno rozložitelných substrátů, to může být i methanogeneze. Z dalších limitujících reakcí přichází v úvahu rozklad kyseliny propionové a kyseliny máselné, které jsou velice důležité z hlediska udržení dynamické rovnováhy celého systému. Úsilí intenzifikace musí být tedy především zaměřeno na rychlost rozkladu a na množství a aktivitu anaerobní mikrobiální kultury (Dohányos, 2009; Straka a kol., 2006).

3.5.1 Metody intenzifikace

Všechny metody zvyšování biochemické rozložitelnosti vstupního materiálu jsou založeny na „zpřístupnění“ degradovaných složek substrátu vlastnímu enzymovému rozkladu. Biochemickou, fyzikální či jinou desintegrací dochází k narušení stávající fyzikální nebo chemické struktury zpracovávaného substrátu. Mezi hlavní efekty předúpravy zpracovávaného materiálu patří redukce velikosti částic, vyšší rozpustnost částic a zvýšení biologické rozložitelnosti organických složek. Zmenšením velikosti částic se přispěje k podstatnému zvětšení povrchu a tím pádem i k větší dostupnosti substrátu pro enzymový rozklad. U živých či odumřelých mikroorganismů dochází analogicky k částečnému narušení jejich buněčných stěn, přičemž obsah buněk – buněčný lyzát – se uvolní do roztoku a působí stimulačně na činnost a růst mikroorganismů.

Desintegrace vstupního materiálu tedy způsobuje prohloubení anaerobního rozkladu. S tím samozřejmě souvisí i zvýšení produkce bioplynu a zmenšení množství vznikajícího digestátu (Carlsson et al., 2012; Straka a kol., 2006).

3.5.1.1 Mechanické metody

Mechanická desintegrace tuhých látek v substrátu napomáhá ke zmenšení velikosti tuhých částic a dochází ke zvětšení jejich povrchu, čímž se zvýší biologická rozložitelnost zpracovávaného materiálu. K mechanické desintegraci jsou využívány různé druhy mixů, mlýnů a drtičů, které pracují převážně na principech úderu, stříhu a tření. Používají se však i vysokotlaké homogenizátory (Maroušek, 2012; Straka a kol., 2006).

Účinná technologie pro zpracování fytomasy se skládá z maceračního mlýnu, který pod hladinou horké kapaliny (40 až 85 °C, je využito odpadního tepla) desintegruje substrát na částice o průměrné velikosti 3 mm. Tímto způsobem dojde nejen k vytlačení vzduchu a dalších mezibuněčných plynů, ale i k přechodu jednoduše hydrolyzovatelných organických látek a některých minerálů do kapalné fáze. Za optimální tlak jsou považovány hodnoty blízké 1,5 MPa. Tento tlak je udržován v tlakovém reaktoru, který je rovněž součástí technologie (Maroušek, 2012).

Gerndtová a Andert (2009) na základě pokusů s travními směsmi popisují, že vliv desintegrace rostlinné biomasy přináší výhodnější náběh anaerobního procesu a zároveň vyšší produkci bioplynu oproti materiálu neupravenému. Toto však platí pouze pro zelenou rostlinnou hmotu posečenou v rané fázi růstu. U rostlin sklizených ve fázi kvetení, u kterých se snižuje obsah živin a vody v pletivech a naopak roste podíl ligninu, nemá úprava příliš velký význam.

3.5.1.2 Fyzikální metody

Mezi fyzikální metody, které napomáhají rozkladu podstatné části pevné fáze substrátu, patří zejména různé teplotní režimy předúpravy (včetně termotlaké hydrolýzy). Substráty mohou podléhat teplotám vysoko nad 100 °C, zároveň se ale na účinné desintegraci materiálu podílí i režim mražení při teplotách hluboko pod 0 °C s následným táním. Další používané fyzikální metody využívají i ionizujícího záření nebo ultrazvuku (Dohányos, 2009). V literatuře se často objevuje i metoda předúpravy pomocí mikrovlnného záření. Li et al. (2011) ale ve své práci popisují, že metoda předúpravy substrátu pomocí mikrovln není účinná a mnohdy produkci bioplynu dokonce snižuje.

Rizikem jak chemických, tak i teplotních předúprav substrátu může být formování toxických produktů při degradaci ligninu. Mohou vznikat zejména inhibující fenolické sloučeniny a jejich deriváty, které se začínají formovat při teplotě 160 °C (Carrère et al., 2011; Hendriks and Zeeman, 2009; Ward et al., 2008).

3.5.1.2.1 Termotlaká hydrolýza

Metoda vyváření lignocelulosových materiálů v horké vodě patří mezi technologie, které se používají již několik desítek let např. v papírenském průmyslu. Hlavní účinek tohoto procesu spočívá v tom, že dochází k odbourání více jak 80 % obsahu hemicelulosity a částečně i ligninu (Taherzadeh and Karimi, 2008).

Největší výhodou této metody je skutečnost, že k rozkladu substrátu nejsou potřeba žádné chemikálie, a tudíž i reaktory nemusí být zhotoveny z korozivzdorných materiálů. V porovnání s ostatními metodami má také termotlaká hydrolýza nižší požadavky na nutnost použití různých chemikálií sloužících k neutralizaci vzniklého hydrolyzátu. Dalším pozitivem je i fakt, že během rozkladu nedochází ke vzniku inhibitorů, jako je tomu např. u kyselých hydrolýz (Krátký, 2010).

Substrát je před vstupem do fermentoru vystaven vysoké teplotě a tlaku (do cca 200 °C a 1,2 MPa), což značně urychluje a zintenzivňuje jeho rozklad. Díky účinku termotlaké hydrolýzy je možno také zhodnotit substráty např. v podobě slamnatého hnoje či nadrcené slámy, neboť tyto by byly bez předchozí úpravy hůře zpracovatelné. Termotlaká hydrolýza zajišťuje dokonalou sterilizaci vstupních materiálů, dále destrukci některých biocidních látek a zejména zajišťuje rozštěpení vysokomolekulárních polysacharidů na látky jednodušší, které jsou již snadněji přístupné enzymovému rozkladu (Habart, 2008a).

Při rozkladu např. kukuřičné siláže je doporučeno vystavit ji účinku horké tlakové vody o teplotě 190 °C po dobu 15 minut. Během této doby dochází k rozkladu přibližně 90 % obsahu celulosy. Naopak při zpracování kukuřičné siláže při teplotě 160 °C po dobu 20 minut dochází jen k 50 % rozkladu obsahu celulosových vláken (Alvira et al., 2010).

Substráty jsou při aplikaci vhodného typu termotlaké hydrolýzy rozloženy pomocí mikroorganismů téměř z 90 % během prvních 15 – 20 dnů setrvání ve fermentoru. Tato skutečnost vede k výrazně menší potřebě fermentačního objemu. Dále je nutno uvést, že při úpravě termotlakou hydrolýzou se průměrný obsah methanu v bioplynu pohybuje v rozmezí 65 – 70 % a průměrná výtěžnost bioplynu vzrůstá o 15 – 30 % oproti substrátům bez předúpravy. Uvážíme-li, že je touto technologií možno zpracovávat i materiály na bázi

slámy, které v klasické bioplynové stanici potřebují setrvání 90 a více dní, je jasné, že tato technologie má velký potenciál.

Termotlaká hydrolýza samozřejmě potřebuje tepelnou energii. Tuto energii však může v nadbytku produkovat kogenerační jednotka. K tepelnému pokrytí hydrolýzy je možné použít např. tlakovou páru ohřívanou spalínovým výměníkem kogenerační jednotky (Habart, 2008a).

3.5.1.3 Chemické metody

Složité organické látky podléhají destrukci minerálními kyselinami, alkáliemi nebo oxidačními činidly (např. ozon O_3). S chemickými látkami se ale musí nakládat velice opatrně, neboť přidavkem např. H_2SO_4 se mohou do systému vnášet nežádoucí a inhibiční složky (v tomto případě síra). Zároveň jsou tyto metody velice ekonomicky náročné, což brání jejich širšímu uplatnění (Dohányos, 2009).

Xie et al. (2011) popisují možnost termochemické desintegrace travní senáže v podobě přidavku NaOH a zahřátí materiálu na cca 100 °C. Ideální množství přidaného roztoku NaOH odpovídá přibližně 5 % hmotnosti sušiny zpracovávaného materiálu. Výsledné množství vyprodukovaného methanu se touto předúpravou může zvýšit o 30 – 40 %.

3.5.1.4 Biotechnologické metody

Vedle mechanické desintegrace a termotlaké hydrolýzy, které se již v provozu používají, jsou nejvíce nadějně pro zvýšení rozložitelnosti biotechnologické metody.

Používání čistých enzymů (celulas) je již komerční záležitostí, avšak je zde stále ještě mnoho otazníků. Přípravky od různých výrobců reagují různým způsobem a neexistuje jednoznačná metodika jejich aplikace, která by zaručovala deklarované výkonnosti. Negativním faktorem je zároveň vysoká cena enzymových preparátů a nutnost pravidelného dávkování do reaktoru.

Další biotechnologické metody mohou spočívat v aplikaci mikroorganismů s vysokou celulasovou aktivitou. Jedná se zejména o bachorové kultury ze zaživacího traktu přežvýkavců nebo o různé druhy anaerobních hub (Dohányos, 2009).

3.5.1.4.1 Buněčný lyzát

Buněčný lyzát je uvolněný obsah buněk mikroorganismů následkem rozrušení jejich buněčných stěn. Tento proces rozrušení buněčných stěn probíhá jednak přirozeně

tzv. autolýzou u všech odumřelých buněk nebo pomocí hydrolytických enzymů. Zmíněné enzymy mohou být do roztoku uvolňovány fermentačními bakteriemi nebo různými, účelně vyvolanými metodami pro destrukci bakterií. Buněčný lyzát působí stimulačně na činnost a růst mikroorganismů. Může působit stimulačně jednak přímo jako zdroj růstových faktorů, které stimulují činnost přítomných mikroorganismů, nebo nepřímo tím, že enzymy v buněčném lyzátu obsažené způsobují lyzi dalších mikrobiálních buněk. Vedle toho obsahuje důležité enzymy potřebné k rozkladu organických látek. Přídavek již malého množství buněčného lyzátu (0,5 – 10 %) k fermentovanému materiálu prohlubuje mikrobiální rozklad nesnadno rozložitelných a nerozpuštěných organických substrátů (Straka a kol., 2006).

3.5.1.4.2 Enzymatická hydrolýza

Enzymy pro předúpravu materiálu se dají získat z bakterií nebo plísní, které produkují celulasu a jsou do fermentoru přidávány z externího prostředí. V dnešní době již existují možnosti, které představují použití i dalších skupin enzymů v podobě např. pektinas, polygalakturonas v kombinaci s betaglukanasami.

Enzymatická hydrolýza se skládá ze tří kroků: adsorpce enzymu celulasy na povrchu celulosy, biologický rozklad celulosy na fermentovatelné sacharidy a následná desorpce celulasy. Účinnost enzymatické hydrolýzy závisí především na koncentraci substrátu, typu a koncentraci enzymů a dalších podmínkách, jako jsou teplota nebo hodnota pH. Enzymy získané z kalové vody se opět mohou použít pro další rozklad. Vlastní proces enzymatické předúpravy probíhá nejčastěji při teplotě 38 °C (Kokrhelová a Jirout, 2008; Štambaský, 2013).

3.6 Trávy jako energetická surovina

3.6.1 Trvalé travní porosty

Trvalé travní porosty (TTP) tvořené loukami a pastvinami jsou nedílnou součástí zemědělského půdního fondu. Trávy jsou jednoleté nebo vytrvalé rostliny patřící do čeledi lipnicovitých (*Poaceae*). Při dobrém založení porostu a vhodné péči během vegetace dávají stabilní výnosy po řadu let. Pro jejich zavádění hovoří nízká cena při zakládání porostů, minimální používání herbicidů nebo jiných pesticidů i další nízké přímé náklady. Trávy dobře reagují na hnojení dusíkem zvýšením výnosů. Travní porosty významně přispívají zejména na svažitých pozemcích k omezení vodní eroze, zadržení živin v půdě, k udržení cyklu uhlíku

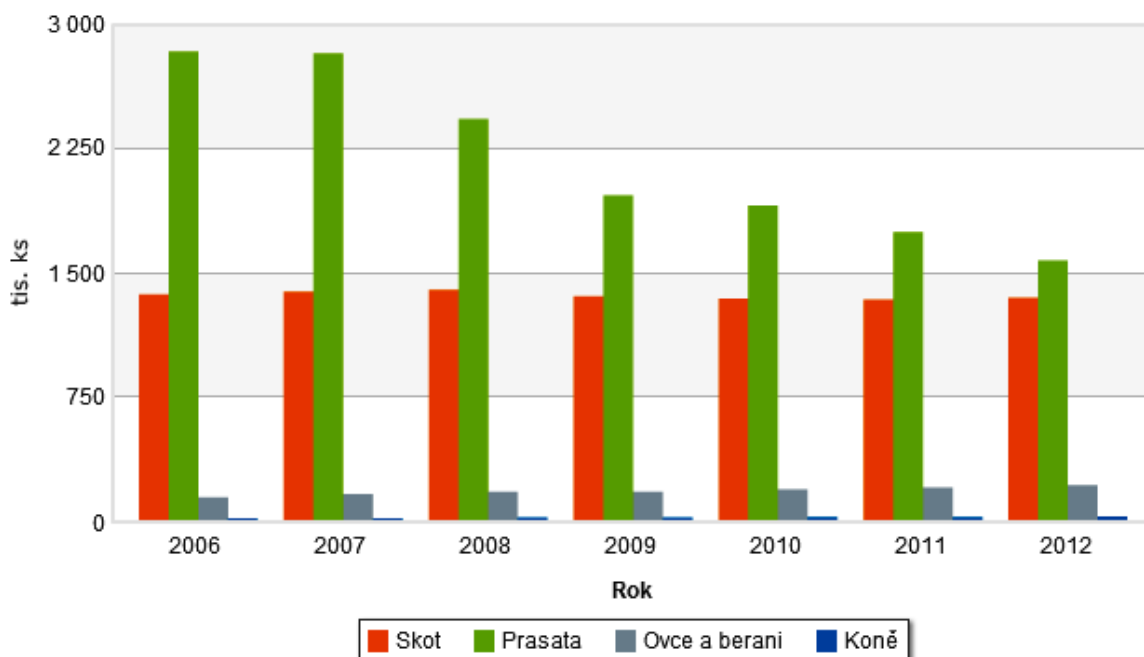
i úrodnosti půdy. Většinu trav lze u nás dobře pěstovat téměř ve všech klimatických podmínkách, výhodu však mají humidní oblasti vzhledem k relativně vysokým nárokům trav na vláhu.

Tab. č. 2 – Vývoj výměry TTP a stavů hospodářských zvířat v ČR

Rok	Skot [tis. ks]	z toho krávy [tis. ks]	Prasata ¹⁾ [tis. ks]	z toho prasnice [tis. ks]	Ovce ¹⁾ [tis. ks]	Koně ¹⁾ [tis. ks]	Drůbež ¹⁾ [tis. ks]	TTP [tis. ha]
1990	3506	1236	4790	311	430	27	31981	833
1993	2512	932	4599	324	254	19	28220	873
1996	1989	751	4016	318	134	19	27875	946
1999	1657	642	4001	317	86	23	30222	950
2002	1520	596	3441	289	96	21	29947	968
2005	1397	574	2877	232	140	21	25372	974
2008	1402	569	2433	179	184	27	27317	980
2011	1344	552	1749	112	209	31	21250	989
2012	1354	551	1579	100	221	33	20691	992
2013	1353	552	1587	102	221	34	23265	994

¹⁾ od roku 2002 pouze zemědělský sektor bez "hobby aktivit" (ČSÚ, 2014; ČÚZK, 2014)

Graf č. 4 – Stav hospodářských zvířat v ČR



(http://www.czso.cz/csu/redakce.nsf/i/zemedelstvi_zem)

Dle evidence katastru nemovitostí Českého úřadu zeměměřičského a katastrálního zaujímaly TTP v roce 2013 v České republice výměru 994 tis. ha, tj. 23,6 % ze zemědělské půdy o rozloze 4220 tis. ha. Vývoj výměry TTP a stavů hospodářských zvířat v ČR uvádí tabulka č. 2 a graf č. 4. Je zřejmé, že zatímco v období 1990 až 2013 se zvýšila výměra TTP o cca 160 tis. ha (19 %), stavy skotu a ovcí se ve stejném období snížily o 61 a 49 %. Od roku 1990 se tedy zřetelně snížila využitelnost TTP pastvou přežvýkavců (ČSÚ, 2014; ČÚZK, 2014; Stražil a kol., 2011). Zemědělským způsobem nelze trvale využívat cca 80 tis. ha půdy (trvale zamokřené půdy evidované jako louky, meze, remízky, rozptýlené pozemky v krajině, dřevní nálet na plochách aj.). V České republice není v současné době možné využít chovem zvířat kolem 160 až 300 tis. ha TTP (16 – 30 %). Část výměry těchto TTP by zcela určitě bylo možné využít pro energetické účely. Jako energetického zdroje lze využít také fytomasu některých druhů trav zejména na stanovištích s vyšší nadmořskou výškou (nad 400 m n.m.) a vyšší svažitostí terénu (erozní ohrožení). Dalším významným zdrojem obdobné biomasy je produkce z údržby krajiny a veřejné zeleně ve městech a obcích. Z energetického hlediska lze travní fytomasu využívat pro přímé spalování, ale hlavně pro výrobu bioplynu. TTP tedy představují tuzemský obnovitelný zdroj energie, který není lokálně omezen a který může snížit spotřebu dovážených energetických zdrojů (Kohoutek a kol., 2009; Mužík a kol., 2006; Stražil a kol., 2011).

3.6.2 Využití travní biomasy pro výrobu bioplynu

Použití travní biomasy k výrobě bioplynu má určitá specifika vycházející především z jejího chemického složení. Chemické složení i jednoho konkrétního druhu rostlinné biomasy je ovlivněno typem půdy i klimatickými podmínkami stanoviště. Navíc je ovlivněno řadou faktorů spojených s produkcí (hnojení), sběrem (doba sklizně, počet sečí) a případnou konzervací. Pro anaerobní fermentaci travní biomasy na bioplyn je možné použít fytomasu zakonzervovanou (silážováním, sušením), ale i čerstvou (Stražil a kol., 2011).

Tab.č. 3 – Vybrané fyzikální a chemické vlastnosti trávy

Materiál	Organické látky [% v sušině]	Sušina [%]	Poměr C:N	pH
Čerstvě posečená tráva	80 - 92	15 - 25	12 - 25	6,0 - 6,5

(Mužík a kol., 2006)

Tab. č. 4 – Složení luční travní biomasy z různých lokalit

Parametr	Jednotky	Lokality		
		Paseky	Hojná voda	Vatín
Sušina	%	22,8	22,2	31,0
Organické látky	% v sušině	93,3	91,7	92,6
N - látky	% v sušině	10,7	11,8	9,8
Hrubá vláknina	% v sušině	32,6	33,3	33,0
Lipidy	% v sušině	3,2	3,7	3,0
Popeloviny	% v sušině	6,7	8,3	7,4
BNVL	% v sušině	46,8	42,9	46,8

(Stražil a kol., 2011)

BNVL jsou bezdusíkaté látky výtahové a jsou tvořeny převážně škrobem a glukosou, malou část však mohou tvořit i organické kyseliny.

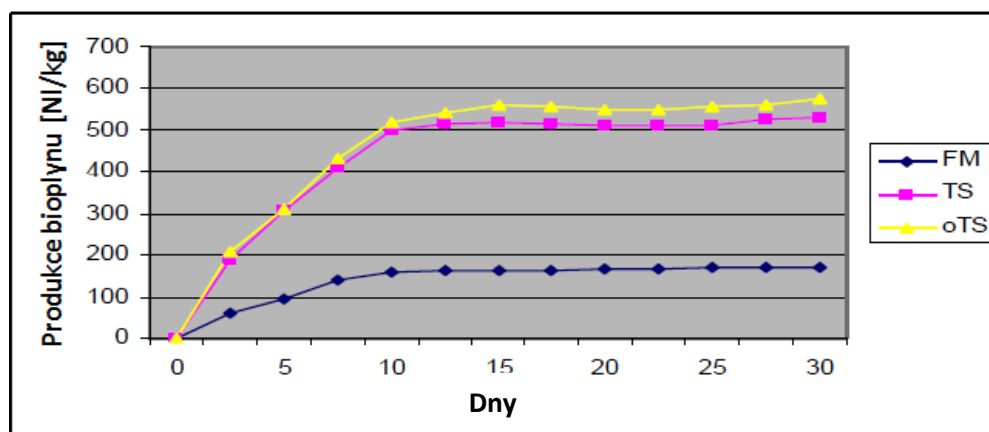
Tab. č. 5 – Porovnání složení různých materiálů

Lignocelulosový materiál	Celulosa [%]	Hemicelulosa [%]	Lignin [%]
Štěpky z tvrdého dřeva	40 - 55	24 - 40	18 - 25
Štěpky z měkkého dřeva	45 - 50	25 - 35	25 - 35
Kukuřičný klas	45	35	15
Tráva	25 - 40	35 - 50	10 - 30
Papír	85 - 99	0	0 - 15
Pšeničná sláma	30	50	15
Listí	15 - 20	80 - 85	0
Novinový papír	40 - 55	25 - 40	24 - 29
Prasečí kejda	6	1,4 - 3,3	2,7 - 5,7
Dobytčí hnůj	1,6 - 4,7	35,7	6,4

(Krátký, 2010)

Typický průběh produkce bioplynu při anaerobní fermentaci travní siláže je uveden na následujícím grafu č. 5. Produkce bioplynu je vztažena na čerstvou siláž (FM) o sušině 32,2 %, sušinu (TS) a organickou sušinu (oTS). Organická sušina tvořila 92 % sušiny vzorku. Produkce bioplynu je vyjádřena v „normovaných“ litrech na kg substrátu (NI/kg), kde objem plynu je přepočten na 101,3 kPa a 0 °C. Analogickou jednotkou je pak Nm³/t. Obsah methanu v bioplynu se u substrátů s dominantním obsahem sacharidů pohybuje v rozmezí 50 – 55 %. Výhodou bioplynu z rostlinných materiálů je nízká koncentrace sulfanu, pohybující se řádově v desítkách miligramů v m³ bioplynu. Například u bioplynu z anaerobní fermentace kejdy prasat se koncentrace H₂S pohybují v rozsahu 2000 - 5000 mg/m³ (Stražil a kol., 2011).

Graf č. 5 – Produkce bioplynu z travní siláže



FM...čerstvá siláž, TS...sušina, oTS...sušina organické hmoty

(Stražil a kol., 2011)

Mužik a kol. (2006) zjistili, že produkce bioplynu z kejdy s přidavkem trávy se přibližuje výši produkce bioplynu ze samotné kejdy (vepřová a hovězí kejda v poměru 1 : 1). Díky vysokému obsahu methanu (přes 70 %) v bioplynu vyprodukovaného z kejdy s přidavkem trávy je možné trávu až do hmotnostního podílu 50 % kofermentovat s kejdou bez výraznějších energetických ztrát. Možnou výhodou kofermentace travin s kejdou může být i lepší struktura vyhnilého substrátu.

Vyšší produkce bioplynu lze dosáhnout také větší desintegrací travin. U čerstvých rostlinných materiálů desintegrace uvolňuje buněčnou šťávu (lyzát) a tím umožňuje rychlejší náběh methanogenního procesu, což by mělo přispět ke zkrácení doby zdržení vsázky ve fermentoru.

Lehtomäki et al. (2007) ve své studii popisují rozdílné podíly získaného methanu při anaerobní digesci travní siláže v jednostupňovém či dvoustupňovém zapojení fermentorů. Ve dvoustupňovém procesu bylo během 55 dní získáno 66 % z celkového potenciálu výtěžnosti methanu, kdežto v jednostupňovém provedení bylo za stejnou dobu získáno pouze 20 % methanového potenciálu z travní siláže.

3.6.2.1 Silážování a sušení travní biomasy

Pro zabezpečení stálého celoročního provozu bioplynové stanice je potřeba zabezpečit dostatečné zásoby fytomasy. Vzhledem k tomu, že čerstvá volně uskladněná fytomasa podléhá degradativním procesům vlivem množení nežádoucích mikroorganismů a plísní, je potřeba ji rychle stabilizovat konzervací. Tradičně jsou v zemědělství používány dvě technologie konzervace, a to sušení a silážování.

Při výrobě sena se přímo na kultivační ploše sušením snižuje obsah vody pod 15 %, což je hodnota, při které je možné seno dostatečně dlouho skladovat. Pro nejčastěji používanou technologii – mokrou anaerobní fermentaci, kdy optimální obsah sušiny vsázky je max. do 12 %, vyžaduje použití sena opětovné přidávání vody.

Z hlediska technologie anaerobní fermentace je daleko výhodnější využít silážovanou biomasu. Konzervace silážováním je založena na principu okyselení biomasy kyselinou mléčnou na hodnoty pH 4,0 – 4,5. Kyselina mléčná vzniká činností bakterií z vodorozpustných sacharidů v prostředí bez přístupu kyslíku. Bakterie mléčného kvašení (*Lactobacillus*, *Streptococcus* aj.) jsou přirozeně přítomné na fytomase. V rámci urychlení silážování je možné tyto bakterie přidávat ve formě suspenzí. Travní siláže mají většinou obsah sušiny kolem 28 – 35 %, a tudíž není potřeba takové množství procesní vody na ředění substrátu jako u senáží. Otázkou do budoucna je samozřejmě i použití technologie suché fermentace. Další výhodou použití siláže v porovnání se senem jsou kratší částice rostlin (řezanka 2 až 7 cm). Kratší částice jsou výhodnější pro čerpání a míchání travní suspenze a navíc produkce bioplynu je nepřímo úměrná délce řezanky (Stražil a kol., 2011).

3.7 Technologie výroby bioplynu

3.7.1 Zemědělské, komunální a průmyslové bioplynové stanice

Podle původu zpracovávaného materiálu se bioplynové stanice (BPS) rozlišují na zemědělské, komunální a průmyslové.

Vhodné substráty pro zemědělskou BPS (Štokr, 2013):

- kejda skotu a prasat
- chlévská mrva
- kukuřičná, travní a čiroková siláž
- travní senáž
- obilná siláž z celých rostlin (GPS)
- vlhká zrna a obilné šroty

Vhodné substráty pro komunální BPS (Kratochvílová a kol., 2009):

- biologicky rozložitelné odpady (BRO) jako separované odpady z:
 - domácností (zbytky z kuchyní, údržba zahrad,...)
 - údržby obce (travní seč, prořezy stromů,...)
 - činnosti živnostníků, restaurací a jídelen

Kejda, hnůj a podestýlky se obvykle nepovažují za odpady, ale za statková hnojiva, a tudíž mohou být zpracovány v rámci zemědělských BPS. Za komunální bioplynovou stanici lze považovat zařízení zpracovávající převážně komunální bioodpady, souhrnně nazývané zkratkou BRKO (biologicky rozložitelné komunální odpady). Další bioodpady, např. vybrané jateční odpady (vedlejší živočišné produkty – VŽP), odpady z výroby piva, škrobu, cukru, atd., se zpracovávají buď v rámci komunálních BPS, nebo se pro ně zřizují speciální průmyslové bioplynové stanice (Kratochvílová a kol., 2009).

Technologie v podobě komunální bioplynové stanice musí při svém provozu zvládat ještě řadu dalších náročných operací. Mezi tyto patří separace, drcení či řezání nehomogenních materiálů, které mohou obsahovat různé nežádoucí příměsi. U řady materiálů (např. VŽP) vyžaduje legislativa kvůli potenciální infekčnosti jejich rozmělnění na maximální velikost částic 12 mm a provedení tzv. hygienizace při teplotě 70 °C.

Pro chod komunální BPS je tedy zásadní příjmová část technologie. Odpadní materiály přirozeně zapáchají a pro snížení této zátěže je nutné, aby byla příjmová místa v uzavíratelných halách s možností odtahu a čištění vzduchu na biofiltrech. Náročnější technologie komunálních BPS se samozřejmě promítají i do vyšších investičních a provozních nákladů ve srovnání s BPS zemědělskými (Habart, 2008b).

3.7.2 Technologické varianty BPS dle obsahu sušiny v substrátu

Zařízení bioplynových stanic jsou budována v technologických variantách pro mokrou nebo suchou fermentaci. Každá technologie má své výhody a nevýhody a používá se pro odlišné substráty (Škorvan a kol., 2011). Odlišnost mezi mokrou a suchou fermentací spočívá zejména v obsahu sušiny zpracovávaného organického materiálu. Substráty s obsahem sušiny do 12 % jsou čerpatelné a tudíž vhodné pro zpracování mokrou cestou. Naopak materiály s podílem sušiny okolo 25 % a více (max. cca 50 %) jsou již pevné či sypké povahy a měly by být zpracovávány suchými technologiemi (Poláček a Zgažar, 2013).

3.7.2.1 Mokrý fermentace

Horní limit obsahu sušiny pro mokrou fermentaci je dán čerpatelností materiálu, což představuje pro většinu současných čerpadel cca 12 % sušiny. Vřetenová (šneková) čerpadla však zvládnou čerpat i materiál s obsahem sušiny 14 – 16 %. V případě kofermentace tekutého a vysokosušivého materiálu je potřeba substrát dokonale homogenizovat a obsah sušiny upravit ideálně na 8 – 12 % (Benda a kol., 2012).

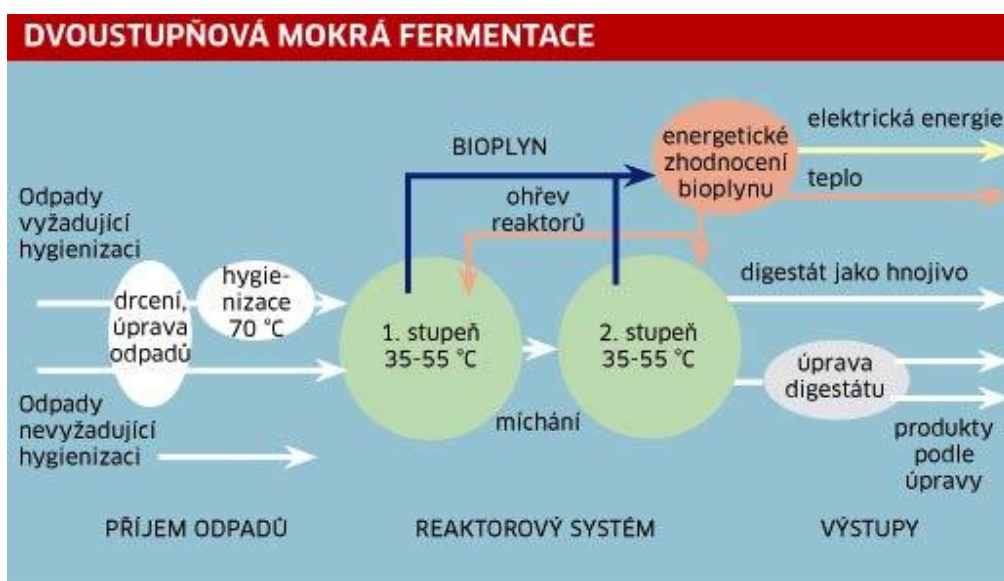
Proces je provozován ve velkých (i 10000 m³), vzduchotěsných, míchaných fermentorech. Ty mohou být horizontální, vertikální (nebo jejich kombinace), kulové, polokulové, vejčité, atd. Vlastní proces pracuje s určitým ustáleným stavem, proto je nutné dodržovat základní provozní parametry. Některé z nich je bezpodmínečně nutno sledovat již při návrhu technologie, zejména pak velikost reaktorů a jejich účinnost, zatížení reaktorů vnosem organické hmoty a koncentrace amoniakálního dusíku v reaktorech (Benda a kol., 2012; Škorvan a kol., 2011).

Podle Škorvana a kol. (2011) je čerpatelný substrát prakticky kontinuálně dávkován do fermentorů, kde je udržována stálá teplota cca 37 °C (mezofilní podmínky) nebo cca 55 °C (termofilní podmínky). Pro eliminaci potenciálních negativních vlivů (např. zápach digestátu) se často používají víceúrovňové systémy se sériovým řazením fermentorů a dofermentorů (dohnivací nádrže) (Škorvan a kol., 2011). U víceúrovňových systémů může být i kombinovaný teplotní režim, v prvním stupni mezofilní a ve druhém termofilní (Benda a kol., 2012). Mezi možná rizika patří i kontaminace digestátu některými z rizikových prvků (Hg, Cu, As, aj.) (Škorvan a kol., 2011).

Doba zdržení materiálu v reaktoru je závislá na materiálových a procesních parametrech. Může se pohybovat přibližně od 20 do 60 dní, v některých případech se prodlužuje až na 90 dní.

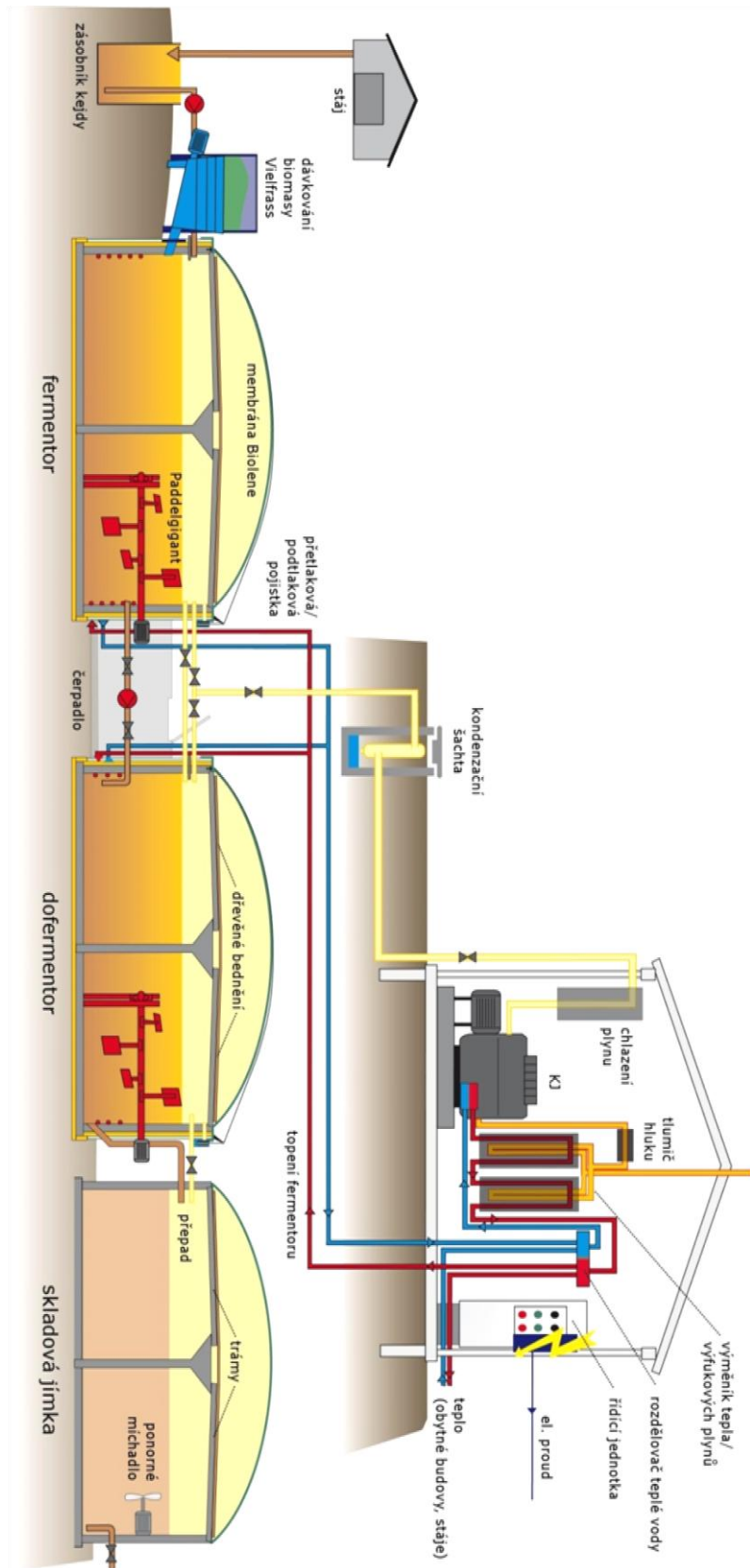
Řízení dávkování substrátu je velice důležité. Je-li dávkování nedostatečné, dochází ke snížení produkce bioplynu a kapacita BPS je nevyužita. V opačném případě, při přetížení reaktoru, dochází k okyselení materiálu a celý fermentační proces může zkolabovat (Benda a kol., 2012).

Obr. č. 3 – Dvouúrovňová mokrá fermentace



(Škorvan a kol., 2011)

Obr. č. 4 – Funkční schéma dvoustupňové mokré bioplynové stanice

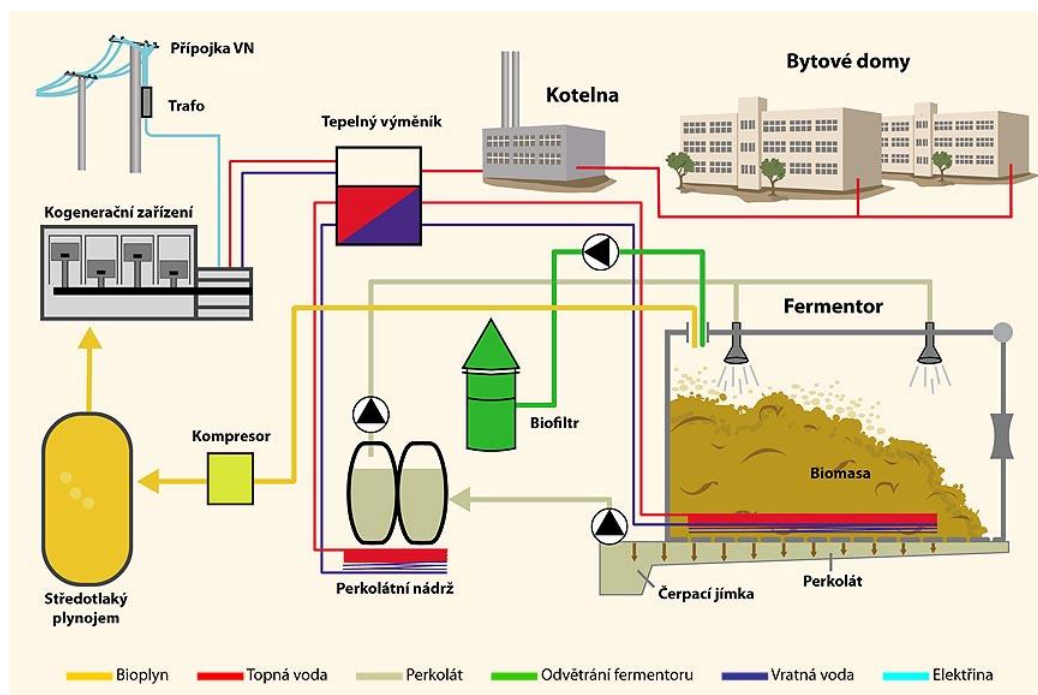


(http://www.biogastechnik.de/images/stories/processed/CZ/pdf/Schema_BPS_komplet-cs-CZ.jpg)

3.7.2.2 Suchá fermentace

Typickou suchou fermentační stanicí tvoří komplex několika staveb. Mezi ně patří hranaté garážové fermentory (např. 7 x 5 x 30 m), manipulační hala, strojovna s kogenerační jednotkou, velín s elektrorozvodnou, perkolátní tanky, biofiltr pro odstranění škodlivin a zápachu, flóra sloužící jako havarijní hořák (Poláček a Zgažar, 2013).

Obr. č. 5 – Schéma suché fermentace



(<http://www.fortexbioplyn.cz/cz/sucha-fermentace/>)

Materiál pro suchou fermentaci není třeba v některých aplikacích před zpracováním vůbec upravovat (doporučuje se však hrubé drcení). Organický materiál v sypkém stavu se naváží do fermentoru kolovým nakladačem. Po naplnění fermentoru jsou uzavřena plynotěsná vrata. V počáteční fázi procesu nejprve probíhá aerobní kompostovací proces spojený s uvolňováním tepla. Biomase je však potřeba vyhřívat i externě, v praxi je nejčastěji využíváno podlahové topení. Poté, co je dosaženo provozní teploty, je vypnut přívod vzduchu. Do 20 hodin po navezení substrátu dojde k vyčerpání zbytkového kyslíku a stabilizovaný vývoj bioplynu nastává do 3 – 5 dnů. Postřik perkolátem ze stropních trysek zajišťuje potřebnou vlhkost substrátu. Perkolát rovněž zajišťuje ohřev substrátu a zároveň obnovuje mikrobiální kulturu na povrchu biomasy. Perkolátní výluh z fermentorů je poté jímán v podlahových kanálcích, následně odváděn do perkolátních tanků a celý cyklus se opakuje (Poláček a Zgažar, 2013).

Vznikající bioplyn je odsáván do plynových vaků, poté čištěn a odváděn do kogenerační jednotky. Při optimálních podmínkách může být u kukuřičné siláže a senáže dosahováno výtěžností od 150 do 250 m³ bioplynu z 1 t vlhkého materiálu, u hnoje pak od 50 do 90 m³ bioplynu. Směs methanu se vzduchem je v určitých koncentracích (5 – 15 % CH₄) výbušná. Před otevřením plynotěsných vrat je tedy bezpodmínečně nutné fermentor odvětrat. Z přední části je do něj proto vháněn čerstvý vzduch. Směs čerstvého vzduchu a bioplynu je v zadní části fermentoru odváděna a odsávána přes biofiltr do atmosféry. Poté, co jsou koncentrace CH₄, CO₂ a O₂ v rozmezí bezpečných hodnot, povolí řídicí systém otevření plynotěsných vrat a umožní zahájit vyvážení fermentoru. V průběhu celého vyvážení a navážení je fermentor neustále proplachován čerstvým vzduchem (Poláček a Zgažar, 2013).

Tento suchý anaerobní proces je diskontinuální, obvyklá délka cyklu je 20 – 28 dní (popř. až 40 dní). Pro větší kontinuitu procesu se doporučuje pracovat minimálně se čtyřmi fermentory. Na konci cyklu je materiál vyskladněn a obvykle dokořmptován. Část již zfermentovaného materiálu se smíchá s novou biomasou v tzv. „směsném navýšení“ (poměr mezi částečně zfermentovanou biomasou a čerstvou biomasou je min. 50 : 50, ale vyšších výnosů bioplynu se dosahuje při větším zastoupení již zfermentované biomasy). Starší substrát slouží jako inokulum, které vnošením mikroorganismů zajistí rychlý náběh fermentačního procesu. Celý proces je až na manipulaci s biomasou plně automatizován. Případné poruchy jsou ihned řídicím systémem hlášeny personálu BPS.

Další metoda suché fermentace disponuje horizontálním typem fermentorů s jedním pomaloběžným míchacím zařízením. V reaktoru probíhá zpracování substrátu částečně pístovým tokem, což zlepšuje účinek anaerobního procesu a zajišťuje dosažení dostatečné doby zdržení pro každou částici materiálu. Konstrukce míchadla zaručuje optimální promíchání substrátu a tím vysokou výtěžnost bioplynu. Zde se již jedná o proces kontinuální. Tato technologie je ale doprovázena vyšší investiční a provozní náročností a bývá zpravidla využívána pouze pro zpracování biologicky rozložitelného komunálního odpadu (BRKO). U této technologie však musí být přijímané bioodpady nejdříve nadrceny a homogenizovány. Dávkování biomasy zajišťuje hydraulický dopravní systém, který odebírá biomasu ze zásobníku a dopravuje ji přes přehřívací výměník tepla do reakční komory (Poláček a Zgažar, 2013).

Vhodné substráty pro suchou fermentaci (Poláček a Zgažar, 2013):

- biologicky rozložitelné odpady (BRO) – travní zeleň, prošlé potraviny, ovoce, zelenina, listí a štěpka (v omezené míře), vytríděné biologicky rozložitelné komunální odpady (BRKO)
- vepřový a hovězí hnůj
- cíleně pěstovaná biomasa a produkty jejího zpracování (kukuřičná siláž, travní senáž)
- chlévská mrva může sloužit jako inokulum pro správný náběh suché anaerobní fermentace

3.7.2.3 Výhody a nevýhody mokré i suché fermentace

Mokré technologie mají celkově širší uplatnění, mají delší historii, jsou technologicky propracovanější a dobře provozně prověřené. Počet instalací v Evropě je v tisících kusů (Škorvan a kol., 2011). Podle České bioplynové asociace (CZBA) bylo v České republice k 1. 1. 2014 instalováno na 500 bioplynových zařízení. Tento počet zahrnuje jednak bioplynové stanice zemědělské, komunální, průmyslové, ale i bioplynové stanice na skládkách odpadů a v rámci čistíren odpadních vod. Více než 300 z výše jmenovaných typů zařízení představují BPS čistě zemědělské. V současné době je v ČR pouze pět BPS s typickou technologií suché fermentace, která byla popsána výše.

Na druhou stranu náročnější technologická výbava mokrých BPS (čerpadla, míchadla, drtiče, separátory...) zvyšuje náklady na provoz v podobě spotřeby elektřiny, servisu a údržby. Narůstá také množství poruch (Škorvan a kol. 2011). Luning et al. (2002) se domnívali, že produkce bioplynu je u obou metod obdobná, podle Škorvana a kol. (2011) má ale suchá fermentace ve srovnání s mokrou metodou nižší výtěžnost bioplynu. Suchou fermentaci lze však využít i u biomasy, kterou nelze mokkými postupy jednoduše zpracovat. Jedná se např. o slámu, podestýlku na bázi pilin (v mokré technologii tvoří krusty, ucpává čerpadla, zanáší míchací systém) nebo nedokonale vytríděné bioodpady – příměsi plastů, dřeva, kovů, zeminy.

V následujícím přehledu jsou popsány hlavní pozitiva a negativa obou technologií (Škorvan a kol., 2011).

Hlavní výhody suché fermentace:

- možnost pracovat s heterogenním vstupním materiálem obsahujícím příměsi (plasty, sklo, dřevo, kovy, kamení,...)
- nižší spotřeba procesní vody (substrát není potřeba ředit)
- nižší spotřeba elektrické energie
- menší četnost poruch
- možnost diskontinuálního provozu (např. v návaznosti na svozy BRKO)

Hlavní nevýhody suché fermentace:

- systém není tak dobře provozně a technologicky prověřen
- nižší účinnost rozkladu ve srovnání s mokrou technologií
- nutnost otevřené manipulace s bioodpadem při naskladnění a vyskladnění
- výkyvy produkce bioplynu ve startovací fázi procesu
- zařízení není příliš vhodné pro bioodpady, které vyžadují hygienizaci (např. kuchyňský odpad, jateční odpad) a pro materiály s tekutou konzistencí
- vyšší riziko exploze při vyskladňování materiálu

Hlavní výhody mokré fermentace:

- možnost zpracovávat tekuté materiály
- mnoha aplikacemi ověřený a dobře zvládnutý proces
- stálá produkce bioplynu
- homogenita výstupního digestátu
- s aktivním materiálem se pracuje výhradně v uzavřeném systému (kromě vstupního objektu)

Hlavní nevýhody mokré fermentace:

- nutnost zabezpečit stálý přísun substrátu (problém u BRKO s nerovnoměrnou produkcí)
- náročnost předúpravy bioodpadů (ředění kejdou nebo procesní vodou)
- produkce velkého množství kapalného výstupního digestátu
- v případě přítomnosti nevhodného materiálu (např. biomasa s obsahem antibiotik nebo jiné nebezpečné příměsi) hrozí kolaps celého systému

3.7.3 Další výstupy z BPS

Výstupem jak suché, tak i mokré technologie je vedle bioplynu i zfermentovaný materiál (digestát), u suché fermentace speciálně ještě kapalný perkolát jako výluh z fermentorů. Digestát lze např. pomocí odstředivky rozdělit na tuhý separát a kapalný fugát. Při anaerobní fermentaci dochází k rozkladu 30 – 70 % organické hmoty v závislosti na procesních a materiálových podmínkách. Pokud nejsou výše zmíněné fermentační produkty znečištěny, lze je v určité míře využít v zemědělství jako hnojivo, neboť disponují obsahem důležitých živin (dusík v podobě NH_4^+ , dále i fosfor a draslík). Digestát je též možné dokořmpostovat, použít jej pro rekultivační účely, či jej upravit jako alternativní palivo.

Problémem však je, že v dnešní době nemají čeští zemědělci o tyto suroviny zájem. Důvodem je zejména cena, nedůvěřivost zemědělců a jejich nepružná reakce na nové ekologičtější trendy (Benda a kol., 2012; Poláček a Zgařar, 2013).

3.7.4 Aktuální situace a budoucí vývoj BPS

Jak suchá, tak i mokrá fermentace mají svá pozitiva i negativa a každá technologie je vhodná pro odlišné podmínky. Důležitým aspektem pro výběr technologie je zcela určité předpokládaná skladba zpracovávaných substrátů. Roli hraje teplotní režim procesu a otázkou je i uplatnění všech výstupů z BPS. Základním rozhodovacím dokumentem by měla být studie proveditelnosti, která bere v potaz výše uvedené faktory. Aby mohla být technologie suché fermentace v budoucnu více rozšířena, zajisté potřebuje ještě další intenzivní výzkum, delší provozní zkušenosti a postupné odstranění současných technologických nedostatků (Poláček a Zgařar, 2013).

Problémem je však legislativa v ČR. Komunální BPS uvedené do provozu do konce roku 2012 mají garantovány nižší výkupní ceny a nižší zelené bonusy na elektřinu ze spalování bioplynu než BPS čistě zemědělské. Výši podpory BPS uvedených do provozu v roce 2013 již určuje hodnota instalovaného výkonu. BPS do výkonu 550 kW mají vyšší finanční podporu než BPS tento výkon překračující.

Vzhledem k tomu, že jsou suché technologie vhodné primárně pro zpracování BRO v komunálních BPS, byly oproti mokřým zemědělským BPS finančně znevýhodněny a tím pádem méně konkurenceschopné. Je ale potřeba zdůraznit, že kapalných substrátů ze zemědělství, vhodných pro mokřé technologie, je čím dál méně, neboť stavy hospodářských zvířat neustále klesají. Ředění sypkých substrátů a pak nákladné sušení

a odstředování vznikajícího digestátu je pro mokré technologie značně neefektivní. Množství BRO naopak stále vzrůstá. Technologie suché fermentace by měla mít do budoucna potenciál pro širší uplatnění (Poláček a Zgažar, 2013).

Podle novely zákona č. 310/2013 Sb., kterým se mění zákon č. 165/2012 Sb., o podporovaných zdrojích energie a o změně některých zákonů, ve znění zákona č. 407/2012 Sb., ale není od začátku roku 2014 pro nové BPS realizována provozní podpora žádná. Hlavním důvodem tohoto opatření je zejména nedávný malér s fotovoltaickými elektrárnami v ČR, který nakonec zvyšuje ceny elektřiny z obnovitelných zdrojů energie u koncových odběratelů. Navíc se ČR blíží naplnění Národního akčního plánu, jehož závazný cíl podílu energie z obnovitelných zdrojů na hrubé konečné spotřebě energie je v České republice ve výši 13 % v roce 2020. Již v roce 2013 byl tento podíl cca 11,5 %. S velkou pravděpodobností se tedy v dalších letech velice zpomalí další rozvoj výstavby veškerých bioplynových stanic v ČR.

4. Experimentální část

4.1 Materiál a metodika

Experimentální část této diplomové práce spočívala v měření množství a kvality bioplynu vyprodukovaného v průběhu anaerobní fermentace trávy. Testovány byly vzorky odpadů z údržby zeleně v závislosti na způsobu jejich předúpravy (teploty uskladnění). Jednalo se jednak o intenzivně pěstovaný trávník z fotbalového hřiště v areálu České zemědělské univerzity v Praze (ČZU) a dále o extenzivně pěstovaný parkový trávník ze seče rovněž z areálu ČZU.

Vlastní pokus probíhal od 21. 5. 2013 do 17. 7. 2013, celkem tedy 57 dní. Vsázkové testy (tzv. batch testy) v plynotěsných lahvičkách, ve kterých byla simulována „mokrá“ anaerobní fermentace, byly realizovány v laboratořích Fakulty agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů ČZU, konkrétně na pracovišti Katedry agroenvironmentální chemie a výživy rostlin v Červeném Újezdu. Vedle měření množství a kvality vyprodukovaného bioplynu byla u všech vzorků v lahvičkách (směs travního substrátu, inokula a vody) na počátku i na konci experimentu analyzována CHSK (Chemická spotřeba kyslíku) a hodnota pH. U vlastních travních materiálů byl stanoven procentuální obsah sušiny a v ní zastoupený podíl organických látek a popelovin. U vybraných travních vzorků bylo analyzováno i jejich základní chemické složení.

4.1.1 Charakteristika vstupního materiálu

4.1.1.1 Intenzivně pěstovaný trávník

Testovaný trávník na fotbalovém hřišti v areálu ČZU v Praze tvoří hřišťová travní směs – Rožnovská. Trávník je tvořen pouze jednoděložnými travami z čeledi lipnicovitých (*Poaceae*) a jeho skladba byla následující:

- kostřava červená 'Ferota' **25 %** (*Festuca rubra* L.)
- kostřava červená 'Valaška' **25 %** (*Festuca rubra* L.)
- jílek vytrvalý 'Ahoj' **20 %** (*Lolium perenne* L.)
- jílek vytrvalý 'Bača' **15 %** (*Lolium perenne* L.)
- lipnice luční 'Evora' **10 %** (*Poa pratensis* L.)
- jílek mnohokvětý jednoletý 'Rožnovský' **5 %** (*Lolium multiflorum* Lam.)

Fotbalový trávník je v průběhu vegetačního období sekán jednou týdně. V době, kdy na něm neprobíhají žádná utkání ani tréninky, se k seči přistupuje jednou za 14 dní. Vertikutace, která představuje strojové vyhrabání staré trávy a otevření povrchu vegetační vrstvy, je realizována jednou za rok na jaře. Vodní zálivka je aplikována podle potřeby, ale v maximálním množství 70 m³ vody v rámci jedné aplikace na plochu hřiště o rozměrech 90 x 65 m. Provzdušňování (aerifikace) a pískování fotbalového hřiště bylo realizováno naposledy v roce 2011. Tyto operace zajišťují travnímu porostu lepší přístup vody, vzduchu i důležitých živin. Hřišťový trávník vyžaduje v neposlední řadě pravidelné aplikace herbicidních postřiků proti širokolistým plevelům, jako je smetánka lékařská (*Taraxacum officinale* Web.) či sedmikráska chudobka (*Bellis perennis* L.), a velice důležitou součástí údržby trávníku je bezpochyby hnojení. Časový harmonogram a dávkování konkrétních druhů hnojiv pro fotbalové hřiště v areálu ČZU je následující:

1. – 15. dubna	200 kg	ledek amonný (nebo LAV 27 %)
20. – 25. dubna	200 kg	NPK
15. – 20. května	200 kg	dusičnan amonný (nebo LAV 27 %)
15. – 20. června	200 kg	dusičnan amonný (nebo LAV 27 %)
10. – 15. července	200 kg	NPK
5. – 10. srpna	200 kg	ledek amonný (nebo LAV 27 %)
1. – 5. září	200 kg	dusičnan amonný (nebo LAV 27 %)
20. – 25. září	200 kg	NPK
1. – 5. října	150 kg	draselná sůl

Hnojivo LAV 27 % je ledek amonný s vápencem při obsahu 27 % dusíku, z poloviny v amonné a z poloviny v nitrátové formě. Je tvořeno směsí dusičnanu amonného s jemně mletým vápencem ve formě bělavých až světle hnědých granulí o velikosti 2 až 5 milimetrů.

4.1.1.2 Extenzivně pěstovaný trávník

V odebraném vzorku extenzivně pěstovaného trávníku v areálu ČZU v Praze posečeného v rané fázi růstu byly zastoupeny převážně jednoděložné trávy z čeledi lipnicovitých (*Poaceae*):

- jílek vytrvalý (*Lolium perenne* L.)
- kostřava červená (*Festuca rubra* L.)
- ovsík vyvýšený (*Arrhenatherum elatius* L.)
- lipnice luční (*Poa pratensis* L.)

Zbytek tvořily následující dvouděložné rostliny:

- jetel luční (*Trifolium pratense* L.)
- jetel plazivý (*Trifolium repens* L.)
- jitrocel kopinatý (*Plantago lanceolata* L.)
- mochna plazivá (*Potentilla reptans* L.)
- smetánka lékařská (*Taraxacum officinale* Web.)

Extenzivní trávník je sekán dle potřeby v průběhu vegetačního období celkem pětkrát až šestkrát. V jarních měsících při rychlejším růstu trávníku probíhá seč přibližně jednou za tři týdny, se sběrem a odvozem posekaného materiálu. Naproti tomu v pozdních letních a podzimních měsících, kdy již není růstová produkce trávníku vysoká, je seč realizována v delších intervalech a bez sběru trávy (tzv. mulčování). Vertikutace je realizována stejně jako u intenzivního trávníku vždy na jaře. Tento zákrok podněcuje trávník k intenzivnějšímu růstu. Extenzivní trávník není zaléván a je tedy závislý na množství atmosférických srážek.

Maximálně jednou za rok se aplikuje herbicidní postřik proti dvouděložným plevelům a i přes extenzivní péči je trávník dvakrát ročně hnojen. Na jaře se aplikuje hnojivo NPK s vyšším obsahem dusíku (rostlina jej potřebuje, aby si vytvořila bílkoviny pro růst, nepostradatelný je rovněž pro tvorbu chlorofylu pro fotosyntézu). Případně se přistupuje k jarní aplikaci hnojiva LAV 27 %. Hnojení na podzim je realizováno prostřednictvím hnojiva NPK, tentokrát však s vyšším obsahem draslíku (zvyšuje odolnost vůči suchu, odchýlkám teploty a mrazu).

4.1.2 Předúprava vstupního materiálu

Travní vzorky byly odebrány 6. a 7. května 2013 a následně byly uskladněny při čtyřech různých teplotních režimech po dobu jednoho týdne. Část vzorků byla zamrzána při teplotě -18 °C, část vložena do chladicího boxu při teplotě +3 °C, další část byla volně skladována při teplotě +18 °C a poslední část byla vystavena působení teploty +35 °C.

Poté byly všechny vzorky vloženy do sušárny vyhřáté rovněž na +35 °C, kde došlo k jejich maximálnímu vysušení do konstantní hmotnosti. Běžně se pro sušení do konstantní hmotnosti volí teplota 105 °C, ale v tomto případě byla úmyslně zvolena teplota nižší. Důvodem bylo zachování chemického složení vzorků, neboť tento faktor značně ovlivňuje průběh anaerobní fermentace, produkci a kvalitu bioplynu.

(Pozn.: V experimentální části diplomové práce jsou záměrně vždy před hodnotou teploty skladování uvedena znaménka + nebo -, aby byla zdůrazněna právě kladná či záporná hodnota teploty a nedošlo k její záměně.)

4.1.3 Založení experimentu

Byly založeny 4 varianty testů (dle rozdílného teplotního režimu skladování) jak pro intenzivní, tak i pro extenzivní trávník. Zároveň byla založena varianta referenční – pouze s inokulem (očkovací materiál v podobě anaerobní biomasy provádějící rozklad substrátu) bez obsahu analyzovaných travních vzorků. Produkce bioplynu samotného inokula byla na konci pokusu odečtena od produkce v testovaných lahvičkách s travními substráty. Tak byla získána čistá substrátová produkce bioplynu.

Celkem tedy bylo v experimentu založeno a testováno 9 pokusných variant a každá z nich byla realizována po 5 opakováních (čísla lahviček 1 – 5) z důvodu vyšší reprodukovatelnosti výsledků pokusu. Analogicky byly založeny i lahvičky s číslem 0, které se však nepodrobily vlastnímu testu produkce a kvality bioplynu, ale proběhla u nich analytická stanovení výchozího stavu CHSK a hodnoty pH. Po ukončení vlastního pokusu se realizovaly totožné analýzy i pro testované série lahviček s čísly 1 – 5 a za směrodatné konečné hodnoty jednotlivých analýz byly považovány průměrné hodnoty ze všech pěti lahviček.

Pro získání validního výsledku provedeného testu je důležité jeho efektivní nasazení. To musí být provedeno tak, aby nedošlo k přetížení inokula, inhibici inokula, přílišné nebo naopak nedostatečné produkci bioplynu.

Vlastní testy byly provedeny v hermeticky uzavíratelných lahvičkách SIMAX o objemu cca 120 ml, se šroubovými uzávěry. Do uzávěrů jsou vkládána gumová těsnící septa, která zajišťují plynotěsnost. Skrz tato septa je zároveň pomocí jehly prováděno měření produkce bioplynu nebo přes ně probíhá odběr bioplynu pro analýzu jeho kvality (Rosenberg, 2010).

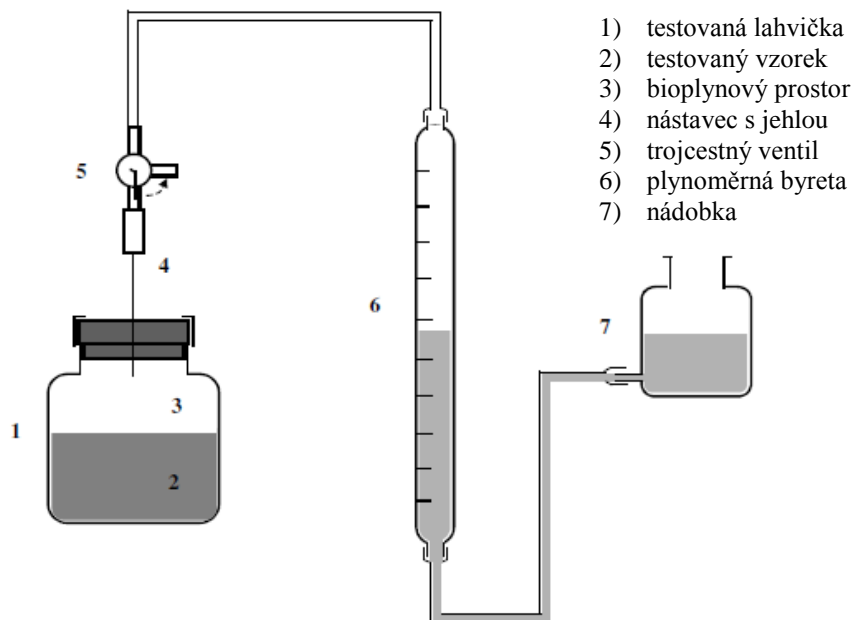
Vzhledem k tomu, že všechny travní vzorky byly vysušeny do konstantní hmotnosti a následně homogenizovány, mohly být všechny lahvičky na počátku pokusu naplněny

shodným množstvím testovaných travních materiálů. Tímto způsobem došlo k zatížení inokula stejným množstvím sušiny. Díky tomu pak bylo možné výsledky pro jednotlivé vzorky jednoduše porovnávat.

Jako optimální zatížení inokula se obvykle doporučuje 0,5 g CHSK (nebo 0,5 g organické sušiny) vzorku na 1 g organické sušiny inokula (Rosenberg, 2010). Pro založení batch testů byly tedy pro všechny varianty podle výše uvedeného vztahu vypočteny navážky materiálů. Do lahvíček se dávkovalo 0,9 g travních substrátů usušených do konstantní hmotnosti a 30 g inokula. Poté byly lahvičky doplněny destilovanou vodou tak, aby celková hmotnost obsahu lahvičky byla 80 g a všechny složky byly třepáním řádně promíchány (Rosenberg, 2010). Veškeré hmotnosti v rámci experimentu se měřily pomocí analytických vah ACJ 320 – 4M (KERN). Jako očkovací materiál (inokulum) byl použit digestát z BPS v Krásné hoře, kde byla jako substrát zpracovávána kukuřičná siláž, travní senáž a hovězí kejda. Lahvičky byly následně umístěny do termokomory a kultivace probíhala v mezofilních podmínkách, při teplotě 40 °C (± 1 °C), po dobu, kdy byla vykazována produkce bioplynu (Rosenberg, 2010).

4.1.4 Měření produkce bioplynu

Obr. č. 6 – Schéma měření produkce bioplynu plynoměrnou byretou



(Rosenberg, 2010)

Bylo použito metody objemového měření produkce plynu, která je založena na principu měření objemu kapaliny plynem vytlačené. Měření bylo prováděno pomocí plynoměrné byrety (viz obrázek č. 6). Ta je naplněna roztokem NaCl titrovaným

na methyloranž. Jedná se o roztok, který neabsorbuje složky bioplynu – a to především CO_2 , který by se ve vodě velmi snadno rozpouštěl, a měření by tím bylo značně ovlivněno.

Měření produkce bioplynu probíhalo v pravidelných časových intervalech. V prvních třech týdnech jednou denně, v pozdějších fázích pokusu byl interval prodlužován v důsledku poklesu produkce a nižší výtěžnosti bioplynu. Takto bylo možné sledovat nejen celkovou produkci bioplynu, ale rovněž i průběh jeho produkce (Rosenberg, 2010).

Na následujícím obrázku č. 7 je zachycena plynoměrná byreta a lahvičky s testovanými substráty v okamžiku měření produkce bioplynu.

Obr. č. 7 – Plynoměrná byreta s testovanými lahvičkami



(vlastní foto, 29. května 2013)

4.1.4.1 Postup měření produkce bioplynu

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

4.1.5 Analýza kvality bioplynu (obsah CH₄)

Měřítkem pro posouzení kvality vyprodukovaného bioplynu je procentuální zastoupení methanu, neboť tento plyn je energeticky nejhodnotnější složkou bioplynu. Analýza zastoupení methanu v bioplynu probíhala pomocí plynového chromatografu Master GC (DANI Instruments a.s.). Plynový chromatograf byl vybaven teplotně vodivostním detektorem (TCD), nosným plynem v přístroji byl vodík.

Plynová chromatografie je metoda určená k dělení a stanovení složení plynů, kapalin a pevných látek s bodem varu do cca 400 °C. Metoda je založena na rozdělování složek mezi dvě fáze – fázi pohyblivou (mobilní) a fázi nepohyblivou (stacionární). Díky tomu mohou být následně jednotlivé složky ze vzorku jednak kvalitativně identifikovány a zároveň i kvantifikovány.

V plynové chromatografii je mobilní fází plyn, zde nazývaný nosný plyn. Stacionární fází je náplň chromatografické kolony. Kolonou se stacionární fází prochází neustále nosný plyn. Analyzovaný vzorek se vnese (nastříkne) do vyhřívané nástřikové komory (injektoru), kde se odpaří a ve formě par je unášen nosným plynem do kolony. Každá složka ze vzorku postupuje kolonou svou vlastní rychlostí závislou na distribuční konstantě složky $K_D = C_s/C_m$, kde C_s a C_m jsou rovnovážné koncentrace složky ve stacionární a v mobilní fázi. V důsledku toho se jednotlivé složky směsi oddělují a postupně vycházejí z kolony v pořadí rostoucích hodnot distribučních konstant. Pak vstupují do detektoru, který indikuje okamžitou koncentraci separovaných látek v nosném plynu. Signál detektoru je plynule registrován. Výsledný grafický záznam závislosti signálu detektoru na čase se nazývá chromatogram (Zachář a Sýkora, 2012).

TCD detektor je založen na principu tepelné vodivosti. Analyzovaný vzorek spolu s nosným plynem prochází měřicí celou. Druhá cela slouží jako referenční a protéká jí pouze

čistý nosný plyn. V obou celách je umístěno žhavicí vlákno. Pokud je tepelná vodivost analyzovaného vzorku vyšší než u referenčního plynu, teplota vlákna se sníží, a naopak. Změna teploty způsobí měřitelnou změnu elektrického odporu, která je přímo úměrná koncentraci analyzované látky ve vzorku (<http://www.linde-gas.cz>).

4.1.5.1 Postup analýzy kvality bioplynu

Vzorky bioplynu pro kvalitativní analýzu je vhodné odebrat před vlastním měřením bioplynové produkce. V každé testované variantě trávnických vzorků bylo dvakrát týdně analyzováno složení bioplynu, a to ze tří lahvíček, rovněž z důvodu vyšší reprodukovatelnosti výsledků.

Vzorky bioplynu jsou odebírány přes septum lahvíček pomocí chromatografické mikrostříkačky o objemu 500 μ l. Mikrostříkačku je potřeba několikrát analyzovaným bioplynem propláchnout a poté nasát 200 μ l pro přímou aplikaci do chromatografu. Jehlou se opatrně propíchně těsnicí septum a obsah mikrostříkačky se rychle vstříkne do injektoru. Po opatrném vyjmutí jehly z nástřiku následuje vlastní analýza procentuálního zastoupení CH_4 v bioplynu pomocí chromatografu.

4.1.6 Procentuální úbytek travních substrátů

V průběhu anaerobní fermentace dochází k odbourávání vstupního organického materiálu za současného vzniku bioplynu. Úbytek travních substrátů, které byly na počátku experimentu dávkovány v množství 0,9 g do testovacích lahvíček, byl vypočítán následujícím způsobem. Před vlastním pokusem i po jeho ukončení byly stanoveny hmotnosti lahvíček, které obsahovaly vlastní travní substrát, inokulum a vodu. Hmotnostní rozdíl počátečního a koncového stavu vyjadřoval celkový úbytek směsi materiálů v lahvíčkách po anaerobní fermentaci a zároveň poukazoval i na hmotnost vyprodukovaného bioplynu, jehož objem byl měřen pomocí plynoměrné byrety. Od hmotnostního rozdílu počátečního a koncového stavu byla odečtena jednak hmotnost úbytku inokula, ale i hmotnost úbytku vody, jež se v podobě vodní páry stala složkou vyprodukovaného bioplynu. Tímto způsobem byla získána hmotnost úbytků travních substrátů. Z hmotností úbytků substrátů a z hmotností počátečních dávek substrátů bylo následně možné vypočítat procentuální úbytek travních materiálů pro všechny varianty.

Absolutní vlhkost plynu (Φ - řecké písmeno velké fi) je hmotnost vodních par připadajících na jednotku objemu sledovaného vlhkého plynu; představuje tedy hmotnostní koncentraci plynné formy vody v plynu,

$$\Phi = \frac{m_v}{V}$$

kde m_v je hmotnost vodních par přítomných v celkovém objemu V vlhkého plynu. Tomu odpovídá jednotka kg/m^3 . Obvykle se používá se i jednotka g/m^3 .

Vodní pára přítomná v plynu se podílí na celkovém tlaku vlhkého plynu svým parciálním (dílčím) tlakem (p_v). Mezi absolutní vlhkostí plynu při jeho dané teplotě a parciálním tlakem vodních par v plynu existuje pevný vztah v podobě modifikované stavové rovnice plynů,

$$p_v = n_v \frac{R \cdot T}{V} = \frac{m_v}{M_v} \frac{R \cdot T}{V} = \Phi \frac{R \cdot T}{M_v}, \quad \Phi = p_v \frac{M_v}{R} \cdot \frac{1}{T}$$

kde n_v je látkové množství vodních par v objemu V vlhkého plynu za jeho termodynamické teploty T , M_v je molární hmotnost vody, R je univerzální plynová konstanta ideálního plynu. Za konstantní teploty se tedy absolutní vlhkost a parciální tlak vodních par mění přímo úměrně. Pro danou teplotu plynu existuje určitá maximální možná absolutní vlhkost, při níž je plyn vodními parami zcela nasycen (<http://fzp.ujep.cz>).

Kapacita plynu pro pohlcení vodní páry nezáleží na tlaku plynu, ale pouze na jeho teplotě a parciálním tlaku vodní páry (Koza, 2004). Dle Rosenberga (osobní sdělení) je bioplyn produkovaný při batch testech vždy zcela nasycen vodní párou. Dle Straky a kol. (2006) 1 m^3 nasyceného bioplynu při $40 \text{ }^\circ\text{C}$ obsahuje $51,14 \text{ g}$ vodní páry. Na základě těchto údajů a vyprodukovaného množství bioplynu byl pro každou variantu vypočítán úbytek vody, která opouštěla systém v podobě vodní páry. Úbytek vody z celkového hmotnostního úbytku lahvíček napříč všemi variantami činil v průměru $3,3 \%$. Průměrná hmotnost úbytku inokula vypočítaná z pěti referenčních lahvíček činila $0,33 \text{ g}$.

Modelový vzorec pro výpočet procentuálního úbytku travního substrátu pro jednu testovanou variantu je následující:

$$\text{úbytek travního substrátu} [\%] = \frac{(M_1 - M_2) - M_3 - M_4}{M_0} \cdot 100$$

M_1 ...průměrná hmotnost lahvičky se směsí materiálů (travní substrát, inokulum, voda) na počátku experimentu [g] (vypočítáno z pěti lahviček)

M_2 ...průměrná hmotnost lahvičky se směsí materiálů (travní substrát, inokulum, voda) na konci experimentu [g] (vypočítáno z pěti lahviček)

M_3 ...průměrná hmotnost úbytku inokula u referenční varianty [g] (vypočítáno z pěti lahviček)

M_4 ...průměrná hmotnost úbytku vody v podobě vodní páry u varianty s travním substrátem [g] (vypočítáno z celkové průměrné produkce bioplynu z pěti lahviček u varianty s travním substrátem, byla zde zároveň zahrnuta i produkce bioplynu referenční varianty pouze s inokulem)

M_0 ...průměrná hmotnost dávkovaného travního substrátu na počátku experimentu [g] (vypočítáno z pěti dávek travního substrátu)

4.1.7 Stanovení obsahu sušiny

Obsah sušiny byl stanoven u travních materiálů, které již podlely týdenní teplotní předúpravě, ale ještě u nich neproběhlo úplné vysušení při +35 °C. Travní vzorky uskladněné při teplotním režimu -18 °C a +3 °C byly po celou dobu předúpravy uzavřeny v mikrotenových sáčkách. Bylo tudíž předpokladem, že by si uvedené vzorky při stanovení obsahu sušiny v této fázi měly uchovat podobný obsah vody, jako by měly totožné travní vzorky v čerstvém stavu ihned po seči. Z důvodu prevence proti hnilobným procesům a tvorbě plísní byly travní vzorky předupravené při teplotách +18 °C a +35 °C skladovány volně bez použití mikrotenových sáčků.

Na počátku byla zvážena samotná hliníková miska, do které bylo naváženo homogenizované množství cca 30 g travního materiálu. Takto připravená miska se vzorkem byla zvážena a vložena na 2 hodiny do sušárny vyhřáté na 105 °C, kde došlo k jeho vysušení do konstantní hmotnosti. Po uplynutí této doby byla miska s vysušeným vzorkem vložena do exsikátoru pro vyrovnání teploty a následně opět zvážena (Horáková a kol., 2000). Obsah sušiny se stanovil dle následujícího vzorce:

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

m_1 ...hmotnost misky [g]

m_2 ...hmotnost misky se vzorkem před vysušením [g]

m_3 ...hmotnost misky se vzorkem po vysušení [g]

4.1.8 Stanovení obsahu organických látek a popelovin v sušině

Obsahu organických látek v sušině travního materiálu odpovídá úbytek hmoty při procesu žihání sušiny. Stanovení ztráty žiháním bylo provedeno následujícím postupem. Zvážená miska s vysušeným vzorkem z předešlého stanovení sušiny byla vložena do pece na dobu min. 3 hodin při teplotě 550 °C. Následně byla vyjmuta z pece a ochlazená v exsikátoru. Takto vyžíhaná miska se vzorkem byla opět zvážena. Ztráta žiháním je určena jako rozdíl hmotnosti vzorku po vysušení (105 °C) a po vyžihání (550 °C) a odpovídá tedy obsahu sušiny organických látek v sušině vzorku. Sušina anorganických látek (popeloviny) v sušině vzorku je následně tvořena zbytkem po vyžihání (Horáková a kol., 2000). Podíl organických látek a popelovin v sušině se vypočítal podle uvedených vzorců:

$$\text{org. látky [\% v sušině]} = \left(1 - \frac{m_4 - m_1}{m_3 - m_1}\right) \cdot 100$$

$$\text{popeloviny [\% v sušině]} = \frac{m_4 - m_1}{m_3 - m_1} \cdot 100$$

m_1 ...hmotnost misky [g]

m_3 ...hmotnost misky se vzorkem po vysušení [g]

m_4 ...hmotnost misky se vzorkem po vyžihání [g]

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

4.1.9 Chemická spotřeba kyslíku

Chemická spotřeba kyslíku (CHSK) je definována jako hmotnostní koncentrace kyslíku, která je ekvivalentní hmotnosti silného oxidačního činidla spotřebovaného za přesně vymezených reakčních podmínek na oxidaci oxidovatelných látek obsažených v 1 litru vzorku v kapalně fázi. Hlavní skupinu těchto oxidovatelných látek tvoří organické látky, které jsou ve vzorku v různé koncentraci obsaženy. CHSK patří tedy mezi nespecifické ukazatele a její hodnota slouží k odhadu množství oxidovatelných organických látek v kapalném vzorku. Udává se obvykle v mg/l (rozumí se mg kyslíku, odpovídající podle stechiometrie spotřebě oxidačního činidla na 1 litr testovaného vzorku) (Horáková, 2003).

Stanovení CHSK_{Cr} – semimikrometodou

Metoda je založena na oxidaci organických látek obsažených ve vzorku dichromanem draselným (K₂Cr₂O₇) v silně kyselém prostředí kyseliny sírové (H₂SO₄) při dvouhodinovém varu (teplota 150 °C ± 2 °C). Oxidace organických látek je katalyzována ionty Ag⁺ a probíhá v nadbytku dichromanu. Pro maskování chloridů, které by byly za podmínek stanovení oxidovány na Cl₂ a způsobovaly by tak při stanovení CHSK_{Cr} pozitivní chybu, se přidává síran rtuťnatý (HgSO₄).

Při oxidaci oxidovatelných látek přítomných ve vzorku se dichromanové ionty (Cr₂O₇²⁻) redukují na ionty chromité (Cr³⁺). Koncentrace chromitých iontů, která je úměrná obsahu organických látek ve vzorku, se stanoví metodou absorpční spektrofotometrie při vlnové délce $\lambda = 600 \text{ nm}$.

Přístroje a pomůcky

1. Mineralizační box na zkumavky s nastavitelnou teplotou 150 °C ± 2 °C.
2. Zkumavky se závitem o průměru 20 mm, výšky 100 mm a se šroubovým uzávěrem odolným teplotě 150 °C, s těsněním z kyselinovzdorného materiálu (silikon potažený teflonovou fólií).
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 $\lambda = 600 \text{ nm}$.

Činidla

1. Oxidační roztok – roztok dichromanu draselného s přídavkem kyseliny sírové a síranu rtuťnatého.
2. Katalyzátorový roztok – kyselina sírová s přídavkem síranu stříbrného.
3. Standardní zásobní roztok hydrogenftalanu draselného – pro vytvoření kalibrace pro stanovení.

Postup stanovení CHSK_{Cr}

Do zkumavky se závitem se odpipetuje 2,5 ml vzorku, pístoventilovými dávkovači se přidá 1,5 ml oxidačního roztoku a 3,5 ml katalyzátorového roztoku. Zkumavka se uzavře

šroubovým uzávěrem, směs se důkladně promíchá. Po vložení zkumavky do mineralizačního boxu se tato zahřívá 2 hodiny při teplotě $150\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Následně se uzavřená zkumavka vyjme z boxu a ochladí. Poté se vloží do kyvetového prostoru spektrofotometru a absorbance se měří při vlnové délce $\lambda = 600\text{ nm}$. Přístroj následně automaticky přepočítá hodnotu absorbance na požadovanou hodnotu CHSK_{Cr} v mg/l (Horáková, 2003; Sýkora, 2003).

4.1.10 Stanovení hodnoty pH

Pod pojmem pH rozumíme zápornou hodnotu dekadického logaritmu aktivity vodíkových iontů (H^+), vyjádřené v molech na litr (mol/l). Pro stanovení hodnoty pH byl využit pH metr s kombinovanou elektrodou (přístroj IQ 150 s elektrodou IS FET PH77 – SS). Tato elektroda tvoří článek sama svým vnitřním uspořádáním.

Postup stanovení hodnoty pH

Analyzovaný vzorek se přelije do kádinky o objemu 50 ml, následně je do ní vložena elektroda, která byla řádně opláchnuta destilovanou vodou a osušena. Po tomto úkonu probíhá vlastní měření až do ustálení hodnoty pH. Před každým dalším měřením je nutné elektrodu opět opláchnout destilovanou vodou a osušit filtračním papírem (Horáková a kol., 2000).

4.1.11 Analýza chemického složení travních substrátů

Analýza chemického složení travních substrátů byla realizována rovněž na půdě ČZU, ale prostřednictvím pracovníků Katedry mikrobiologie, výživy a dietetiky, kam byly čtyři vzorky trávníků odeslány. Jednalo se o dva vzorky intenzivních trávníků (po předúpravě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, $+35\text{ }^{\circ}\text{C}$) a o dva vzorky extenzivních trávníků (po předúpravě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, $+35\text{ }^{\circ}\text{C}$). Analýzy složení proběhly u vzorků, které již podlehly teplotní předúpravě, ale nebyly ještě vysušeny do konstantní hmotnosti. Jednalo se tedy o totožné travní vzorky, u kterých paralelně proběhlo stanovení obsahu sušiny a organických látek, resp. popelovin v sušině zastoupených.

Výsledkem požadované analýzy bylo procentuální zastoupení N – látek (dusíkatých látek), hrubé vlákniny a lipidů ve vzorcích intenzivních a extenzivních trávníků. Podíl bezdusíkatých látek výtažkových (BNVL) byl následně dopočítán. Veškeré výsledky byly nakonec přepočítány na procentuální zastoupení jednotlivých látek v sušině analyzovaných vzorků, aby byly navzájem porovnatelné. Předpokladem bylo, že žádná z teplotních předúprav ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, $+35\text{ }^{\circ}\text{C}$) nezpůsobila změny v chemickém složení vzorků, tudíž mohly být

vypočítány průměrné hodnoty zvlášť z výsledků intenzivních travníků a zvlášť pro travníky extenzivní.

Vzhledem k tomu, že vzorky byly analyzovány na „zakázku“, bude metodika jednotlivých analýz zmíněna pouze velice stručně.

- **N – látky (dusíkaté látky)** byly stanoveny metodou podle Kjeldahla, pomocí přístroje KJELTEC 2400 (FOSS). Jejich množství se vyjadřuje jako obsah dusíku vynásobený koeficientem 6,25, který vychází ze skutečnosti, že proteiny obsahují 16 % dusíku.

princip stanovení: Vzorek se mineralizuje horkou kyselinou sírovou za přítomnosti katalyzátoru. Vzniklý kyselý roztok se následně alkalizuje roztokem hydroxidu sodného. Uvolněný amoniak se predestiluje do přebytku roztoku kyseliny borité a následně se titruje roztokem kyseliny sírové do barevné změny použitého acidobazického indikátoru. Celý proces se skládá ze tří fází – mineralizace, destilace a titrace.

- **Hrubá vláknina** byla analyzována metodou dle Henneberga – Stohmanna s využitím přístroje FIWE 6 (VELP).

princip stanovení: Vzorek se v případě potřeby odtuční a působí na něj postupně vroucí roztok kyseliny sírové a hydroxidu draselného o přesně stanovené koncentraci. Zbytek se oddělí filtrací přes skleněný filtrační kelímek, promyje, vysuší, zváží a spálí při teplotě 550 °C. Úbytek váhy po spálení odpovídá obsahu vlákniny ve zkoušeném vzorku. Hrubá vláknina zahrnuje především celulosu a pouze část hemicelulos a ligninu, které se do určité míry rozpustí při kyselé a alkalické hydrolyze.

- Stanovení **lipidů** proběhlo metodou podle Twiselmanna.

princip stanovení: Obsah tuku ve vzorcích se stanoví na základě jeho rozpustnosti v nepolárních rozpouštědlech, nejčastěji se používá diethylether nebo petrolether. Metodou dle Twiselmanna se tuk stanoví vážkově, po extrakci vzorku příslušným činidlem v Twiselmannově extrakčním přístroji a po následném oddestilování extrakčního činidla a vysušení vyextrahovaného tuku.

- Podíl **BNVL** byl vypočítán dle následujícího vzorce:

$$BNVL [\%] = A - B - C - D - E$$

A...sušina [%]

B...popeloviny [%]

C...N – látky [%]

D...hrubá vláknina [%]

E... lipidy [%]

(Nařízení komise (ES) č. 152/2009; Štercová a kol., 2012)

4.1.12 Statistická analýza dat

Pro zpracování a statistické vyhodnocení veškerých dat v podobě grafů a tabulek byl využit program Microsoft Office Excel 2007 a software STATISTICA 12 (StatSoft ČR, s.r.o.). Jednak byly vyhodnoceny základní popisné charakteristiky polohy a variability, dále následovalo i podrobnější statistické vyhodnocení výsledků prostřednictvím analýzy rozptylu (ANOVA). Součástí vyhodnocení výsledků byla i regresní a korelační analýza, která vypovídá o průběhu, resp. síle závislosti zadaných proměnných.

4.1.12.1 Popisné charakteristiky

Statistické vyhodnocení dat této diplomové práce se skládalo zejména z následujících statistických ukazatelů:

Charakteristiky polohy

- **Aritmetický průměr** – součet všech hodnot kvantitativního statistického znaku vydělený jejich počtem.
- **Medián** – střední hodnota souboru.

Charakteristiky variability

- **Rozptyl** – průměrná kvadratická odchylka měření od aritmetického průměru.
- **Směrodatná odchylka** – druhá odmocnina z rozptylu, která vrací míru rozptýlení do měřítka původních dat (průměrná odchylka od průměru naměřených hodnot).

- **Variační koeficient** – slouží ke srovnávání variability různých statistických znaků a souborů (poměr směrodatné odchylky a aritmetického průměru => variační koeficient je bezrozměrné číslo, jehož stonásobek udává variabilitu v procentech).

4.1.12.2 Analýza rozptylu (ANOVA)

Analýza rozptylu (ANOVA) testuje shodu průměrů více než dvou skupin, které byly podrobeny působení jednoho či více faktorů, jejichž účinek sledujeme. Základní funkce analýzy rozptylu tedy spočívá v posouzení míry působení vlivů nezávislých proměnných na závisle proměnnou kvantitativního typu. Zároveň tato metoda vyhodnocuje odlišnosti a shody průměrů naměřených hodnot (Kába a Svatošová, 2012).

4.2 Výsledky

Vzorky ze dvou odlišně pěstovaných travních porostů (intenzivně a extenzivně) byly uskladněny při 4 různých teplotních režimech. Část vzorků byla zamrzána při -18 °C, část vložena do chladicího boxu při teplotě +3 °C, další část byla volně skladována při +18 °C a poslední část byla ihned po odběru vystavena teplotě +35 °C.

V rámci experimentu trávajícího 57 dní bylo posuzováno celkem 9 sledovaných variant a každá z nich byla realizována po 5 opakováních (čísla lahvíček 1 – 5) z důvodu vyšší reprodukovatelnosti výsledků pokusu. Osm variant bylo představováno testovanými travními substráty a jedna referenční varianta obsahovala pouze inokulum bez travních substrátů. Produkce bioplynu samotného inokula byla následně odečtena od produkce v testovaných lahvíčkách s travními substráty, aby byla získána čistá substrátová produkce bioplynu.

4.2.1 Chemické složení travních materiálů

Chemické složení intenzivně a extenzivně pěstovaných travníků je uvedeno v tabulce č. 6.

Tab. č. 6 – Chemické složení travních materiálů (intenzivní vs. extenzivní travník)

Parametr	Jednotky	Intenzivní travník	Extenzivní travník
Organické látky	% v sušině	93,7	88,4
N - látky	% v sušině	25,4	20,2
Hrubá vláknina	% v sušině	16,4	17,1
Lipidy	% v sušině	1,7	1,5
Popeloviny	% v sušině	6,3	11,6
BNVL	% v sušině	50,2	49,6

Parametr, ve kterém se odlišně pěstované travníky podstatněji liší, a jenž by mohl mít vliv na rozdílnou produkci a kvalitu bioplynu, je obsah N – látek (dusíkatých látek) v sušině, neboť tyto zahrnují proteiny, které zajišťují vysokou výtěžnost kvalitního bioplynu. Ve vzorcích intenzivních travníků byl zjištěn podíl N – látek v sušině 25,4 % a u extenzivních travníků 20,2 %. To znamená, že v relativním poměru intenzivní travníky vykazují téměř o 26 % více dusíkatých látek.

Intenzivně pěstované travníky vykazují v absolutním poměru o 5,3 % vyšší podíl organických látek oproti extenzivním travníkům, což je víceméně rozdíl právě v zastoupení dusíkatých látek. Dalším velice důležitým parametrem z hlediska produkce a kvality bioplynu

je obsah lipidů. Rozdíl v absolutním zastoupení 0,2 % se zdá být mizivý, ale v relativním poměru se jedná již o více než 13 % více lipidů rovněž ve prospěch intenzivních trávníků. Takový rozdíl již může v produkci bioplynu a methanu hrát svou roli. V ostatních naměřených parametrech u analyzovaných trávníků nebyly shledány významné rozdíly.

4.2.2 Analýza produkce a kvality bioplynu

Tabulka č. 7 zobrazuje hodnoty celkové produkce bioplynu v ml u všech testovaných variant o pěti opakováních včetně inokula. V kapitole 9. Samostatné přílohy jsou dále uvedeny tabulky se všemi naměřenými hodnotami produkce bioplynu, ze kterých se veškeré potřebné výpočty primárně odvíjely (viz přílohy č. 1 – 9).

Tab. č. 7 – Celková produkce bioplynu testovaných substrátů a inokula

Varianta	lahvička č. 1 [ml]	lahvička č. 2 [ml]	lahvička č. 3 [ml]	lahvička č. 4 [ml]	lahvička č. 5 [ml]
-18 °C - INT.	576,6	557,8	520,6	529,0	549,2
-18 °C - EXT.	432,6	419,2	389,6	427,6	425,6
+3 °C - INT.	454,6	454,5	426,4	468,4	451,0
+3 °C - EXT.	342,1	345,6	361,6	380,8	346,6
+18 °C - INT.	456,0	475,2	488,6	480,3	449,8
+18 °C - EXT.	253,6	245,0	270,2	260,4	258,8
+35 °C - INT.	463,4	453,0	422,2	477,2	485,2
+35 °C - EXT.	450,0	442,4	408,8	403,2	405,4
inokulum	107,4	122,6	141,4	142,2	127,4

4.2.2.1 Popisné charakteristiky celkové produkce

Do této části analýzy bylo zařazeno devět testovaných variant, každá po pěti opakováních, celkem tedy bylo zpracováno 45 hodnot. Na základě statistických výsledků (viz tabulka č. 8) můžeme říci, že nejvyšší průměrná produkce bioplynu byla zjištěna u varianty intenzivně pěstovaného trávníku, jenž byl skladován při teplotě -18 °C (546,6 ml). Když nebereme v úvahu hodnotu produkce bioplynu u referenční varianty pouze s inokulem, která byla podle očekávání nejnižší (128,2 ml) a odečítala se od všech vzorků s travním substrátem, tak nejméně bioplynu vyprodukovala varianta extenzivně pěstovaného trávníku skladovaného při teplotě +18 °C (257,6 ml).

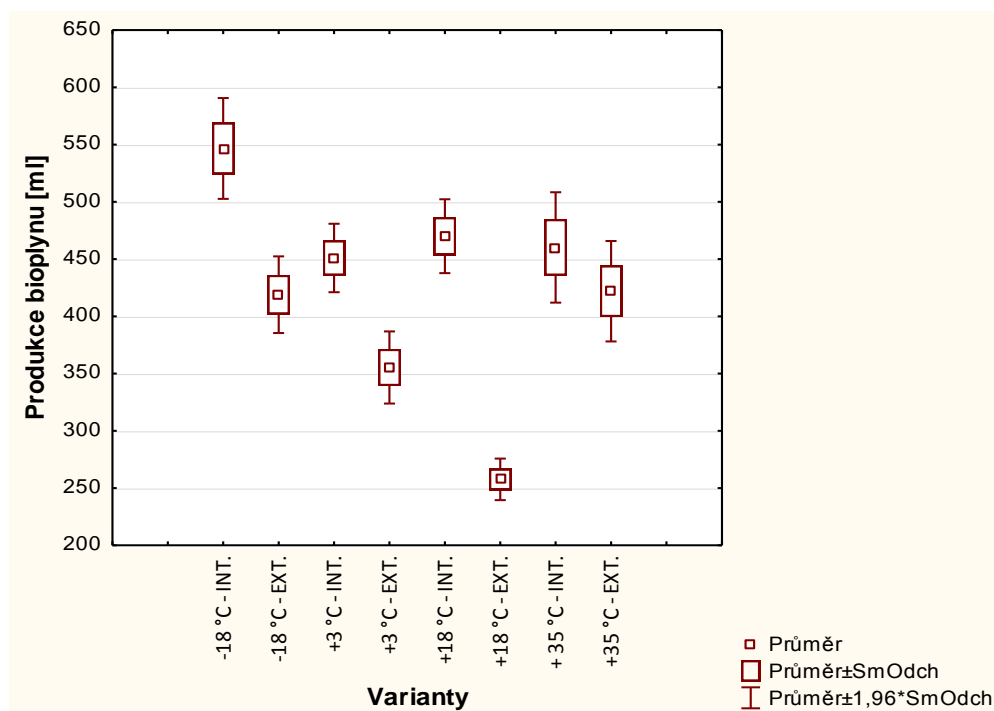
Hodnoty mediánů leží u všech variant velice blízko odpovídajících průměrů, lze tedy usoudit, že naměřené hodnoty byly v jednotlivých variantách velice vyrovnané a poukazují na nepřítomnost extrémních hodnot v souborech. Nejvyšší rozptyl (605,0) a směrodatnou odchylku (24,6 ml) měl vzorek intenzivně pěstovaného trávníku skladovaného při teplotě

+35 °C, ale variabilita činila pouze 5,3 %. Z hodnot vypočtených rozptylů, směrodatných odchylek a variačních koeficientů u jednotlivých variant s travním substrátem můžeme vyvodit obdobný závěr, který nepoukazuje na přítomnost extrémních hodnot ve sledovaných souborech. Pouze referenční varianta s inokulem vykazovala poněkud vyšší variabilitu 11,3 %. Není to ale tak vysoká hodnota, aby zásadně ovlivňovala ostatní výsledky.

Tab. č. 8 – Popisné charakteristiky produkce bioplynu

Varianta	Průměr [ml]	Medián [ml]	Rozptyl	Směrodatná odchylka [ml]	Variační koeficient [%]
-18 °C - INT.	546,6	549,2	504,5	22,5	4,1
-18 °C - EXT.	418,9	425,6	291,7	17,1	4,1
+3 °C - INT.	451,0	454,5	233,3	15,3	3,4
+3 °C - EXT.	355,3	346,6	258,5	16,1	4,5
+18 °C - INT.	470,0	475,2	270,8	16,5	3,5
+18 °C - EXT.	257,6	258,8	85,7	9,3	3,6
+35 °C - INT.	460,2	463,4	605,0	24,6	5,3
+35 °C - EXT.	422,0	408,8	500,8	22,4	5,3
inokulum	128,2	127,4	208,7	14,4	11,3

Graf č. 6 – Krabicový graf s rozložením průměrných hodnot produkcí bioplynu



Krabicový graf č. 6 ještě názorněji zobrazuje rozložení hodnot průměrů produkcí bioplynu u jednotlivých variant. Průměrná produkce bioplynu u pěti z osmi testovaných travníkových variant leží v rozmezí hodnot 400 – 500 ml a tyto varianty jsou si tedy objemem

produkce bioplynu velice blízké. Dále je patrné, že varianta intenzivního trávníku skladovaného při teplotě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ vyprodukovala více než dvojnásobné množství bioplynu ve srovnání s variantou extenzivního trávníku skladovaného při teplotě $+18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.2.2.2 Analýza rozptylu celkové produkce

Analýza rozptylu (ANOVA) představuje zobecnění dvouvýběrového t -testu více než dvou výběrů. Užívá se jí tehdy, sledujeme-li vliv jednoho nebo několika faktorů na zkoumaný kvantitativní statistický znak, a pokud je zapotřebí podrobněji vyhodnotit vztahy mezi průměry analyzovaných hodnot. V této práci byla využita vícefaktorová analýza rozptylu, neboť na výslednou produkci bioplynu jednotlivých variant vzorků působí jednak faktor různého způsobu pěstování trávníků a také faktor různého teplotního režimu skladování substrátů.

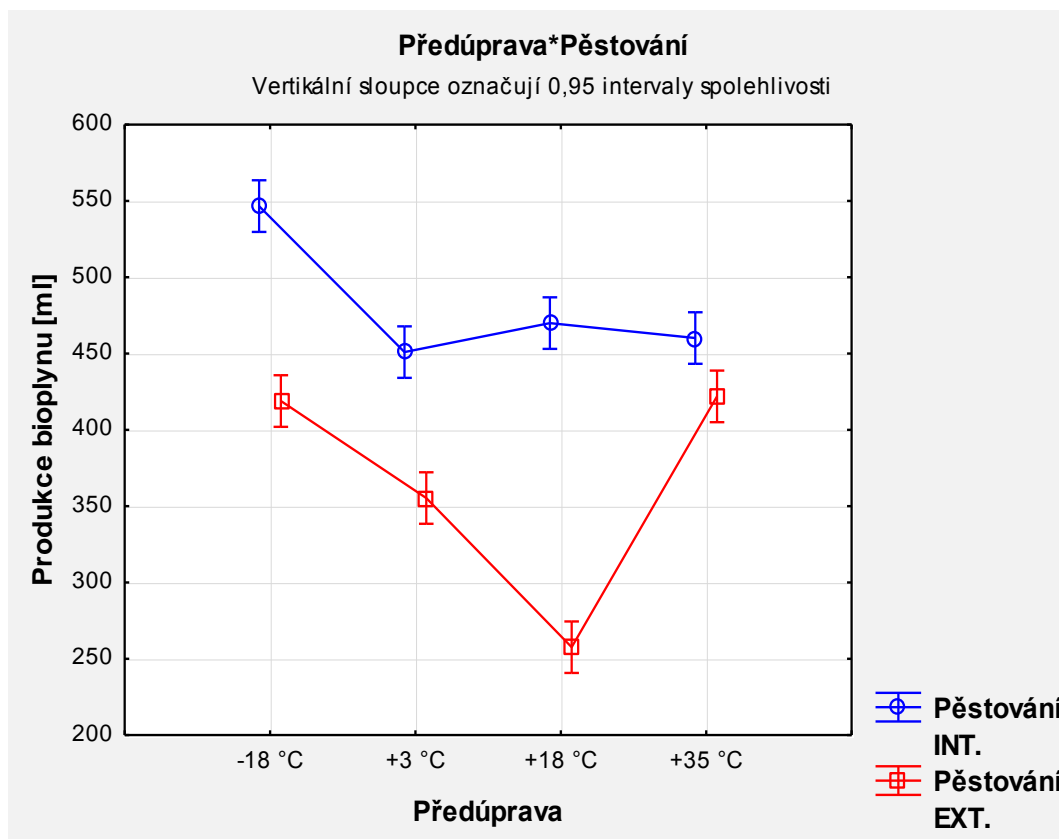
Pro použití analýzy ANOVA musí být splněny následující předpoklady:

- výběry pocházejí z normálního rozdělení dat
- rozptyly jednotlivých výběrů jsou homogenní
- výběry jsou nezávislé (Kába a Svatošová, 2012)

Pro ověření normality vstupních dat byl zvolen Shapirův – Wilksův test a pro ověření předpokladu homogenity rozptylů byl aplikován Leveneův test. Dle výsledků zmíněných testů pocházejí analyzované výběry z normálního rozdělení dat a rovněž splňují požadavky na homogenitu rozptylů vstupních dat. Byly tedy splněny předpoklady pro aplikaci parametrického testu v podobě vícefaktorové analýzy rozptylu (ANOVA).

Graf č. 7 vyjadřuje vliv společného, interakčního působení faktorů předúpravy i pěstování trávníků na celkovou výtěžnost bioplynu. Křivky zobrazené jako spojnice průměrných produkcí bioplynu nepoukazují na spojitost dat, jsou pouze ilustrativní, ale napomáhají lepší přehlednosti grafu a interpretaci výsledků. Vzhledem ke skutečnosti, že jsou modrá a červená křivka v grafu navzájem různoběžné, je potvrzen statisticky významný vliv na výtěžnost bioplynu při současném působení obou faktorů.

Graf č. 7 – Interakční vliv obou faktorů na výtěžnost bioplynu



V grafu č. 7 je očividné, že i ta maximálně produkující varianta extenzivně pěstovaného trávníku vyprodukovala méně bioplynu než minimálně produkující varianta intenzivně pěstovaného trávníku.

Předchozí analýza potvrzuje statisticky významný vliv společného působení obou faktorů na produkci bioplynu. Test významnosti nám ale neříká nic o tom, které z variant testovaných trávníkových substrátů se od ostatních v produkci bioplynu statisticky významně liší. Pro zjištění statisticky významných rozdílů mezi jednotlivými variantami proto byla aplikována modifikace analýzy rozptylu prostřednictvím Post – hoc testu v podobě Scheffého testu. Výsledky zobrazuje tabulka č. 9. Hodnoty menší než zvolená hladina významnosti $\alpha = 0,05$ vyjadřují statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými průměry produkcí bioplynu a jsou zvýrazněny červeně. Čím více se tyto hodnoty blíží nule, tím je rozdíl výraznější. Naopak hodnoty $> 0,05$ poukazují na skutečnost, že se od sebe průměry hodnot statisticky významně neliší. Čím více se tyto hodnoty blíží jedné, tím více se mezi průměry stírá rozdíl.

Tab. č. 9 – Scheffého test

Scheffého test; proměnná: Produkce										
Pravděpodobnosti pro post-hoc testy										
Chyba: meziskup. PČ = 343,79, sv = 32,000										
	Předúpr.	Pěstov.	{1} (546,64)	{2} (418,92)	{3} (450,98)	{4} (355,34)	{5} (469,98)	{6} (257,60)	{7} (460,20)	{8} (421,96)
1	-18 °C	INT.		0,000000	0,000002	0,000000	0,000141	0,000000	0,000017	0,000000
2	-18 °C	EXT.	0,000000		0,406190	0,002204	0,025283	0,000000	0,127989	0,999999
3	+3 °C	INT.	0,000002	0,406190		0,000002	0,910095	0,000000	0,998631	0,536787
4	+3 °C	EXT.	0,000000	0,002204	0,000002		0,000000	0,000002	0,000000	0,001176
5	+18 °C	INT.	0,000141	0,025283	0,910095	0,000000		0,000000	0,998004	0,043325
6	+18 °C	EXT.	0,000000	0,000000	0,000000	0,000002	0,000000		0,000000	0,000000
7	+35 °C	INT.	0,000017	0,127989	0,998631	0,000000	0,998004	0,000000		0,196320
8	+35 °C	EXT.	0,000000	0,999999	0,536787	0,001176	0,043325	0,000000	0,196320	

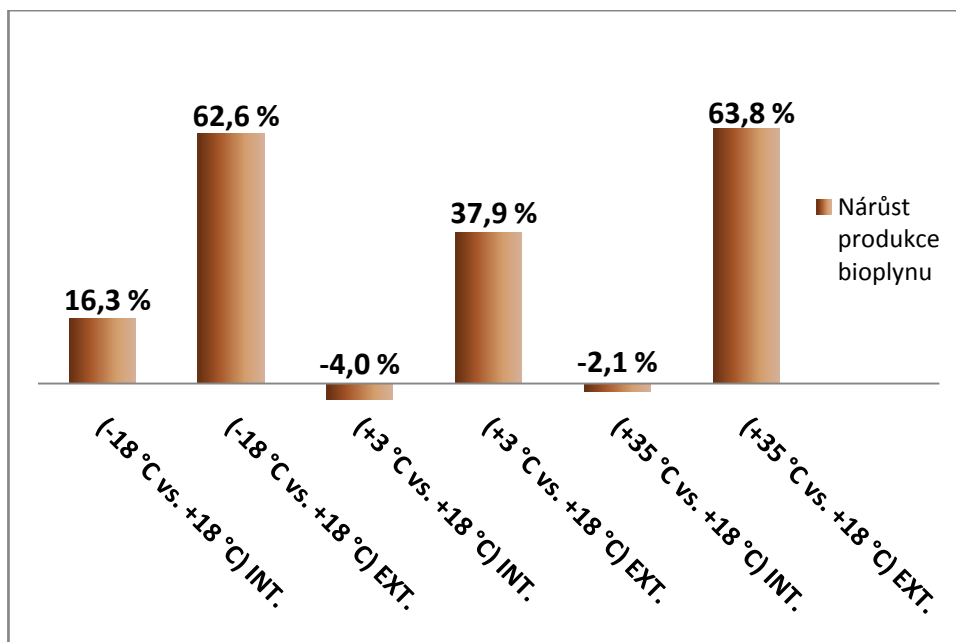
Z výsledků Scheffého testu vyplývá, že naprostá většina testovaných variant se od sebe v produkci bioplynu statisticky významně liší (71,4 % případů). Pouze ve 28,6 % případů není mezi sledovanými variantami ve výtěžnosti bioplynu statisticky významný rozdíl (na hladině významnosti $\alpha = 0,05$). Z variant, které se od sebe statisticky významně neliší, je největší rozdíl mezi variantami 2 a 7, tzn. mezi extenzivním trávníkem skladovaným při -18 °C a intenzivním trávníkem skladovaným při +35 °C. Naopak za téměř totožné se dají považovat varianty 2 a 8, tzn. extenzivně pěstovaný trávník předupravený při teplotě -18 °C a tentýž trávník předupravený při teplotě +35 °C. Obdobný minimální rozdíl vykazují varianty 3 a 7 a rovněž varianty 5 a 7.

4.2.2.3 Vliv faktorů předúpravy a pěstování trávníků na výtěžnost bioplynu

Pro samostatné vyjádření vlivů faktorů působících na produkci bioplynu musela být vždy zvolena určitá referenční hladina, se kterou se naměřené hodnoty produkce bioplynu srovnávaly. V případě porovnání vlivů předúpravy travních vzorků byl za tuto referenční hladinu zvolen teplotní režim předúpravy při +18 °C pro intenzivní a extenzivní trávníky zvlášť. Tyto vzorky byly volně skladovány a vzhledem ke zvolené teplotě by tento režim neměl být v podstatě považován za předúpravu.

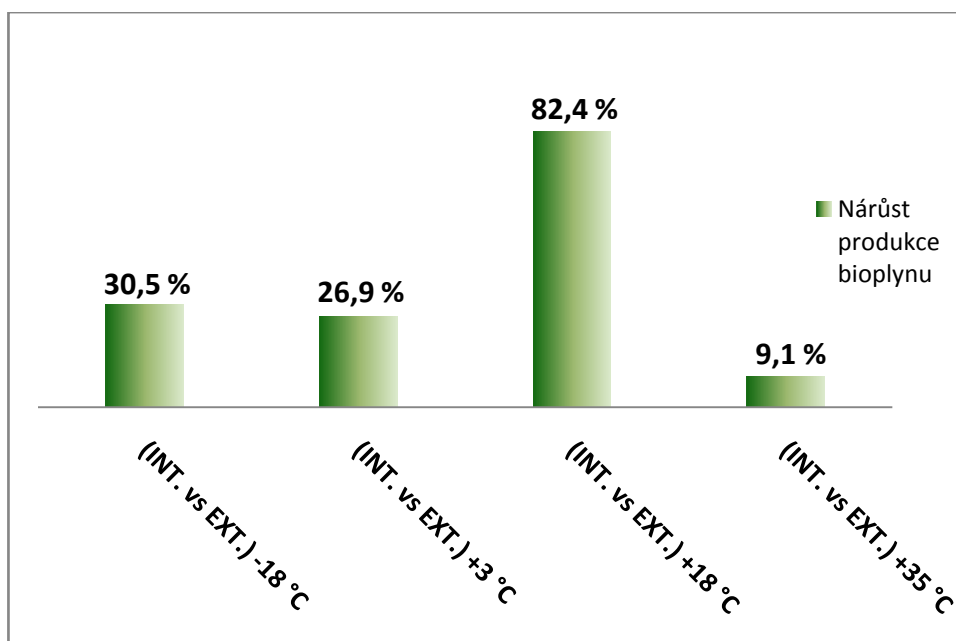
Graf č. 8 tudíž vyjadřuje procentuální nárůst/pokles produkce bioplynu u různých teplotně předupravených vzorků v porovnání se vzorkem „nepředupraveným“. Graf č. 8 znázorňuje, že velmi vysoký vliv na produkci bioplynu měly režimy předúpravy při teplotách -18 °C a +35 °C působící na extenzivně pěstované trávníky. Na druhou stranu mírný pokles ve výtěžnosti oproti „neupravenému“ vzorku vykazaly teplotní předúpravy při +3 °C a +35 °C u intenzivně pěstovaných trávníků.

Graf č. 8 – Vliv teplotní předúpravy na výtěžnost bioplynu



Vliv odlišného způsobu pěstování trávníků na produkci bioplynu je vyjádřen v grafu č. 9. Zde byly za referenční hladinu zvoleny varianty extenzivních trávníků. Graf tedy vypovídá o procentuálním nárůstu výtěžnosti bioplynu intenzivních trávníků v porovnání s variantami extenzivními, vždy za působení zvolené teplotní předúpravy.

Graf č. 9 – Vliv pěstování trávníků na výtěžnost bioplynu



V grafu č. 9 je jasné patrné, že všechny vzorky intenzivně pěstovaných trávníků vyprodukovaly bez ohledu na zvolený režim předúpravy více bioplynu než vzorky

trávníků extenzivních. Při teplotě uskladnění -18 °C vykazaly intenzivní varianty cca o 30 % vyšší produkci bioplynu oproti variantám extenzivním a při pohledu na výsledky vzorků volně skladovaných při +18 °C byla výtěžnost intenzivních variant oproti extenzivním vyšší dokonce o více než 82 %.

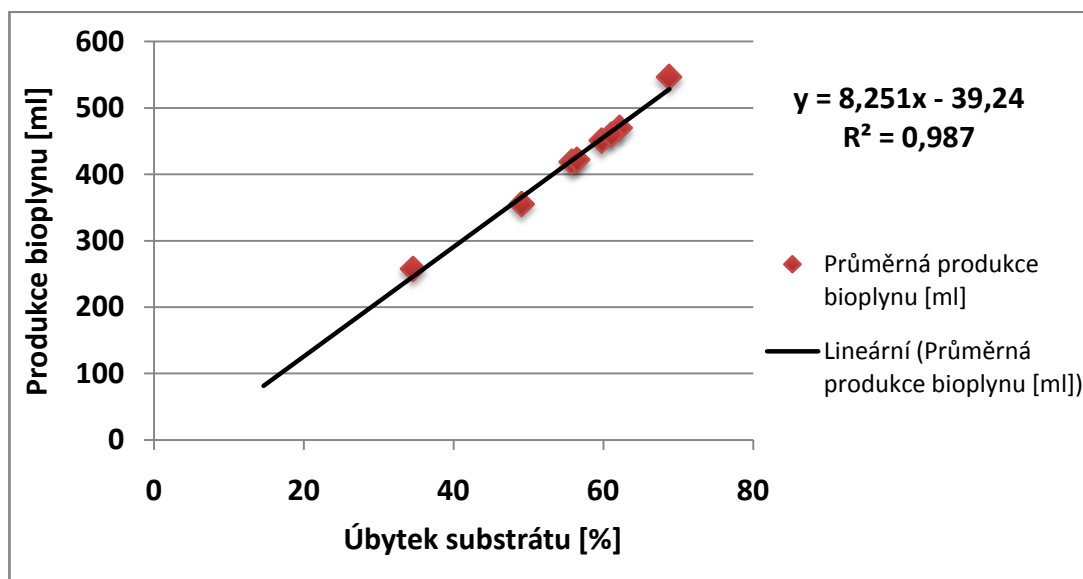
4.2.2.4 Závislost celkové produkce na úbytku substrátu

Informaci o závislosti produkce bioplynu jednotlivých testovaných variant na množství odbouraného trávníkového materiálu v lahvičkách podává následující tabulka a graf, obojí s č. 10. Byla zde aplikována regresní a korelační analýza, která vypovídá o průběhu, resp. síle závislosti zadaných proměnných. Závislou proměnnou byla zvolena produkce bioplynu a nezávislou proměnnou byl úbytek travního substrátu.

Tab. č. 10 – Průměrná produkce bioplynu a úbytek travního substrátu v lahvičkách

Varianta	Úbytek travního substrátu [%]	Průměrná produkce bioplynu [ml]
-18 °C - INT.	68,8	546,6
-18 °C - EXT.	55,8	418,9
+3 °C - INT.	59,8	451,0
+3 °C - EXT.	49,1	355,3
+18 °C - INT.	62,2	470,0
+18 °C - EXT.	34,6	257,6
+35 °C - INT.	61,1	460,2
+35 °C - EXT.	56,5	422,0

Graf č. 10 – Závislost produkce bioplynu na úbytku travního substrátu



Varianta intenzivního trávníku předupraveného při -18 °C vyprodukovala cca dvojnásobné množství bioplynu (546,6 ml) ve srovnání s variantou extenzivního trávníku skladovaného při teplotě +18 °C (257,6 ml). Tato skutečnost velmi úzce souvisí s množstvím odbouraného travního materiálu v lahvičkách, neboť u intenzivní varianty skladované při teplotě -18 °C bylo odbouráno rovněž cca dvojnásobné množství vloženého travního substrátu (68,8 %) oproti variantě extenzivní skladované při +18 °C (34,6 %).

V grafu č. 10 lze jednoznačně vidět, že průběh závislosti produkce bioplynu na úbytku substrátu lze považovat za téměř lineární. O síle závislosti vypovídá koeficient determinace $R^2 = 0,987$, který vyjadřuje, že z 98,7 % je produkce bioplynu přímo úměrná úbytku travního substrátu v lahvičkách.

4.2.2.5 Odbourávání organických látek

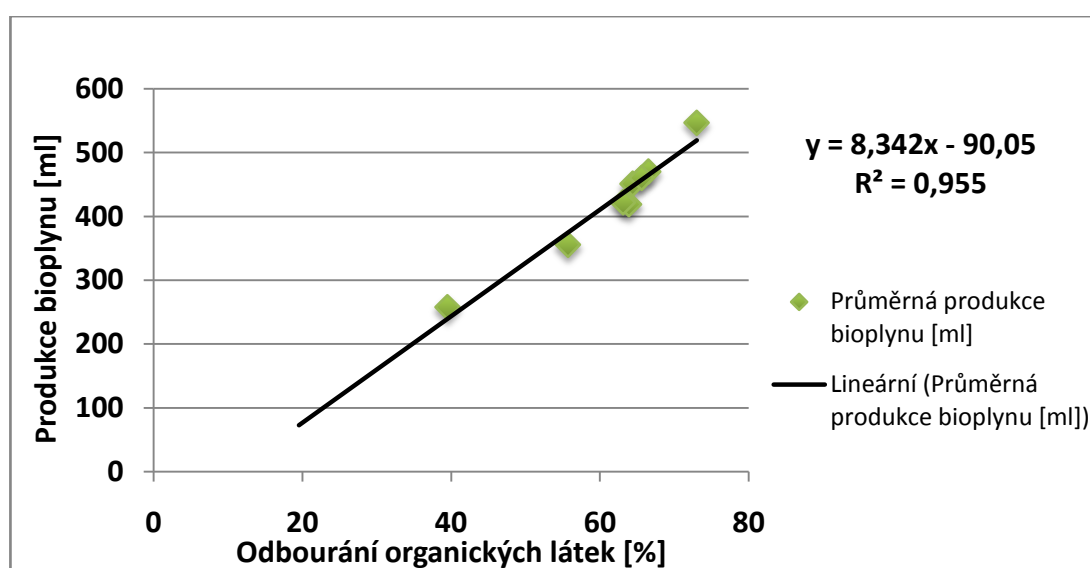
Vzhledem k tomu, že na počátku experimentu byla do lahviček dávkována travní hmota v podobě sušiny, tak procentuální úbytek travního materiálu v lahvičkách po ukončení pokusu odpovídá procentuálnímu úbytku organických látek z dávky travní sušiny, neboť v průběhu anaerobní fermentace dochází k odbourávání pouze organické hmoty. Na počátku pokusu byl stanoven podíl sušiny organických látek v sušině travních vzorků, které byly následně dávkovány do lahviček, a tudíž lze z této počáteční hodnoty a z hodnoty procentuálního úbytku sušiny organických látek ze sušiny travních vzorků určit procentuální odbourání veškerých organických látek v průběhu experimentu u jednotlivých testovaných variant.

Tab. č. 11 – Sušina, organická sušina, popeloviny, organické látky a jejich odbourávání

Varianta	Sušina travních vzorků [%]	Organické látky [% ze sušiny]	Popeloviny [% ze sušiny]	Účinnost odbourávání org. látek [%]	Průměrná produkce bioplynu [ml]
-18 °C - INT.	28,1	94,2	5,8	73,0	546,6
-18 °C - EXT.	21,8	87,3	12,7	63,9	418,9
+3 °C - INT.	28,1	92,9	7,1	64,4	451,0
+3 °C - EXT.	18,2	88,1	11,9	55,7	355,3
+18 °C - INT.	29,1	93,5	6,5	66,5	470,0
+18 °C - EXT.	24,5	87,5	12,5	39,5	257,6
+35 °C - INT.	98,9	93,1	6,9	65,6	460,2
+35 °C - EXT.	98,2	89,5	10,5	63,1	422,0

Z výsledků uvedených v tabulce č. 11 lze vyčíst, že nejvyšší hodnotu odbourání organických látek (73,0 %) vykázal nejvíce bioplyn produkující vzorek v podobě intenzivního trávníku (-18 °C), zatímco nejnižší hodnota (39,5 %) byla prokázána u nejméně bioplyn produkující varianty, což byl extenzivní trávník (+18 °C). Procentuální odbourání organických látek značně koresponduje s hodnotami úbytků travních substrátů. Graf č. 11 sestrojený rovněž na základě regresní a korelační analýzy dokazuje, že průběh závislosti produkce bioplynu tentokrát na hodnotě odbourávání organických látek je opět víceméně lineární. Koeficient determinace $R^2 = 0,955$ (95,5 %) vykazuje mírný pokles oproti hodnotě v předchozím grafu, ale stále vypovídá o velice silné závislosti mezi zadanými proměnnými.

Graf č. 11 – Závislost produkce bioplynu na hodnotě odbourávání organických látek



4.2.2.6 Kumulativní produkce a analýza kvality bioplynu

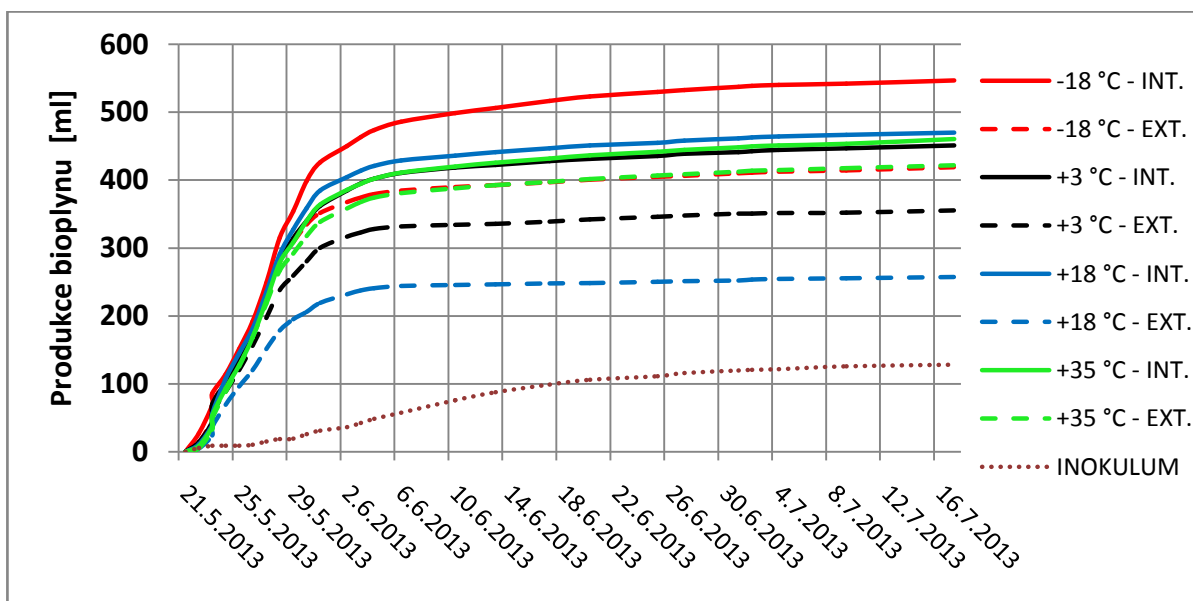
Celková produkce bioplynu byla čistě souhrnným ukazatelem, ale nevypovídala nic o vlastním průběhu produkce. K získání přehledu o průběhu produkce bioplynu nám může posloužit grafické vyjádření tzv. kumulativní produkce.

Průběh produkce bioplynu v celém experimentu je téměř analogický pro všechny testované varianty a lze je rozdělit do tří období. V prvním období, které trvalo přibližně týden, probíhala nejintenzivnější produkce bioplynu a zároveň došlo ke strmému nárůstu obsahu methanu v bioplynu (viz graf č. 12 a 13). Ve druhém období trvajícím opět cca týden byl sledován pozvolný úbytek bioplynové produkce, ale procentuální zastoupení CH_4 naopak nabývalo v této fázi u většiny testovaných variant maximálních hodnot. Třetí, nejdelší období (cca 44 dní) bylo charakterizováno postupným snižováním produkce bioplynu, která se v posledních fázích tohoto období blížila téměř k nulovým hodnotám.

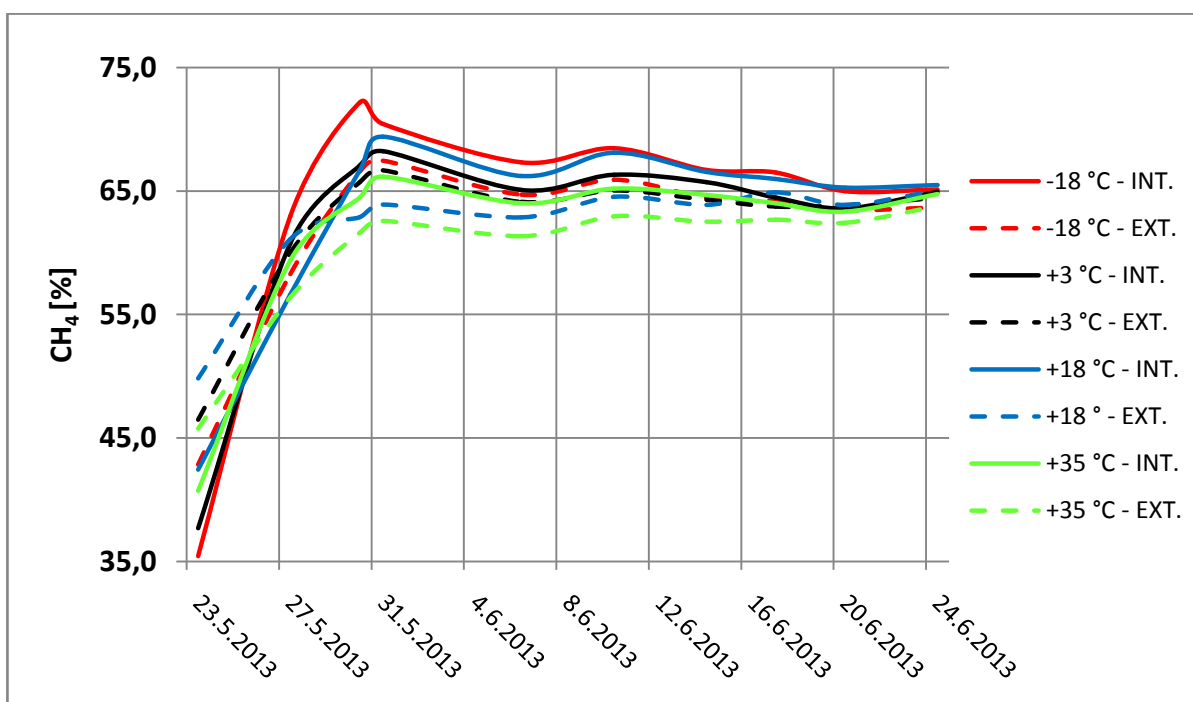
Obsah methanu v průběhu posledního období rovněž poklesl, ale až do ukončení experimentu se jeho zastoupení v bioplynu drželo napříč všemi variantami okolo uspokojivých 65 %.

Již z předchozí analýzy celkové produkce bioplynu bylo prokazatelné, že nejvyšších hodnot celkové produkce bylo dosaženo u trávníků, které byly před experimentem intenzivně pěstovány, a kumulativní graf č. 12 tuto skutečnost dále potvrzuje. Intenzivní varianty zároveň v průměru dosáhly i vyšší kvality vyprodukovaného bioplynu (viz graf č. 13).

Graf č. 12 – Kumulativní produkce bioplynu v závislosti na čase



Graf č. 13 – Procentuální zastoupení CH₄ v bioplynu v závislosti na čase



Od 24. 6. 2013 až do ukončení měření vykazovalo zastoupení methanu v bioplynu u jednotlivých variant víceméně konstantní hodnotu. Z tohoto důvodu mohly být hodnoty procentuálního zastoupení methanu v bioplynu zaznamenané v grafu č. 13 kvůli jeho přehlednosti znázorněny pouze do výše uvedeného data, aniž by byla zakreslena vypovídací hodnota grafu. Průměrné hodnoty procentuálního zastoupení methanu v bioplynu pro jednotlivé testované varianty jsou znázorněny v příloze č. 10 (viz kapitola 9. Samostatné přílohy).

Maximálního množství methanu v bioplynu dosáhl vzorek intenzivního trávníku skladovaný při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (72,2 % CH_4). Maxima naměřených hodnot methanu u intenzivních trávníků leží v rozmezí 66,1 – 72,2 % CH_4 . Z extenzivních variant vyprodukoval nejkvalitnější bioplyn vzorek skladovaný rovněž při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (67,5 % CH_4) a maxima naměřených hodnot CH_4 u extenzivních trávníků leží v rozmezí 63,8 – 67,5 % CH_4 .

Bez ohledu na původní způsob pěstování trávníků produkovaly bioplyn s nejvyšším zastoupením methanu testované substráty skladované při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (průměr max. hodnot 69,9 % CH_4) a naopak nejméně kvalitní bioplyn, ale přesto s velice uspokojivým podílem methanu, vyprodukovaly sledované varianty skladované při teplotě $+35\text{ }^{\circ}\text{C}$ (průměr max. hodnot 65,0 % CH_4).

4.2.2.7 Kumulativní produkce methanu

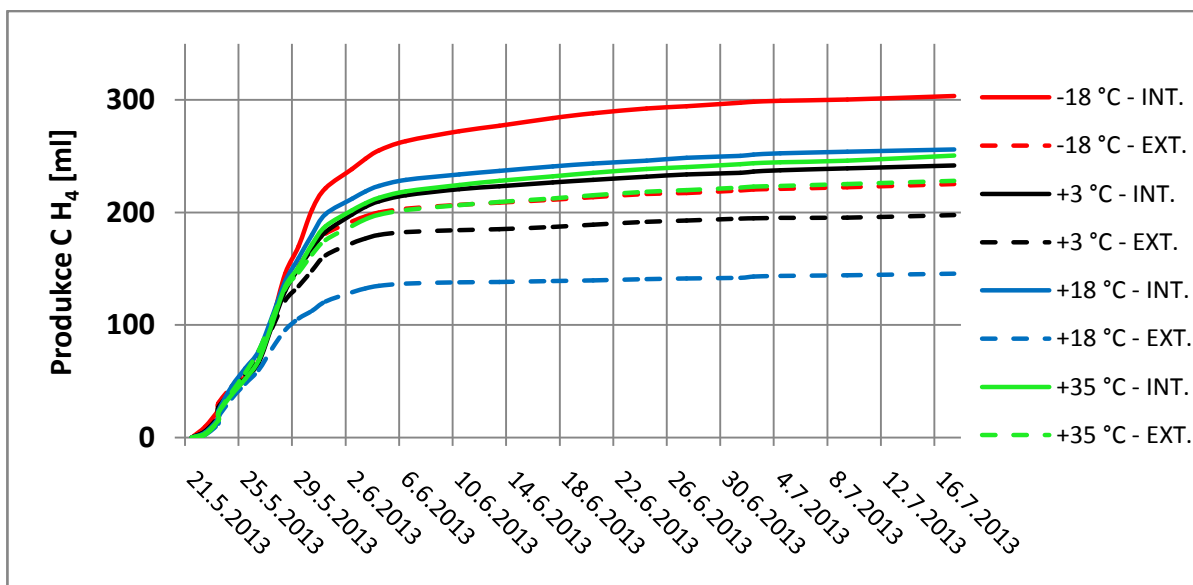
Vzhledem k tomu, že methan je energeticky nejhodnotnější složkou bioplynu, byl rovněž sestrojen graf jeho kumulativní produkce v průběhu experimentu. Je ale nutné podotknout, že v průběhu pokusu nebylo z časových důvodů možné měřit podíl methanu v bioplynu stejně často jako bioplynovou produkci a graf č. 14 je již tedy zatížen určitou statistickou chybou spočívající v následujícím způsobu výpočtu vlastní produkce CH_4 .

Průměrná denní produkce bioplynu byla vynásobena průměrnou hodnotou procentuálního zastoupení methanu, přičemž ve dnech, kdy nebyla kvalita bioplynu měřena, byla pro výpočet použita poslední naměřená hodnota procentuálního zastoupení methanu v bioplynu. Takto byly získány průměrné denní produkce methanu pro jednotlivé varianty, na jejichž základě bylo možné sestrojít kumulativní graf methanové produkce.

Mezi grafem č. 14 (kumulativní produkce CH_4) a grafem č. 12 (kumulativní produkce bioplynu) je patrná jasná analogie. Výtěžky methanu jsou zákonitě nižší, ale průběhy produkcí jsou v obou grafech velice podobné. Když vezmeme v úvahu např. vzorky trávníků uskladněné při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, tak se u produkce methanu ještě více prohlubuje rozdíl mezi intenzivní a extenzivní variantou, neboť bioplyn produkovaný ze vzorků intenzivního trávníku byl

celkově kvalitnější. Při teplotě uskladnění $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ vykázaly vzorky intenzivních trávníků o téměř 35 % vyšší průměrnou produkci methanu oproti variantám extenzivním. Tento obdobný ukazatel u produkce bioplynu jako takového vypovídal o vyšší produkci intenzivních trávníků oproti extenzivním o cca 30 %.

Graf č. 14 – Kumulativní produkce CH_4 v závislosti na čase



4.2.2.8 Měrná produkce methanu

Na počátku experimentu jsme dávkovali známé množství sušiny travních materiálů (0,9 g). U těchto vzorků byl rovněž stanoven podíl organických látek v sušině a v neposlední řadě byla vypočtena i celková produkce methanu pro každou testovanou variantu. Z těchto údajů mohly být následně vypočítány měrné produkce CH_4 v l/kg sušiny a v l/kg organické sušiny (viz tabulka č. 12).

Tab. č. 12 – Měrná produkce CH_4

Varianta	Výtěžek CH_4 [l/kg sušiny]	Výtěžek CH_4 [l/kg org. sušiny]
-18 °C - INT.	337,3	358,1
-18 °C - EXT.	250,4	286,8
+3 °C - INT.	268,6	289,1
+3 °C - EXT.	219,7	249,4
+18 °C - INT.	284,6	304,4
+18 °C - EXT.	161,7	184,8
+35 °C - INT.	278,4	299,0
+35 °C - EXT.	253,4	283,1

Měrný výtěžek methanu se u intenzivních trávníků pohyboval v rozmezí od 289,1 do 358,1 litrů CH₄/kg organické sušiny. Extenzivní varianty vykazují opět nižší hodnoty, konkrétně v intervalu od 184,8 do 286,8 litrů CH₄/kg organické sušiny.

Při teplotě uskladnění -18 °C vykázaly v přepočtu na kg organické sušiny vzorky intenzivních trávníků o cca 25 % vyšší průměrnou produkci methanu oproti variantám extenzivním. Tento obdobný ukazatel u produkce bioplynu a methanu vztažený k navážce vzorku (0,9 g) vypovídal o vyšší produkci intenzivních trávníků oproti extenzivním cca o 30, resp. 35 %.

4.2.3 CHSK_{Cr}

Stanovení chemické spotřeby kyslíku (CHSK_{Cr} – semimikrometodou) s dichromanem draselným (dále jen CHSK) u vzorků z testovaných lahviček bylo pro každou variantu provedeno před zahájením experimentu a rovněž po jeho ukončení (viz tabulka č. 13). Analyzované vzorky byly již směsí travního substrátu, inokula a vody. Ze získaných počátečních a koncových hodnot CHSK byla opět u všech testovaných variant vypočtena míra odbourání chemicky oxidovatelných organických látek. Hodnota odbourání v % byla získána jako podíl hodnoty CHSK na konci a na počátku pokusu, který se odečetl od jedné a celý takto získaný výsledek byl vynásoben 100.

Tab. č. 13 – Porovnání počáteční a koncové hodnoty CHSK

Varianta	CHSK počátek [mg/l]	CHSK konec [mg/l]	Odbourání CHSK [%]	Průměrná produkce bioplynu [ml]
-18 °C - INT.	16 440	11 536	29,8	546,6
-18 °C - EXT.	16 180	12 438	23,1	418,9
+3 °C - INT.	15 660	12 805	18,2	451,0
+3 °C - EXT.	16 770	12 760	23,9	355,3
+18 °C - INT.	15 810	11 780	25,5	470,0
+18 °C - EXT.	15 260	13 090	14,2	257,6
+35 °C - INT.	15 560	12 376	20,5	460,2
+35 °C - EXT.	16 270	11 509	29,3	422,0

Z výsledků je patrné, že hodnoty odbourání CHSK příliš nekorrespondují s mírou celkové produkce bioplynu. Přestože nejvíce bioplyn produkující varianta v podobě intenzivního trávníku (-18 °C) vykazuje i nejvyšší hodnotu odbourání CHSK (29,8 %), a zároveň nejméně bioplyn produkující varianta zastoupena extenzivním trávníkem (+18 °C) je spojena s nejnižší hodnotou odbourání CHSK (14,2 %), není možné vzhledem k výsledkům

u ostatních variant hovořit o lineární závislosti produkce bioplynu na míře odbourávání CHSK.

4.2.4 Hodnota pH

Hodnota pH byla stejně jako CHSK měřena před vlastním pokusem a poté po jeho ukončení. Analýza probíhala opět u vzorků z testovaných lahviček tvořených směsí travního substrátu, inokula a vody. Zároveň se hodnota pH stanovovala i u referenční lahvičky pouze s inokulem a vodou.

Tab. č. 14 – Porovnání počáteční a koncové hodnoty pH

Varianta	pH počátek	pH konec
-18 °C - INT.	8,08	7,43
-18 °C - EXT.	8,06	7,40
+3 °C - INT.	8,10	7,51
+3 °C - EXT.	8,09	7,50
+18 °C - INT.	8,21	7,54
+18 °C - EXT.	8,40	7,49
+35 °C - INT.	8,07	7,41
+35 °C - EXT.	8,11	7,43
inokulum	8,42	7,50

Z tabulky č. 14 je zřejmé, že všechny vstupní vzorky vykazovaly hodnotu pH v mírně alkalickém prostředí. Hodnota pH většiny vstupních vzorků se pohybovala kolem 8,10. U vzorku extenzivního trávníku (+18 °C) však byla naměřena hodnota pH = 8,40 a hodnota pH samotného inokula byla nejvyšší, konkrétně tedy 8,42.

Všechny hodnoty pH stanovené po ukončení experimentu se pohybovaly v rozmezí 7,40 – 7,54. O těchto hodnotách je možné říci, že se nacházejí u horní hranice neutrality a vypovídají tedy o optimálních podmínkách z hlediska pH pro činnost anaerobních methanogenních bakterií.

5. Diskuse

Tato diplomová práce byla zaměřena zejména na sledování vlivů různých režimů teplotní předúpravy a rozdílného způsobu pěstování travníků na výši produkce a kvalitu bioplynu při anaerobní fermentaci travních materiálů. Vlastní experiment trvající 57 dní byl realizován v podobě vsázkových testů (tzv. batch testů) v plynotěsných lahvičkách, ve kterých byla simulována „mokrý“ anaerobní fermentace. Vedle měření množství a kvality vyprodukovaného bioplynu byla u všech vzorků v lahvičkách (již ve směsi travního materiálu, inokula a vody) na počátku i na konci pokusu měřena CHSK a hodnota pH. U samostatných travních materiálů byl na počátku experimentu stanoven procentuální obsah sušiny a v ní zastoupený podíl organických látek a popelovin. U vybraných travních vzorků bylo analyzováno i jejich základní chemické složení.

Když odhlédneme od vzorků uskladněných při +35 °C, které již vlastní předúpravou byly vysušeny téměř do konstantní hmotnosti (obsah sušiny 98,2 – 98,9 %), tak obsah sušiny ostatních vzorků intenzivně pěstovaných travníků se pohyboval v intervalu od 28,1 do 29,1 % (průměrně 28,4 %), kdežto extenzivně pěstované travníky vykazovaly obsah sušiny v rozmezí 18,2 až 24,5 % (průměrně 21,5 %), (viz tabulka č. 11, str. 68). Intenzivní travník je pravidelně zaléván a při spadu stejného množství atmosférických srážek v rámci areálu ČZU na oba travníky musí mít intenzivní travník zákonitě vyšší míru závlahy a měl by tedy vykazovat větší obsah vody v pletivech, než travník extenzivní. Nižší obsah vody u intenzivních travníků mohl být tedy způsoben tím, že intenzivní travník byl posekán ještě v ranější fázi růstu než travník extenzivní, a větší plocha listů extenzivních travníků dokázala i přes nižší míru závlahy naakumulovat do svých pletiv více vody. Tato skutečnost zajisté souvisí i s tím, že extenzivní porost obsahoval vedle jednoděložných travin i rostliny dvouděložné s většími listy.

Stražil a kol. (2011) při svých pokusech s luční (extenzivní) travní biomasou naměřili hodnoty obsahu sušiny 22,2 – 31,0 % (viz tabulka č. 4, str. 32). Mužík a kol. (2006) udávají obsah sušiny čerstvě posečené trávy v intervalu 15 – 25 % (viz tabulka č. 3, str. 31). Je evidentní, že obsah sušiny posečené trávy se běžně pohybuje od 15 % až do cca 30 %. Můžeme říci, že tyto proměnlivé hodnoty jsou úzce spjaté s množstvím atmosférických srážek, případně s jinou závlahou a nejspíše tedy i s různou fenologickou fází analyzovaných porostů, které se navíc mohou lišit v čeledích zastoupených rostlin. Obsahy sušiny u vzorků volně skladovaných při +18 °C korespondují s naměřenými hodnotami Stražila a kol. (2011).

Náš původní předpoklad, že by si travní vzorky uzavřené po celou dobu teplotní předúpravy (-18 °C a +3 °C) v mikrotenových sáčcích měly uchovat podobný obsah vody, jako by měly čerstvé travní vzorky ihned po seči, byl víceméně naplněn.

Zastoupení organických látek v sušině travních materiálů se u intenzivních variant pohybovalo od 92,9 do 94,2 % (průměrně 93,4 %) a u extenzivních variant od 87,3 do 89,5 % (průměrně 88,1 %), (viz tabulka č. 11, str. 68). S tím zákonitě koresponduje množství popelovin, které je u každé varianty vždy doplňkem do 100 % obsahu sušiny. V relativním poměru zhruba o 6 % vyšší podíl organických látek v sušině u intenzivních trávníků může být vysvětlen právě odlišným způsobem pěstování porostů. Intenzivnější hnojení, závlaha, seč, ale i jiná agrotechnická opatření mohou mít vliv na obsah látek, které rostliny syntetizují. Intenzivní a extenzivní trávníky se navzájem lišily i v některých čeledích zastoupených rostlin. Samozřejmě i tento faktor může mít vliv na podíl organických látek v sušině travních směsí a následnou produkci bioplynu. Nicméně z důvodu komplikované skladby travních směsí je tato hypotéza v našem experimentu neprokazatelná.

Mužík a kol. (2006) udávají podíl organických látek v sušině čerstvě posečené trávy v rozmezí 80 – 92 % (viz tabulka č. 3, str. 31). Podle Strašila a kol. (2011) byl u lučních travních vzorků stanoven průměrný obsah organické hmoty v sušině na 92,5 % (viz tabulka č. 4, str. 32). Nyní vezměme v úvahu naše vzorky trávníků, u kterých bylo zároveň analyzováno jejich chemické složení. Jednalo se o dva vzorky intenzivních trávníků (po předúpravě -18 °C, +35 °C) a o dva vzorky extenzivních trávníků (po předúpravě -18 °C, +35 °C). Vzorky intenzivních trávníků vykazovaly 93,7 % organických látek v sušině. V případě extenzivních variant byla tato hodnota 88,4 % (viz tabulka č. 6, str. 60). Při porovnání našich výsledků s literaturou nejsou zřetelné významné rozdíly, ale námi udávaný podíl 93,7 % organických látek v sušině, který je ze všech hodnot nejvyšší, by i zde mohl mít opodstatnění v míře intenzity péče o trávníky. Udávaná čísla obou výše uvedených autorů a jejich kolektivů se totiž týkají spíše extenzivních porostů.

Výsledkem analýzy chemického složení a následných výpočtů bylo procentuální zastoupení dusíkatých látek, hrubé vlákniny, lipidů a bezdusíkatých látek výtažkových v sušině travních vzorků (viz tabulka č. 6, str. 60).

Parametr, ve kterém se odlišně pěstované trávníky nezanedbatelně liší, a jenž by mohl mít výrazný vliv na odlišnou produkci a kvalitu bioplynu, je obsah N – látek (dusíkatých látek) v sušině, neboť tyto zahrnují proteiny, které zajišťují vysokou výtěžnost kvalitního bioplynu. Ve vzorcích intenzivních trávníků byl zjištěn podíl N – látek v sušině 25,4 % a u extenzivních trávníků 20,2 %. To znamená, že v relativním poměru intenzivní

trávníky vykazují téměř o 26 % více dusíkatých látek oproti extenzivním. Dalším velice důležitým parametrem z hlediska produkce a kvality bioplynu je obsah lipidů. Rozdíl v absolutním zastoupení 0,2 % se zdá být mizivý, ale v relativním poměru se jedná již o více než 13 % více lipidů opět u intenzivních trávníků. Takový rozdíl již může v produkci bioplynu a methanu hrát svou roli. V ostatních naměřených parametrech u analyzovaných trávníků nebyly shledány významné rozdíly, které by se mohly významně projevit na výtěžnosti nebo kvalitě produkovaného bioplynu.

Stražil a kol. (2011) u lučních travních vzorků stanovili průměrný podíl dusíkatých látek 10,8 % v sušině (viz tabulka č. 4, str. 32). To znamená, že u našich intenzivních trávníků byl podíl N – látek v relativním poměru více než dvojnásobný a u extenzivních variant téměř dvojnásobný. Námi analyzovaný extenzivní trávník byl pravděpodobně pěstován „intenzivněji“ (zejména hnojení) než luční trávník testovaný Strašilem a kol. (2011).

Naopak luční porost vykazuje mnohem vyšší zastoupení hrubé vlákniny ve srovnání s našimi vzorky. Stražil a kol. (2011) stanovili u lučních trávníků průměrný podíl hrubé vlákniny v sušině na 33 % (viz tabulka č. 4, str. 32), což je cca dvojnásobná hodnota ve srovnání s našimi intenzivními i extenzivními trávníky. Hrubá vláknina zahrnuje zejména celulosu, hemicelulosu a lignin. Obsah ligninu a stupeň asociace s polysacharidy se obecně zvyšuje se stárnutím rostlin (Stražil a kol., 2011). Zde bych tedy opět hledal vysvětlení v termínu seče travních porostů. Veškeré námi odebrané vzorky trávníků byly posečeny v rané fázi růstu travin, kdežto vzorky lučního porostu byly pravděpodobně odebrány v pozdější fenologické fázi rostlin. Parametr hrubé vlákniny sice nezahrnuje veškerý lignin, ale dvojnásobná hodnota hrubé vlákniny v sušině u lučního porostu může do jisté míry vypovídat o vyšším podílu ligninu oproti našim travním vzorkům.

Nejvyšší hodnota produkce bioplynu byla zjištěna u varianty intenzivně pěstovaného trávníku, jenž byl skladován při teplotě -18 °C (546,6 ml), (viz tabulka č. 8, str. 62). Nejméně bioplynu vyprodukovala varianta extenzivně pěstovaného trávníku skladovaného při teplotě +18 °C (257,6 ml). Bylo tedy patrné, že nejvíce bioplyn produkující varianta vyprodukovala více než dvojnásobné množství bioplynu ve srovnání s variantou produkující bioplynu nejméně.

V grafu č. 7 (viz str. 64) bylo zřetelné, že i ta maximálně produkující varianta extenzivně pěstovaného trávníku vyprodukovala méně bioplynu než minimálně produkující varianta intenzivně pěstovaného trávníku. Jinak řečeno, vzorky intenzivních trávníků byly vždy zdrojem vyšší produkce bioplynu než vzorky trávníků extenzivních, bez ohledu

na zvolenou teplotní variantu předúpravy. Analýza rozptylu v tomto grafu rovněž potvrdila statisticky významný vliv obou základních faktorů na produkci bioplynu při společném působení.

Z principu vlastního experimentu byl vždy intenzivní nebo extenzivní vzorek trávníku ovlivněn některou z variant teplotní předúpravy a naopak. To znamená, že nebylo reálné vyjádřit vliv pouze jednoho samostatného faktoru. Nemohl být tedy posouzen vliv různé teplotní předúpravy na produkci bioplynu z travních porostů obecně, ale vždy z intenzivního a extenzivního trávníku zvlášť. To samé platí samozřejmě i naopak. To znamená, že vliv odlišného pěstování trávníků na výtěžnost bioplynu může být posouzen pouze při současném působení některé z variant teplotní předúpravy.

Pro „samostatné“ vyjádření vlivů faktorů působících na produkci bioplynu musela být vždy zvolena určitá referenční hladina, se kterou se naměřené hodnoty produkcí bioplynu srovnávaly. V případě porovnání vlivů předúpravy travních vzorků byly za tuto referenční hladinu zvoleny trávníky uskladněné při +18 °C. Tyto trávníky byly volně skladovány a vzhledem ke zvolené teplotě by tento režim neměl být v podstatě považován za předúpravu. Zároveň se uskladnění při +18 °C nejvíce blíží přirozeným atmosférickým podmínkám prostředí v době seče trávníků.

Graf č. 8 (viz str. 66) tudíž vyjadřoval procentuální nárůst/pokles produkce bioplynu u různě teplotně předupravených vzorků v porovnání se vzorkem „nepředupraveným“. Z grafu bylo možno vyčíst, že velmi vysoký vliv na produkci bioplynu měly teplotní režimy předúpravy při -18 °C a +35 °C působící na extenzivně pěstované trávníky. Na druhou stranu mírný pokles ve výtěžnosti oproti „neupravenému“ vzorku vykazaly teplotní předúpravy při +3 °C a +35 °C u intenzivně pěstovaných trávníků. Důležitým poznatkem ale bylo, že režim uskladnění vzorků mrazením při -18 °C jako jediný z předúprav zajistil nárůst produkce bioplynu jak u intenzivních, tak i u extenzivních trávníků.

Podle Straky a kol. (2006) dochází fyzikální desintegrací k narušení stávající fyzikální nebo chemické struktury zpracovávaného substrátu. Mezi hlavní efekty fyzikální předúpravy zpracovávaného materiálu patří redukce velikosti částic, vyšší rozpustnost částic a zvýšení biologické rozložitelnosti organických složek. Zmenšením velikosti částic se přispěje k podstatnému zvětšení povrchu a tím pádem i k větší dostupnosti substrátu pro enzymový rozklad. U živých či odumřelých mikroorganismů dochází analogicky k částečnému narušení jejich buněčných stěn, přičemž obsah buněk – buněčný lyzát – se uvolní do roztoku a působí stimulačně na činnost a růst mikroorganismů.

Veškeré naše travní vzorky byly před navažováním do lahvíček mechanicky homogenizovány, což můžeme považovat vedle různých způsobů skladování jako další režim předúpravy, jež mohl ovlivnit výsledky experimentu. Vzhledem k tomu, že u všech vzorků byla tato mechanická desintegrace totožná, stírají se tím rozdíly pro porovnávání výsledků v rámci této diplomové práce. Nicméně pro konfrontaci výsledků s jinými autory by neměl být faktor v podobě mechanické homogenizace (desintegrace) opomenut.

Jak již bylo poznamenáno výše, důležitým poznatkem z grafu č. 8 (viz str. 66) bylo, že režim uskladnění vzorků mrazením při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ jako jediný z předúprav zajistil nárůst produkce bioplynu jak u intenzivních (16,3 %), tak i u extenzivních trávníků (62,6 %). Jednalo se tedy jednoznačně o pozitivní vliv zmíněného režimu předúpravy na výtěžnost bioplynu. Je možné předpokládat, že režim předúpravy vzorků mrazením, po kterém následovalo tání, vyvolal skupenské a objemové změny v travních materiálech. Tyto změny následně vyústily v účinnou fyzikální desintegraci travních substrátů, která se pozitivně projevila na výtěžnosti bioplynu.

Podle Dohányose (2009) má na výtěžnost bioplynu významný vliv způsob skladování suroviny. V substrátech jsou přítomny různé mikroorganismy, a tudíž mohou probíhat samovolné, nekontrolované biologické procesy. Obyčejně při tom dochází k úniku vznikajících těkavých látek. Jako příklad Dohányos (2009) uvádí pokles organických látek při skladování prasečí kejdy. Vzorek kejdy byl ponechán na vzduchu při teplotě okolního prostředí. Na počátku pokusu a poté v určitých intervalech bylo provedeno stanovení celkové CHSK. Po dobu 32 dní skladování při teplotě okolního prostředí došlo k úbytku 39 % celkové CHSK, v tomto poměru klesla i výtěžnost bioplynu.

Domnívám se, že u našeho vzorku extenzivního trávníku, mohly v průběhu skladování při $+18\text{ }^{\circ}\text{C}$ probíhat podobné procesy, které popsal Dohányos (2009). U tohoto extenzivního vzorku sice nebyl zjištěn znatelný pokles organických látek ve srovnání s ostatními extenzivními variantami po předúpravě, ale samovolné aerobní procesy v průběhu skladování při $+18\text{ }^{\circ}\text{C}$ byly pravděpodobně doprovázeny hnilobnými procesy a tvorbou plísní, kterým se nám nepodařilo předejít. U travních vzorků, které byly ihned po seči zamrazeny při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, byly nejspíše výše popsané nežádoucí procesy vlivem působící teploty potlačeny.

Uvedená hypotéza by mohla vysvětlovat tak markantní nárůst (62,6 %) v produkci bioplynu extenzivního trávníku předupraveného při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ oproti totožnému trávníku uskladněnému při $+18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vzhledem k tomu, že vzorky extenzivních trávníků na počátku experimentu obsahovaly v sušině obecně více vody než trávníky intenzivní (viz tabulka č. 11, str. 68), mohla by zde existovat souvislost s hnilobnými procesy a tvorbou plísní v průběhu

uskladnění při +18 °C, což by odpovídalo nižší produkci bioplynu. Na druhou stranu větší podíl vody v pletivech vzorku extenzivní varianty předupravené při -18 °C způsobil po zmrznutí větší objemové změny, což mohlo mít pozitivní efekt na hlubší desintegraci substrátu, o čemž svědčí vyšší výtěžnost bioplynu.

Podobným mechanismem by bylo možné vysvětlit i nárůst (37,9 %) produkce bioplynu extenzivního trávníku uskladněného v chladicím boxu při +3 °C oproti extenzivnímu vzorku „nepředupravenému“ (+18 °C). Při skladování za teploty +3 °C mohlo rovněž dojít k samovolným procesům, ale ne již v takové míře jako při teplotě +18 °C. S nižší teplotou uskladnění byla rychlost samovolných procesů a případné hniloby s tvorbou plísní utlumena a projevem byla vyšší výtěžnost bioplynu ve srovnání s variantou skladovanou při +18 °C.

U intenzivního vzorku volně uskladněného při +18 °C se nežádoucí samovolné procesy pravděpodobně projevily pouze v minimální míře, a tudíž výtěžnosti bioplynu u intenzivního trávníku dosahovaly velice podobných hodnot jako vzorky intenzivního trávníku předupravené při +3 °C a +35 °C. Vliv předúpravy při +3 °C a +35 °C byl u intenzivních trávníků naopak mírně negativní (viz graf č. 7 a graf č. 8, str. 64 a 66)

Varianty uskladněné při +35 °C byly pomalu vysušovány při neagresivní teplotě, tudíž si myslím, že by u těchto vzorků nemuselo dojít v průběhu skladování ke zdatné desintegraci travního materiálu, která by se projevila ve výtěžnosti bioplynu. Rovněž bylo tímto režimem maximálně zamezeno samovolným mikrobiálním procesům a travní vzorky měly být víceméně „stabilizovány“. Této teorii by přibližně odpovídala výtěžnost bioplynu u intenzivní varianty +35 °C, i když vůči „nepředupravenému“ vzorku vykazuje mírný pokles. Velice obtížně zdůvodnitelná je však srovnatelná produkce bioplynu extenzivního trávníku předupraveného při +35 °C a totožného trávníku mrazeného při -18 °C. Pro vyšší reprezentativnost výsledků by bylo potřebné provést opakované testy produkce bioplynu, které by potvrdily nebo vyvrátily vysoký účinek předúpravy při +35 °C u extenzivního trávníku. Experiment by měl být realizován pokud možno ve fermentorech s větším objemem, než mají námi použité plynotěsné lahvičky (120 ml), aby byly rozdíly mezi jednotlivými variantami průkaznější. Zároveň by byla namístě i hlubší analýza chemického složení travních substrátů.

„Samostatný“ vliv odlišného způsobu pěstování trávníků na produkci bioplynu byl znázorněn v grafu č. 9 (viz str. 66). Zde byly za referenční hladinu zvoleny varianty extenzivních trávníků. Graf tedy vypovídal o procentuálním nárůstu výtěžnosti bioplynu intenzivních trávníků v porovnání s variantami extenzivními za současného působení zvolené

teplotní předúpravy. Graf č. 9, podobně jako graf č. 7 (viz str. 64), jednoznačně vyjadřoval skutečnost, že všechny vzorky intenzivně pěstovaných trávníků vyprodukovaly bez ohledu na zvolený režim předúpravy více bioplynu než vzorky trávníků extenzivních. Při teplotě uskladnění -18 °C vykázaly intenzivní varianty cca o 30 % vyšší produkci bioplynu oproti variantám extenzivním a při pohledu na výsledky vzorků volně skladovaných při +18 °C byla výtěžnost intenzivních variant oproti extenzivním vyšší dokonce o více než 82 %.

U vyhodnocení celkového vlivu pěstování trávníků na produkci bioplynu je otázkou, jak správně výsledky interpretovat. Ideální by bylo pohlížet opět pouze na trávníky skladované při +18 °C, neboť tento režim nyní nepovažujeme za předúpravu v pravém slova smyslu a výsledky jsou tudíž vztaženy k referenční hodnotě. V tomto případě však intenzivní trávník vykázal nárůst o výše zmíněných 82 %, což je velice vysoká hodnota, kterou je zapotřebí posuzovat obezřetně. I zde by bylo namístě experiment opakovat pro stejnou kombinaci faktorů. Získané výsledky by již byly reprezentativnější a nárůst produkce bioplynu by byl potvrzen nebo vyvrácen. V našem případě se tedy nabízí ještě další způsob interpretace výsledků. Z hodnot uvedených v grafu č. 9 (viz str. 66) můžeme vypočítat průměrnou hodnotu ze všech procentuálních nárůstů výtěžnosti bioplynu, která činí 37,2 %. Tuto hodnotu lze interpretovat jako průměrný nárůst produkce bioplynu u intenzivních variant ve srovnání s extenzivními, za současného působení všech teplotních předúprav.

V obou případech interpretace je každopádně patrný nárůst produkce u intenzivních trávníků oproti extenzivním. Myslím si, že příčinou zde mohl být prokazatelně vyšší podíl dusíkatých látek a lipidů v pletivech intenzivně pěstovaných trávníků (viz tabulka č. 6, str. 60). Tyto trávníky vykázaly v relativním poměru téměř o 26 % více dusíkatých látek a o více než 13 % více lipidů ve srovnání s trávníky extenzivními. Proteiny společně s lipidy jsou složkou zajišťující vysoké produkce bioplynu, a vezmeme-li v úvahu průměrnou hodnotu nárůstu (37,2 %) intenzivních trávníků oproti extenzivním, můžeme zde vidět určitou paralelu s rozdílným obsahem dusíkatých látek a lipidů u těchto odlišně pěstovaných trávníků.

Gerndtová a Andert (2009) na základě pokusů s travními směsmi potvrzují, že vliv mechanické desintegrace rostlinné biomasy přináší výhodnější náběh anaerobního procesu a zároveň vyšší produkci bioplynu oproti materiálu neupravenému. Toto však platí pouze pro zelenou rostlinnou hmotu posečenou v rané fázi růstu. U rostlin sklizených ve fázi kvetení roste podíl ligninu a úprava nemá příliš velký význam. Veškeré naše travní vzorky byly před navažováním do lahvíček mechanicky homogenizovány, což zajisté způsobilo desintegraci materiálů. Vzhledem k tomu, že námi testované extenzivní trávníky byly posečeny v relativně „pozdější“ fázi růstu (stále však rané) než trávníky intenzivní, mohl být

vyšší podíl ligninu další příčinou nižších výnosů bioplynu u extenzivních trávníků. Jedná se však pouze o hypotetickou úvahu a pro její potvrzení by bylo zapotřebí stanovení celkového obsahu ligninu v našich vzorcích. Režim mrazení při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ a následného tání, které způsobily u substrátu objemové změny a rovněž desintegraci, se však u extenzivních trávníků projevil na produkci bioplynu pozitivně. Domnívám se, že tento rozdíl mezi mechanickou desintegrací a desintegrací mrazením byl způsoben odlišnou úrovní působení procesu. Objemové změny při desintegraci mrazením probíhají až na úrovni buněčné. Celulosa vlákna uvnitř ligninové struktury v buněčných stěnách (viz obrázek č. 2, str. 19) mohou být pravděpodobně narušena a „zpřístupněna“ hydrolyze. Naproti tomu „hrubá“ mechanická desintegrace může jen stěží narušit celulosová vlákna uvnitř ligninové struktury a dostupnost celulosy pro hydrolyzu zůstává omezena.

Předchozí model výpočtu průměrného nárůstu nebylo možné aplikovat u vyjádření vlivu teplotního režimu předúpravy na produkci bioplynu, neboť z hlediska hodnocení není možné počítat průměrnou hodnotou z intenzivních a extenzivních trávníků. To by znamenalo, že bychom posuzovali vliv předúpravy na výtěžnost bioplynu u směsi intenzivního a extenzivního trávníku v poměru 1 : 1. Z tohoto důvodu jsem se rozhodl přistoupit k hodnocení vlivů teplotních předúprav u intenzivních a extenzivních trávníků odděleně (viz výše v diskusi).

Skutečnost, že varianta intenzivního trávníku předupraveného při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ vyprodukovala cca dvojnásobné množství bioplynu (546,6 ml) ve srovnání s variantou extenzivního trávníku skladovaného při teplotě $+18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (257,6 ml), velmi úzce souvisí s množstvím odbouraného travního substrátu v lahvičkách, neboť u intenzivní varianty ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) bylo odbouráno rovněž cca dvojnásobné množství vloženého travního materiálu (68,8 %) oproti variantě extenzivní ($+18\text{ }^{\circ}\text{C}$), (34,6 %), (viz tabulka č. 10 a graf č. 10, str. 67).

Velice podobné závěry vyplynuly i z vyhodnocení míry odbourání organických látek. Nejvyšší účinek odbourání organických látek (73,0 %) vykázal opět vzorek s nejvyšší produkcí bioplynu, zatímco nejnižší hodnota odbourání (39,5 %) byla prokázána u nejméně bioplyn produkující varianty (viz tabulka č. 11 a graf č. 11, str. 68 a 69). Podle Bendy a kol. (2012) dochází při anaerobní fermentaci k rozkladu 30 – 70 % organické hmoty v závislosti na procesních a materiálových podmínkách. Biernacki et al. (2012) při anaerobní fermentaci travní siláže zjistili míru odbourání 79 % organických látek. Je očividné, že účinnost odbourávání organické hmoty se pohybuje v poměrně širokém intervalu a námi stanovené hodnoty se tomuto intervalu nevymykají. Míra odbourávání organických látek

u všech našich variant zákonitě korespondovala s hodnotami úbytků travních substrátů a závislost produkce bioplynu na obou těchto nezávislých proměnných bylo možné považovat za lineární (viz grafy č. 10 a 11, str. 67 a 69).

Průběh produkce bioplynu v celém experimentu byl téměř analogický pro všechny testované varianty a lze jej rozdělit do tří období. V prvním období, které trvalo přibližně týden, probíhala nejintenzivnější produkce bioplynu a zároveň došlo ke strmému nárůstu obsahu methanu v bioplynu (viz graf č. 12 a 13, str. 70), což by vypovídalo o dostatku snadno rozložitelného substrátu pro anaerobní mikroorganismy. Ve druhém období trvajícím opět cca týden byl zaznamenán pozvolný úbytek bioplynové produkce, ale procentuální zastoupení CH₄ naopak nabývalo v této fázi u většiny testovaných variant maximálních hodnot. Třetí, nejdelší období (cca 44 dní) bylo charakteristické postupným snižováním produkce bioplynu, která se v posledních fázích tohoto období blížila téměř k nulovým hodnotám, což by svědčilo o postupném vyčerpání snadno rozložitelných organických látek. Obsah methanu v průběhu posledního období rovněž poklesl, ale až do ukončení experimentu se jeho zastoupení v bioplynu drželo napříč všemi variantami okolo uspokojivých 65 %.

Z předchozích výsledků celkové produkce bioplynu je prokazatelné, že nejvyšších hodnot produkce bylo dosaženo u trávníků, které byly před experimentem intenzivně pěstovány. Tyto varianty zároveň v průměru dosáhly i vyšší kvality vyprodukovaného bioplynu (viz graf č. 13, str. 70). Maximálního množství methanu v bioplynu dosáhl vzorek intenzivního trávniku skladovaný při -18 °C (72,2 % CH₄). Maxima naměřených hodnot methanu u intenzivních trávníků leží v rozmezí 66,1 – 72,2 % CH₄ (průměrně int. varianty 69,0 %). Z extenzivních variant vyprodukoval nejkvalitnější bioplyn vzorek skladovaný rovněž při -18 °C (67,5 % CH₄) a maxima naměřených hodnot CH₄ u extenzivních trávníků leží v rozmezí 63,8 – 67,5 % CH₄ (průměrně ext. varianty 65,8 %). Stražil a kol. (2011) uvádí, že obsah methanu v bioplynu se u substrátů s dominantním obsahem sacharidů pohybuje v rozmezí 50 – 55 %. Biernacki et al. (2012) při anaerobní fermentaci travní siláže pomocí batch testů naměřili podíl methanu v bioplynu přes 52 %. Abu-Dahrieh et al. (2011) při vsázkových testech rovněž s travní siláží stanovili obsah methanu v bioplynu dokonce na 83 %. Tento podíl methanu v bioplynu je ale extrémně vysoký a námi naměřené hodnoty jsou při srovnání i s další literaturou (např. Straka a kol., 2006) reálné.

Vyšší kvalita bioplynu produkovaného z našich vzorků intenzivních trávníků ve srovnání s našimi extenzivními by mohla mít vysvětlení opět v prokazatelně vyšším zastoupení dusíkatých látek a lipidů v pletivech intenzivních trávníků. Podle Bendy a kol. (2012) totiž dostatek proteinů a lipidů stojí za produkcí bioplynu

s vysokým podílem methanu (až 71, resp. 68 %), (viz tabulka č. 1, str. 17). U variant skladovaných při -18 °C je jasně patrné, že fyzikální desintegrace způsobená mražením a táním se projevila nejen vysokou výtěžností bioplynu obecně, ale pozitivně působila i na produkci jeho energeticky nejvýznamnější složky – methanu.

Výtěžky methanu byly logicky nižší než produkce bioplynu, ale průběhy produkci si byly velice podobné (viz grafy č. 12 a 14, str. 70 a 72). Při podrobnějším vyhodnocení bylo zjištěno, že např. u vzorků travníků uskladněných při -18 °C se v produkci methanu ještě více prohlubuje rozdíl mezi intenzivní a extenzivní variantou, neboť bioplyn produkovaný ze vzorků intenzivního travníku byl celkově kvalitnější. Při teplotě uskladnění -18 °C vykázaly vzorky intenzivních travníků o téměř 35 % vyšší průměrnou produkci methanu oproti variantám extenzivním. Tento obdobný ukazatel u produkce bioplynu jako takového vypovídal o vyšší výtěžnosti bioplynu intenzivních travníků oproti extenzivním cca o 30 %. Ne ale u všech testovaných variant se toto prohloubení rozdílů projevilo. Souvisí to se skutečností, že v prvním dnu měření methanu (tj. 23. 5. 2013) vykazovaly vyšší kvalitu bioplynu naopak vzorky extenzivních travníků (viz graf č. 13, str. 70). Vzhledem k tomu, že na počátku pokusu byla produkce bioplynu nejintenzivnější, bylo tím následné porovnání průběhů produkce bioplynu a methanu do jisté míry ovlivněno.

Hodnocení výsledků kvality bioplynu a s tím související kumulativní produkce methanu je ale nutné posuzovat obezřetně, neboť procentuální zastoupení CH₄ by pro vyšší reprezentativnost výsledků muselo být měřeno minimálně stejně tak často, jako vlastní produkce bioplynu. Domnívám se, že u vzorků extenzivních travníků mohlo být vyšší zastoupení methanu v bioplynu na počátku experimentu způsobeno vyšším obsahem snadno rozložitelných látek (např. glukosa), u kterých rychlá hydrolýza a navazující procesy stimulovaly methanogeny k okamžité aktivitě a tvorbě bioplynu. Snadno rozložitelné látky byly rychle spotřebovány a poté již kvalitnější bioplyn produkovaly varianty intenzivních travníků, které prokazatelně obsahovaly větší množství dusíkatých látek a lipidů, jež jsou zdrojem velice kvalitního bioplynu. Pro potvrzení hypotézy o vyšší kvalitě bioplynu u extenzivních travníků v počátcích experimentu by ale i zde byla zapotřebí ještě podrobnější analýza chemického složení travních materiálů.

Pro porovnávání našich výsledků s literaturou bylo zapotřebí vypočítat měrné produkce methanu v l/kg sušiny a zároveň v l/kg organické sušiny. Měrný výtěžek methanu se u intenzivních travníků pohyboval v rozmezí od 289,1 do 358,1 litrů CH₄/kg organické sušiny. Extenzivní varianty vykázaly opět nižší hodnoty, konkrétně v intervalu

od 184,8 do 286,8 litrů CH₄/kg organické sušiny (viz tabulka č. 12, str. 72). Je očividné, že ani po přepočtu produkce methanu na kg organické sušiny žádná extenzivní varianta nepředčila v produkci methanu kteroukoli z variant intenzivních. Při teplotě uskladnění -18 °C vykazaly v přepočtu na kg organické sušiny vzorky intenzivních travníků cca o 25 % vyšší průměrnou produkci methanu oproti variantám extenzivním. Tento obdobný ukazatel u produkce bioplynu a methanu vztažený k navážce vzorku (0,9 g) vypovídal o vyšší produkci intenzivních travníků oproti extenzivním cca o 30, resp. 35 %. Bez ohledu na režim předúpravy byl u intenzivních travníků oproti extenzivním nárůst v produkci bioplynu cca o 37 % (vztaženo opět k navážce vzorku), kdežto ten samý ukazatel produkce methanu přepočtený na kg organické sušiny vykázal nárůst u intenzivních travníků o 28 %. Při vztažení výsledků k organické hmotě, jejíž podíl byl u extenzivních travníků menší v porovnání s intenzivními, je zákonité, že se rozdíly v celkové produkci methanu mezi intenzivními a extenzivními travníky snížily. Samozřejmě i tyto výsledky jsou však zatíženy určitou metodickou chybou, která vznikla již při výpočtech produkce methanu z procentuálního zastoupení v bioplynu.

Dále je vhodné zmínit, že naše vzorky byly teplotně předupraveny, mechanicky homogenizovány a zároveň na tyto působil další faktor v podobě různé primární péče o travníky. To vše má na měrné výtěžky methanu vliv. Někteří autoři uvádějí pouze tabulkové hodnoty bez bližší specifikace experimentu, což znesnadňuje vzájemné porovnávání výtěžností. McEniry et al. (2014) při realizaci batch testů používali lahvičky s objemem 160 ml a při testování travní siláže stanovili měrnou produkci methanu na 294 litrů CH₄/kg organické sušiny. Agentura pro obnovitelné zdroje energie (Německo), FNR (2010) udává tabelovanou hodnotu měrné produkce methanu 310 litrů CH₄/kg organické sušiny travní senáže. Straka a kol. (2007) publikovali rovněž tabelovanou hodnotu 280 litrů CH₄/kg organické sušiny travní senáže. Všechny tyto hodnoty jsou srovnatelné s námi naměřenými a vypočítanými výsledky. Intenzivní travník předupravený při -18 °C však vyprodukoval 358,1 litrů CH₄/kg organické sušiny, což svědčí o pozitivním efektu desintegrace materiálu a primární intenzity pěstování travníku, vliv dusíkatých látek je zde tedy rovněž neopomenutelný. Při anaerobní fermentaci lučního (extenzivního) porostu Strašil a kol. (2011) zjistili měrnou produkci 216 litrů CH₄/kg organické sušiny. Námi testované extenzivní varianty vykazaly hodnoty v rozmezí od 184,8 do 286,8 litrů CH₄/kg organické sušiny. Vzorek volně skladovaný při +18 °C jako jediný v měrné produkci methanu nedosáhl úrovně výtěžku, který udávají Strašil a kol. (2011). Důvodem vyšší produkce u ostatních variant mohl být opět větší obsah dusíkatých látek v sušině našich vzorků a zajisté

zde se hrála roli i účinná mechanická desintegrace extenzivních trávníků spolu s pozitivním efektem předúpravy zejména v podobě mrazení (-18 °C).

Nejvyužívanějším substrátem pro provoz bioplynových stanic je kukuřičná siláž. Hölder (2000) udává měrnou výtěžnost methanu 370 litrů CH₄/kg sušiny kukuřičné siláže. Agentura FNR (2010) uvedla tabelovanou výtěžnost methanu 340 litrů CH₄/kg organické sušiny kukuřičné siláže. Námi stanovené hodnoty produkce methanu z intenzivního trávniku skladovaného při -18 °C činily 337,3 litrů CH₄/kg sušiny a 358,1 litrů CH₄/kg organické sušiny (viz tabulka č. 12, str. 72). Tato varianta se tedy jako jediná může potenciálně srovnávat s výtěžností methanu u kukuřičné siláže. Nicméně, k této informaci je zapotřebí přistupovat s rezervou, neboť námi realizované batch testy nemají takovou vypovídací hodnotu jako provozem prověřené výtěžnosti zpracovávaných materiálů.

Z výsledků experimentu je dále patrné, že míra odbourání CHSK u jednotlivých vzorků z lahvíček (viz tabulka č. 13, str. 73) příliš nekorresponduje se stanovenou mírou odbourání organických látek u travních substrátů (viz tabulka č. 11, str. 68). S ohledem na princip stanovení a hodnocení parametru CHSK je zapotřebí si uvědomit, že rozdíl mezi hodnotami CHSK vstupního a výstupního materiálu je charakterizován jako odbourání pouze chemicky oxidovatelného organického podílu, nikoliv celkového organického podílu. Podstatnější ale je, že CHSK byla analyzována již u materiálu v lahvíčkách, který byl směsí travního substrátu, inokula a vody, kdežto míra odbourání organických látek se stanovovala u samotného travního substrátu. V případě našeho experimentu je tedy irelevantní porovnávat hodnoty odbourávání CHSK ve vzorcích z lahvíček s hodnotami odbourávání organických látek samotných travních substrátů, neboť každý z těchto parametrů byl stanoven v podstatě u jiného materiálu.

Rovněž bylo shledáno, že hodnoty odbourání CHSK příliš nekorrespondují ani s mírou celkové produkce bioplynu (viz tabulka č. 13, str. 73), a nebylo tedy možné vzájemnou závislost považovat za lineární. Dohányos a kol. (2009) udávají odbourání CHSK v míře 60 % v semikontinuálním režimu anaerobní fermentace travní senáže. Naše všeobecně nízké hodnoty odbourání CHSK a vzájemná nesouvislost s mírou produkce bioplynu mohou mít následující důvody. CHSK s dichromanem draselným je parametr s vysokou citlivostí stanovení. K₂Cr₂O₇ za podmínek této metody totiž oxiduje i organické látky biologicky nerozložitelné. Např. lignin vykazuje nenulovou hodnotu CHSK, ale protože je v anaerobním prostředí biologicky téměř nerozložitelný, je jeho příspěvek k množství vzniklého methanu takřka nulový (Nada et al., 2003). Z této teorie vyplývá, že biologicky nerozložitelné látky,

diagnostikované pomocí CHSK ve vstupních i výstupních vzorcích, snižují ve výsledku účinnost odbourání CHSK. Dalším vysvětlením je skutečnost, že měření CHSK probíhalo u vstupních a výstupních materiálů v lahvičkách, které vedle vody a travního materiálu obsahovaly také inokulum. Do lahviček bylo na počátku experimentu dávkováno 30 g inokula a 0,9 g travního substrátu. Z těchto údajů je tedy jasně patrné, že vnos CHSK v podobě inokula byl značný a vzhledem k jeho nižší biodegradabilitě by měla být účinnost odbourání CHSK u materiálů z lahviček relativně nízká, což by odpovídalo našim výsledkům. Při stanovení CHSK se ale mohla objevit následující závažná metodická chyba. Na počátku experimentu byly sice travní substráty i inokulum homogenizovány, nicméně v průběhu pokusu směs materiálů v lahvičkách podléhala působení anaerobních mikroorganismů a tím byla struktura testovaných materiálů ještě více narušena. Je tedy možné, že na konci pokusu měly odebírané vzorky nižší „viskozitu“ než na počátku, a velice úzkým hrdlem špičky pipety se do této mohlo dostat pro analýzu více organické hmoty, která posléze zkreslovala hodnoty CHSK v celém experimentu.

Kára a kol. (2007) považují za optimální hodnotu pH na počátku anaerobní fermentace interval blízký neutrální hodnotě, ale lehce inklinující k zásaditému prostředí (pH 7 – 7,8). Na začátku procesu totiž převažuje aktivita acidogenů, které hodnotu pH následně snižují. Naše vzorky však měly na počátku hodnoty pH ještě vyšší, než je horní hranice výše uvedeného intervalu (viz tabulka č. 14, str. 74).

Alkalitu prostředí v lahvičkách (pH 8,06 – 8,40) na počátku experimentu bych jednoznačně přičítal očkovacímu materiálu v podobě inokula, neboť hodnota pH samotného inokula na počátku pokusu byla 8,42. Podle Mužíka a kol. (2006) pH u posečené trávy nabývá hodnot 6,0 – 6,5 (viz tabulka č. 3, str. 31), a tudíž travní substráty nemohly v žádném případě zapříčinit primární zvýšené hodnoty pH. Inokulum z bioplynové stanice v Krásné Hoře nejspíše pocházelo z digestátu, který mohl obsahovat zvýšené koncentrace volného amoniaku. NH_3 bývá hlavní příčinou vyšších pH v substrátech a podle Straky a kol. (2006) může mít nárůst pH nad 7,6 inhibiční účinky na průběh fermentace. V průběhu anaerobního procesu methanogenní bakterie dle Dohányose (2008) většinou vyžadují hodnotu pH v neutrální oblasti 6,5 – 7,5.

Hodnoty pH se u všech našich vzorků po ukončení experimentu nacházely v rozmezí 7,40 – 7,54, tzn. u horní hranice neutrality. S přihlédnutím na vyprodukovaná množství a kvalitu bioplynu bych nespátroval v počátečních vyšších hodnotách pH problém, který by měl zásadní negativní dopady na průběh experimentu. Snad jen u extenzivně pěstovaného

trávníku skladovaného při +18 °C se na produktivitě bioplynu mohla počáteční vyšší hodnota pH negativně projevit. Větší vypovídací hodnotu ohledně vývoje pH by mělo zajisté jeho měření nejen na počátku a na konci, ale i v průběhu vlastního pokusu.

Ve výpočtech úbytků travních substrátů byla odečtena voda, která odchází s vyprodukovaným nasyceným bioplynem v podobě vodní páry. Podle Buswellovy rovnice (Buswell and Symons, 1933) anaerobní fermentace (viz str. 13) by mělo v průběhu celého procesu docházet nejen k rozkladu organického substrátu, ale i ke spotřebě určitého množství vody jako reaktantu. Při bilancování hmotností všech materiálů v procesu anaerobní fermentace by se tedy teoreticky neměl zanedbávat ani tento podíl vody, který se spotřebovává při fermentačních reakcích. Je ale otázkou, do jaké míry Buswellova rovnice odpovídá reálným dějům. Je to souhrnná organická rovnice celé řady navazujících reakcí a procesů od hydrolyzy až po methanogenezi a v takovém případě je velice obtížné vyjádřit přesný reakční mechanismus. Součástí hmotnostní bilance by měl být rovněž podíl biomasy, která byla nově vytvořena v průběhu anaerobní fermentace.

V průběhu experimentu se mohly vyskytnout různé metodické chyby a nepřesnosti, např. při měření produkce bioplynu pomocí plynoměrné byrety, dále při odběru vzorků bioplynu pro analýzu jeho kvality, další metodické odchylky se zajisté mohly objevit při dávkování travních materiálů v podobě sušin, neboť 100 % sušina vzorků je vzhledem k všudypřítomné vlhkosti konstantně neudržitelná. S přihlédnutím k výše uvedeným nežádoucím faktorům a po konzultaci s odborníky jsem se rozhodl ve výpočtech úbytků travních substrátů zanedbat tvorbu nové biomasy a případný úbytek vody, která se spotřebovala v procesech anaerobní fermentace jako reaktant. Domnívám se, že tento krok kategoričticky neovlivnil mé výpočty a výsledky je stále možné považovat za relevantní.

6. Závěr

Před vypracováním diplomové práce byly formulovány následující dvě hypotézy:

- 1. Odlišně pěstované travní porosty budou poskytovat rozdílné kvantitativní i kvalitativní výstupy produkovaného bioplynu.**
- 2. Různorodost výsledků bude záviset nejen na způsobu pěstování trávníků, ale i na primárním režimu teplotní předúpravy (uskladnění) travních vzorků, které budou podrobeny anaerobní fermentaci.**

Ad 1.

Vzorky intenzivně pěstovaných trávníků byly vždy zdrojem vyšší produkce bioplynu v porovnání se vzorky trávníků extenzivních, bez ohledu na zvolený teplotní režim předúpravy travních materiálů. Intenzivně udržované trávníky zajistily rovněž vyšší výtěžnost methanu, tudíž produkci kvalitnějšího bioplynu. První hypotéza byla v experimentální části diplomové práce potvrzena.

Ad 2.

Předúprava vzorků mrazením při teplotě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ jako jediná z teplotních režimů předúprav zajistila nárůst produkce bioplynu jak u intenzivních, tak u extenzivních trávníků. Byl zde pozorován pozitivní vliv zmíněného režimu předúpravy, který napomohl desintegraci travních materiálů, jejímž důsledkem byla vyšší produkce bioplynu. Ostatní teplotní režimy předúpravy se rovněž projeví na výtěžnosti bioplynu, nicméně trend a míra jejich vlivu byly rozdílné u odlišně pěstovaných trávníků a výsledky proto nelze jednoduše zobecnit. Travní vzorky předúpravené v režimu mrazení při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ byly zároveň zdrojem bioplynu s nejvyšším procentuálním zastoupením methanu. Ostatní režimy předúpravy již neměly tak významný pozitivní efekt na kvalitu bioplynu. Druhá hypotéza byla rovněž potvrzena.

Z výstupů našeho experimentu by bylo možné vyvodit i následující doporučení. V případě neznalosti míry obhospodařování trávníku je mrazení vzorků vždy účinným režimem předúpravy (uskladnění) zajišťující zvýšení výtěžnosti bioplynu i methanu. Při možnosti volby je však nejefektivnějším zdrojem produkce bioplynu i methanu intenzivně pěstovaný trávník, který podlehl předúpravě mrazením nebo byl volně uskladněn

„bez úpravy“ (při +18 °C). Pro výběr vhodnější varianty uskladnění intenzivního trávníku by však bylo nutné vypočítat bilanci všech energetických vstupů a výstupů. Až poté by bylo možné zodpovědně vyhodnotit, zda by se vyplatilo realizovat energeticky náročnou předúpravu travních materiálů mrazením, či nikoliv.

U intenzivně pěstovaných trávníků produkujících poměrně značné množství kvalitního bioplynu byla významným faktorem míra hnojení. Možnou představou pro využití jejich potenciálu by tedy mohlo být pěstování trvalých travních porostů (samozřejmě s odlišnou skladbou rostlin, než obsahoval námi testovaný intenzivní trávník) v blízkosti bioplynových stanic s cíleně realizovanou aplikací fugátu s hnojivými účinky. Fugát je separovanou kapalnou složkou zfermentované a „stabilizované organické hmoty“ – digestátu. Pěstovaný travní porost by mohl sloužit jako substrát pro bioplynové stanice a živiny by byly prostřednictvím fugátu částečně navraceny zpět do půdy. Fugát obsahuje živiny v rostlinám přístupné formě, jejich koncentrace je však bohužel velice nízká. Zakoncentrování živin ve fugátu by bylo nepochybným přínosem, ale realizace je zatím otázkou dlouhodobého výzkumu. Nicméně takto pěstované travní porosty by mohly rovněž přispívat k omezení vodní eroze, zadržení živin v půdě, k udržení cyklu uhlíku i úrodnosti půdy.

Naopak intenzivní hnojení travních porostů přípravky průmyslovými, za účelem získání substrátu pro bioplynové stanice, by bylo velice krajním a v praxi ne moc představitelným řešením, které by zároveň bylo v rozporu s trvale udržitelným rozvojem. Podporováno by však mělo být anaerobní zpracování odpadů z údržby městských a obecních trávníků. V úvahu samozřejmě rovněž připadá výroba bioplynu z trávy sportovních hřišť, jejíž energetický potenciál byl potvrzen naším experimentem. V neposlední řadě má své opodstatnění i anaerobní fermentace extenzivně pěstovaných trvalých travních porostů. Travní substráty je však zapotřebí kofermentovat s jinými materiály vykazujícími všeobecně užívaný poměr C : N.

Cílené pěstování rostlin pro energetické účely je v současné době velice kontroverzní z mnoha různých hledisek. Na druhou stranu je třeba zdůraznit, že biologicky rozložitelných komunálních odpadů (BRKO), které mají rovněž energetický potenciál, neustále přibývá. Naprostá většina těchto odpadů je však nejen v České republice stále skládkována. Ideální řešení bych spatřoval ve snaze optimalizovat procesy anaerobní fermentace za účelem vyšší energetické konkurenceschopnosti biologicky rozložitelných komunálních odpadů. Domnívám se, že teprve tento posun společně s potřebnými legislativními zásahy by mohl být impulsem pro počátek významnější redukce skládkování BRKO.

Podle obecně uznávané německé technické normy VDI 4630 (Fermentace organických materiálů) je pro testování produkce bioplynu doporučen vhodný objem fermentorů minimálně jeden litr. Náš experiment probíhal v plynotěsných lahvičkách o objemu 120 ml. Tímto faktorem mohla být ovlivněna reprezentativnost našich výsledků. Pro jejich vyšší průkaznost by zajisté bylo vhodné experiment opakovat, tentokrát ve fermentorech s větším objemem. Dále bych považoval za vhodné doplnit náš pokus o měření procentuálního zastoupení další důležité složky bioplynu – CO₂, ale i jiných minoritních komponent. Rovněž by nebylo na škodu provést hlubší analýzu chemického složení travních porostů, která by nám mohla objasnit další souvislosti mezi zjištěnými skutečnostmi.

7. Seznam literatury

Abu-Dahrieh, J., Orozco, A., Groom, E., Rooney, D. 2011. Batch and continuous biogas production from grass silage liquor. *Bioresource Technology* 102. p. 10922 – 10928.

Alvira, P., Tomás-Pejó, E., Ballesteros, M., Negro, M. J. 2010. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Technology* 101. p. 4851 – 4861.

Al Seadi, T., Rutz, D., Prassl, H., Köttner, M., Finsterwalder, T., Volk, S., Janssen, R. 2008. *Biogas handbook*. University of Southern Denmark Esbjerg. Niels Bohrs Vej 9 – 10, DK - 6700 Esbjerg, Denmark. p. 125. ISBN: 978-87-992962-0-0.

Archer D. B., Robertson J. A., Peck M. W. 1988. The microbiology and biochemistry of biogas production from solid wastes, In: Straka, F., Dohányos, M., Zábranská, J., Jeníček, P., Dědek, J., Malijevský, A., Novák, J., Oldřich, J., Kunčarová, M. 2006. *Bioplyn*. GAS s.r.o.. Praha. s. 706. ISBN: 80-7238-090-6.

Bechník, B. 2009. *Biomasa – definice a členění*. [cit. 2013-11-03]. Dostupné z: <http://www.tzb-info.cz/5641-biomasa-definice-a-cleneni>.

Benda, V., Doležalová, H., Dušička, P., Hanslian, D., Jevič, P., Matuška, T., Myslil, V., Pastorek, Z., Stupavský, V., Šejvl, R., Šrefl, J., Šulek, P. 2012. *Obnovitelné zdroje energie*. Profi Press, s.r.o. Praha. s. 205. ISBN: 978-80-86726-48-9.

Brandejsová, E., Příbyla, Z. 2009. *Bioplynové stanice*. GAS s.r.o. Praha. s. 118. ISBN: 978-80-7328-192-2.

Biernacki, P., Steinigeweg, S., Borchert, A., Uhlenhut, F. 2012. Application of Anaerobic Digestion Model No. 1 for describing anaerobic digestion of grass, maize, green weed silage, and industrial glycerine. EUTEC Institute, University of Applied Sciences Emden/Leer. Germany. *Bioresource Technology* 127. p. 188 – 194.

Buswell, A. M., Symons, G. E. 1933. The methane fermentation of carbohydrates. J. Am. Chem. Soc., 55, 2028 – 2029.

Carlsson, M., Lagerkvist, A., Morgan-Sagastume, F. 2012. The effects of substrate pre-treatment on anaerobic digestion systems: A review .Waste management. Sweden. Volume: 32. Issue: 9. Pages: 1634 – 1650. DOI: 10.1016/j.wasman. 2012.04.016.

Carrère, H., Monlau, F., Barakat, A., Dumas, C., Steyer, J. 2011. Biogas from lignocellulosic biomass: interest of pretreatments. in: Progress in Biogas II – Biogas production from agricultural biomass and organic residues. Stuttgart-Hohenheim.

Česká bioplynová asociace (CZBA). Dostupné z: <www.czba.cz>.

Dohányos, M. 2008. Anaerobní reaktor není černou skřínkou - teoretické základy anaerobní fermentace. *Biom.cz* [online]. 2008-11-17 [cit. 2013-11-01]. Dostupné z: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/anaerobni-reaktor-neni-cernou-skrinkou-teoreticke-zaklady-anaerobni-fermentace>>. ISSN: 1801-2655.

Dohányos, M. 2009. Zvyšování efektivity fermentace - nejnovější poznatky ve výzkumu a praxi. *Biom.cz* [online]. 2009-02-25 [cit. 2013-11-20]. Dostupné z: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/zvysovani-efektivita-fermentace-nejnovejsi-poznatky-ve-vyzkumu-a-praxi>>. ISSN: 1801-2655.

Dohányos, M., Zábranská, J., Jeníček, P., Fialka, P., Kajan, M. 1998. Anaerobní čistírenské technologie. NOEL 2000, s.r.o. Brno. s. 345. ISBN 80-860020-19-3.

Dohányos, M., Procházka, J., Fliegerová, K. 2009. Využití anaerobních mikrobiálních hub k intenzifikaci výroby bioplynu. Bioplyn 2009. Sborník prací. České Budějovice. Praha: Česká bioplynová asociace.

Gerndtová, I., Andert, D. 2009. Využití travních směsí při anaerobní digesci. *Biom.cz* [online]. 2009-11-18 [cit. 2014-03-20]. Dostupné z: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/vyuziti-travnich-smesi-pri-anaerobni-digesci>>. ISSN: 1801-2655.

Habart, J. 2008a. Termotlaká hydrolýza surovin pro bioplynovou stanici. BIOM. Praha. s. 8. ISSN: 1801-2655.

Habart, J. 2008b. V čem se liší zemědělská a komunální bioplynová stanice – zamyšlení u příležitosti otevření bioplynové stanice v Krásné Hoře a Vysokém Mýtě. *Biom.cz* [online]. 2008-10-27 [cit. 2013-11-07]. Dostupné z: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/v-cem-se-lisi-zemedelska-a-komunalni-bioplynova-stanice-zamysleni-u-prilezitosti-otevreni-bioplynovy-stanice-v-krasne-hore>>. ISSN: 1801-2655.

Hendriks, A. T. W. M., Zeeman, G. 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresour. Technol.* 100 (1), 10 – 18.

Horáková, M. Chemická spotřeba kyslíku, odd. 5.2, in Horáková a kol., 2003. *Analytika vody*, VŠCHT Praha, s. 256-269. ISBN: 80-7080-520-X.

Horáková, M., Kollerová, L., Schejbal, P., Strnadová, N., Janda, V., Koller, J., Sýkora, V., Koubíková, J., Palatý, J. 2000. *Analytika vody*. VŠCHT. Praha. s. 284. ISBN: 80-7080-391-6.

Hölder, D. 2000. Anaerobic digestion for heat, cold and power generation. Sborník přednášek konference: Biomasa – zdroj obnovitelné energie v krajině. 5. – 6. 10. 2000. Průhonice.

Chen, Y., Cheng, J. J., Creamer, K. S. 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource technology*; 99, 10; 4044-4064. Elsevier Science B.V. Amsterdam. p. 21. ISSN: 0960-8524.

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

Kára, J., Pastorek, Z., Příbyl, E., Hanzlíková, I., Andert, D., Gerndtová, I., Hutla, P., Měkotová, P., Abrham, Z., Mužík, O., Hlinka, J., Branda, J. 2007. *Výroba a využití bioplynu v zemědělství*. Výzkumný ústav zemědělské techniky VÚZT, v.v.i. Praha. s. 117. ISBN 978-80-86884-28-8.

Kargel, J. S. 2000. *Planetary Rept. 20-21. vol. XX (4) 7/8*. In: Straka, F., Dohányos, M., Zábranská, J., Jeníček, P., Dědek, J., Malihevský, A., Novák, J., Oldřich, J., Kunčarová, M. 2006. Bioplyn. GAS s.r.o.. Praha. s. 706. ISBN: 80-7238-090-6.

Kayhanian, M., 1999. Ammonia inhibition in high-solids biogasification: an overview and practical solutions. *Environ. Technol.* 20, 355 – 365.

Kohoutek, A., Kvapilík, J., Cagaš, B., Hrabě, F., Pozdíšek, J. 2009. Selected indicators of productive and extraproductional management of grasslands in the Czech Republic. In: *Alternative Functions of Grassland. Proceedings of the 15th of the European Grassland Federation Symposium*, s. 11 – 24, Brno, 7. – 9. September 2009.

Kokrhelová, K., Jirout, T. 2008. Enzymatická hydrolýza lignocelulózových plodin a odpadů pro výrobu biopaliv. ČVUT, fakulta strojní. Praha. Dostupné z: http://stc.fs.cvut.cz/History/2008/Sbornik/S2/Kokrhelova_Kvetoslava_12118.pdf.

Koza, V. 2004. VŠCHT. Dostupné z: <http://zemniplyn.wz.cz>.

Krátký, L. 2010. Zařízení pro předúpravu surovin při výrobě biopaliv. Praha. ČVUT. Dostupné z: <http://chps.fsid.cvut.cz/pt2010/pdf/KratkyLukas.pdf>.

Kratochvílová, Z., Habart, J., Sladký, V., Jelínek, F., Rosenberg, T., Stupavský, V., Dvořáček, T. 2009. Průvodce výrobou a využitím bioplynu. CZ Biom – České sdružení pro biomasu. Praha. s. 157

Lehtomäki, A., Huttunen, S., Lehtinen, T. M., Rintala, J. A. 2007. Anaerobic digestion of grass silage in batch leach bed processes for methane production. *Bioresource technology*. Finland. Volume: 99. Issue: 8. Pages: 3267 – 3278. DOI: 10.1016/j.biortech. 2007.04.072.

Li, L.; Kong, X.; Yang, F.; Li, D.; Yuan, Z.; Sun, Y. 2011. Biogas Production Potential and Kinetics of Microwave and Conventional Thermal Pretreatment of Grass. *Applied biochemistry and biotechnology*. Volume: 166. Issue: 5. Pages: 1183 – 1191. DOI: 10.1007/s12010-011-9503-9.

Linde Gas a.s. Teplotně vodivostní detektor. Dostupné z:
http://www.linde-gas.cz/internet.lg.lg.cze/cs/images/TVD_4_6_200979_15733.pdf.

Liu, T., Sung, S., 2002. Ammonia inhibition on thermophilic acetoclastic methanogens. *Water Sci. Technol.* 45, 113 – 120.

Luning, L., Zundert, E. H. M., Brinkman, A. J. F. Comparison of dry and wet digestion for solid waste. Third International Symposium Anaerobic Digestion of Solid Wastes. München. Germany. 18 – 20 September 2002.

Maroušek, J. 2012. Dezintegrace lignocelulózy pro bioplynové stanice. *Biom.cz* [online]. 2012-08-20 [cit. 2013-11-20]. Dostupné z: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/produkci-bioplynu-lze-zvysit-dezintegraci-vstupni-fytomasy>>. ISSN: 1801-2655.

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

Mužík, O., Kára, J., Abrham, Z. 2006. Možnosti využití produkce travních porostů anaerobní digescí. Výzkumný ústav zemědělské techniky (VÚZT). Praha. s. 4.

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): p. 689 – 699.

Nizami, A. S., Korres, N. E., Murphy, J. D. 2009. Review of the integrated process for the production of grass biomethane. *Environ. Sci. Technol.* 43 (22), 8496 – 8508.

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

Poláček, J., Zgažar, M. 2013. Suchá anaerobní fermentace. Příspěvek ve sborníku: Workshop studentských prací 2013. Česká membránová platforma o.s. Česká Lípa. s. 56. ISBN: 978-80-904517-1-1. ISSN: 2336-1670.

Rosenberg, T. 2010. Předpis pro provádění laboratorních jednorázových testů produkce bioplynu (nepublikováno) s. 6.

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

Straka, F., Jeníček, P., Zábranská, J., Dohányos, M., Kunčarová, M. 2005. Anaerobic Treatment of Nitrogen Containing Wastes. Sardinia 2005. Proceedings of Tenth International Waste Management and Landfill Symposium, 749 – 750, S. Margharita di Pula. Sardinia. Italy.

Straka, F., Kunčarová, M., Lacek, P. 2007. Optimalizace vsázek pro bioplynové stanice při použití biomasy, živočišných odpadů nebo dalších možných vedlejších živočišných produktů. Ústav pro výzkum a využití paliv a.s. Praha. s. 31. Technická zpráva zakázky ÚVP č. 781/128/12.

Strašil, Z., Kohoutek, A., Diviš, J., Kajan, M., Moudrý, J., Moudrý, J., jr. 2011. Trávy jako energetická surovina. Certifikovaná metodika pro praxi. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. ISBN: 978-80-7427-078-9. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. ISBN: 978-80-7394-313-4. ENKI o.p.s. Praha. s. 33.

Sýkora, V. Stanovení chemické spotřeby kyslíku dichromanem draselným (CHSK_{Cr}), „semimikrometoda“. Odd. 5.2.3, in Horáková a kol., 2003. Analytika vody, VŠCHT Praha. 269-272. ISBN: 80-7080-520-X.

Škorvan, O., Holba, M., Plotěný, K. 2011. Suchou, nebo mokrou fermentaci? Odpady, odborný časopis pro nakládání s odpady a životní prostředí, vydání z 15. 2. 2012. ECONOMIA, a. s., Praha. 19 – 20. ISSN: 1210 – 4922 MK ČR 6330.

Štambaský, J. 2013. Novinky ve vývoji enzymů pro bioplynové stanice. NovaEnergio, s.r.o. Příspěvek ve sborníku referátů z konference v Třeboni: Výstavba a provoz bioplynových stanic (10. - 11. 10. 2013). ČOV, s.r.o., Třeboň. s. 152.

Štercová, E., Straková, E., Rusníková, L., Hudečková, P. 2012. Chemická analýza krmiv. Multimediální studijní materiál. Fond rozvoje vysokých škol (projekt č. 1288/2012). s. 9.

Štokr, Z. 2013. Suroviny pro provoz zemědělských BPS. Bioferm CZ. Příspěvek ve sborníku referátů z konference v Třeboni: Výstavba a provoz bioplynových stanic (10. - 11. 10. 2013). ČOV, s.r.o., Třeboň. s. 152.

Taherzadeh, J. M., Karimi, K. 2008. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, str. 1621 – 1651.

Turovskiy, I. S., Mathai, P. K. 2006. Wastewater sludge processing. A John Wiley & Sons, Inc., New Jersey. p. 354. ISBN: 978-0-471-70054-8.

Tvrzník, P., Zeman, L., Haitl, M. 2013. Bioplynové stanice z pohledu výživy zvířat. Expertní studie VVZ při MZe, VUŽV Praha Uhřetěves, s. 46.

Ust'ak, S., Váňa, J. 2005. Bioplynová fermentace biomasy a biologicky rozložitelných odpadů. *CZ Biom. VÚRV, v.v.i. Praha*. s. 180. ISBN: 80-86555-78-X.

Ward, A. J., Hobbs, P. J., Holliman, P. J., Jones, D. L. 2008. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresour. Technol.* 99 (17), 7928 – 7940.

Xie, S., Frost, J. P., Lawlor, P. G., Wu, G., Zhan, X. 2011. Effects of thermo-chemical pretreatment of grass silage on methane production by anaerobic digestion. *Bioresource technology*. Volume: 102. Issue: 19. Pages: 8748-8755. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.07.078.

Zábranská, J. 2010. Intenzifikace výroby bioplynu z rostlinných materiálů. *Biom.cz* [online]. 2010-10-18 [cit. 2014-04-02]. Dostupné z: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/intenzifikace-vyroby-bioplynu-z-rostlinnych-materialu>>. ISSN: 1801-2655.

Zachář, P., Sýkora, D. 2012. Plynová chromatografie – laboratoř z analytické chemie II. s. 16.

Instituce:

Český statistický úřad (ČSÚ). 2014. Dostupné z:
http://www.czso.cz/csu/redakce.nsf/i/zemedelstvi_zem.

Český úřad zeměměřičský a katastrální (ČÚZK). 2014. Souhrnné přehledy o půdním fondu z údajů katastru nemovitostí České republiky. Praha. s. 83. ISBN: 978-80-86918-69-3. ISSN: 1804-2422.

Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR). 2010. Förderkennzeichen (FKZ): 22005108. Leitfaden Biogas von der Gewinnung zur Nutzung, Deutschland. Rostock. ISBN: 3-00-014333-5.

Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem. Fakulta životního prostředí. Dostupné z:
<http://fzp.ujep.cz>.

Legislativní dokumenty:

Česká republika. Ministerstvo průmyslu a obchodu. Národní akční plán České republiky pro energii z obnovitelných zdrojů. 2010. s. 97. Dostupné také z:
<http://www.mpo.cz/dokument79564.html>.

Česká republika. Zákon č. 310/2013 Sb., kterým se mění zákon č. 165/2012 Sb., o podporovaných zdrojích energie a o změně některých zákonů, ve znění zákona č. 407/2012 Sb. In: Sbírka zákonů České republiky. 2013. Částka 117. 3564 – 3567. Dostupné také z:
http://aplikace.mvcr.cz/sbirka-zakonu/SearchResult.aspx?q=310/2013&typeLaw=zakon&what=Cislo_zakona_smlouvy.

Evropská unie. Nařízení komise (ES) č. 152/2009 ze dne 27. ledna 2009, kterým se stanoví metody odběru vzorků a laboratorního zkoušení pro úřední kontrolu krmiv. 2009. s. 163. Dostupné také z: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX:32009R0152>.

Technické normy:

VDI 4630. 2006. Vergärung organischer Stoffe - Substratcharakterisierung, Probenahme, Stoffdatenerhebung, Gärversuche. Düsseldorf. Deutschland. Verein Deutscher Ingenieure.

8. Seznam použitých zkratk a symbolů

ANOVA (Analysis Of Variance) – analýza rozptylu

BNVL – bezdusíkaté látky výtažkové

BPS – bioplynová stanice

BRKO – biologicky rozložitelný komunální odpad

BRO – biologicky rozložitelný odpad

CNG (Compressed Natural Gas) – stlačený zemní plyn

ČOV – čistírna odpadních vod

ČZU – Česká zemědělská univerzita v Praze

GPS (Ganz Pflanzen Silage) – silážovaná drť celých rostlin

CHSK – chemická spotřeba kyslíku

LFG (Landfill Gas) – skládkový plyn

NMK – nižší mastné kyseliny

TCD (Thermal Conductivity Detector) – teplotně vodivostní detektor

TTP – trvalé travní porosty

VŽP – vedlejší živočišné produkty

-18 °C - INT. – intenzivně pěstovaný trávník předupravený při teplotě -18 °C

-18 °C - EXT. – extenzivně pěstovaný trávník předupravený při teplotě -18 °C

+3 °C - INT. – intenzivně pěstovaný trávník předupravený při teplotě +3 °C

+3 °C - EXT. – extenzivně pěstovaný trávník předupravený při teplotě +3 °C

+18 °C - INT. – intenzivně pěstovaný trávník předupravený při teplotě +18 °C

+18 °C - EXT. – extenzivně pěstovaný trávník předupravený při teplotě +18 °C

+35 °C - INT. – intenzivně pěstovaný trávník předupravený při teplotě +35 °C

+35 °C - EXT. – extenzivně pěstovaný trávník předupravený při teplotě +35 °C

9. Samostatné přílohy

Příloha č. 1 – Průběžné produkce bioplynu z intenzivně pěstovaného trávníku předupraveného při teplotě -18 °C

Datum, Čas	Produkce bioplynu [ml]				
	-18 °C - INT. 1.	-18 °C - INT. 2.	-18 °C - INT. 3.	-18 °C - INT. 4.	-18 °C - INT. 5.
21.5.2013 16:30	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
22.5.2013 14:50	30,6	33,8	35,2	35,2	31,2
23.5.2013 09:25	46,8	50,8	30,4	48,4	49,2
23.5.2013 15:50	17,8	15,4	17,4	17,0	17,8
24.5.2013 14:50	36,0	29,8	21,2	24,4	30,6
25.5.2013 10:00	36,8	35,8	36,0	37,2	38,8
26.5.2013 11:10	42,0	41,4	39,4	42,4	43,6
27.5.2013 12:45	63,0	59,8	58,8	61,4	64,8
28.5.2013 14:40	71,2	71,8	65,4	72,4	71,6
29.5.2013 09:35	38,4	39,6	40,4	38,2	36,8
30.5.2013 11:10	69,8	48,4	51,2	48,2	41,6
31.5.2013 14:30	37,0	34,2	32,6	28,6	29,6
2.6.2013 16:25	28,0	39,4	27,0	25,8	26,4
3.6.2013 11:55	16,0	27,8	16,4	15,6	18,8
4.6.2013 13:05	13,8	21,0	15,0	13,6	20,2
6.6.2013 13:30	18,8	19,6	20,6	18,8	29,0
10.6.2013 15:35	31,2	27,6	32,6	30,2	34,4
13.6.2013 15:40	20,0	15,6	20,6	19,8	18,8
17.6.2013 17:15	22,8	19,2	22,4	21,8	22,4
20.6.2013 14:10	14,0	14,2	14,2	12,0	12,0
24.6.2013 23:50	12,6	12,6	12,8	12,0	10,2
27.6.2013 14:20	8,4	7,2	8,4	7,2	7,4
1.7.2013 12:50	9,6	7,6	9,8	8,2	7,2
2.7.2013 14:05	2,0	2,0	2,4	2,2	1,8
4.7.2013 11:40	2,8	2,0	2,8	2,4	1,8
9.7.2013 15:10	6,8	4,6	7,0	6,4	5,4
17.7.2013 12:00	8,6	4,8	8,8	7,8	6,0

Příloha č. 2 – Průběžné produkce bioplynu z extenzivně pěstovaného trávníku předupraveného při teplotě -18 °C

Datum, Čas	Produkce bioplynu [ml]				
	-18 °C - EXT. 1.	-18 °C - EXT. 2.	-18 °C - EXT. 3.	-18 °C - EXT. 4.	-18 °C - EXT. 5.
21.5.2013 16:30	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
22.5.2013 14:55	22,8	20,6	18,0	18,4	19,2
23.5.2013 09:30	40,0	36,0	36,2	37,6	38,4
23.5.2013 15:55	23,2	20,0	20,8	22,8	22,6
24.5.2013 14:55	39,4	36,0	31,2	36,4	35,8
25.5.2013 10:00	34,6	30,8	32,4	37,8	31,4
26.5.2013 11:15	37,4	42,6	40,2	41,0	40,4
27.5.2013 11:25	51,0	54,2	50,2	53,8	53,6
28.5.2013 14:50	58,0	58,2	54,8	58,8	58,8
29.5.2013 09:40	30,0	29,0	26,8	30,8	28,6
30.5.2013 09:45	34,2	32,6	29,6	33,0	33,8
31.5.2013 14:35	20,4	23,6	21,0	22,4	23,8
2.6.2013 16:30	20,0	21,8	20,8	21,6	21,4
3.6.2013 11:40	13,0	13,8	12,6	12,6	12,4
4.6.2013 13:10	11,0	10,8	10,8	11,2	10,8
6.6.2013 13:35	14,0	14,6	14,4	14,8	13,8
10.6.2013 15:35	24,4	23,8	22,8	23,8	24,2
13.6.2013 15:45	15,4	14,4	13,6	15,0	15,0
17.6.2013 17:15	17,0	15,0	15,0	15,0	15,8
20.6.2013 14:10	11,6	9,8	9,4	9,8	10,6
24.6.2013 23:55	10,4	9,6	9,0	9,8	9,8
27.6.2013 14:20	6,8	5,8	6,2	6,0	6,2
1.7.2013 12:50	7,6	7,0	7,0	7,2	7,6
2.7.2013 14:10	1,6	1,8	2,2	2,2	2,4
4.7.2013 11:40	2,4	2,2	2,0	2,0	2,8
9.7.2013 15:15	6,6	5,8	5,2	5,6	7,6
17.7.2013 12:05	8,0	7,6	5,6	6,4	7,0

Příloha č. 3 – Průběžné produkce bioplynu z intenzivně pěstovaného trávníku předupraveného při teplotě +3 °C

Datum, čas	Produkce bioplynu [ml]				
	+3 °C - INT. 1.	+3 °C - INT. 2.	+3 °C - INT. 3.	+3 °C - INT. 4.	+3 °C - INT. 5.
21.5.2013 16:30	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
22.5.2013 15:25	20,4	22,4	20,0	18,8	19,6
23.5.2013 10:00	30,2	35,8	32,8	32,6	37,4
23.5.2013 16:25	25,2	24,6	25,0	27,4	25,2
24.5.2013 15:40	22,8	28,6	38,4	27,4	47,2
25.5.2013 10:00	32,2	38,2	35,8	33,0	38,8
26.5.2013 11:35	37,8	40,4	39,2	38,8	39,2
27.5.2013 11:55	59,4	56,4	60,0	58,4	58,6
28.5.2013 14:10	63,6	58,4	36,0	59,8	55,6
29.5.2013 10:05	36,4	35,6	34,0	32,4	28,8
30.5.2013 10:15	38,0	33,8	34,4	31,2	25,2
31.5.2013 15:05	29,8	24,7	28,2	26,8	26,4
2.6.2013 16:10	28,0	26,8	26,4	33,8	25,0
3.6.2013 12:15	15,4	15,2	14,6	21,6	13,8
4.6.2013 13:35	13,0	12,4	12,2	16,0	12,2
6.6.2013 14:00	18,4	17,6	16,4	18,0	17,0
10.6.2013 15:10	27,8	27,2	26,0	25,6	26,8
13.6.2013 16:10	16,4	15,4	15,0	14,2	15,8
17.6.2013 17:35	17,2	17,2	16,0	16,6	17,0
20.6.2013 14:30	9,8	10,4	9,6	13,0	9,0
25.6.2013 00:10	9,8	9,6	7,8	12,4	8,8
27.6.2013 14:40	7,2	7,6	6,4	9,0	7,6
1.7.2013 13:05	6,0	6,0	4,8	8,0	5,8
2.7.2013 14:00	2,4	2,6	2,4	3,4	2,4
4.7.2013 11:35	2,8	2,6	2,2	3,4	2,8
9.7.2013 15:35	6,4	6,6	5,6	8,0	7,0
17.7.2013 12:20	6,4	6,6	5,4	7,0	6,2

Příloha č. 4 – Průběžné produkce bioplynu z extenzivně pěstovaného trávníku předupraveného při teplotě +3 °C

Datum, čas	Produkce bioplynu [ml]				
	+3 °C - EXT. 1.	+3 °C - EXT. 2.	+3 °C - EXT. 3.	+3 °C - EXT. 4.	+3 °C - EXT. 5.
21.5.2013 16:30	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
22.5.2013 14:30	17,2	18,8	21,0	15,8	17,8
23.5.2013 09:20	30,4	28,6	31,4	36,8	31,0
23.5.2013 15:45	16,4	14,4	14,8	20,2	18,8
24.5.2013 14:45	27,6	26,6	30,4	38,6	34,6
25.5.2013 10:00	30,2	29,8	32,2	32,6	31,8
26.5.2013 11:00	36,4	34,4	38,8	36,6	38,6
27.5.2013 12:15	44,2	47,2	47,4	46,0	45,8
28.5.2013 14:30	42,1	45,6	47,0	45,6	42,8
29.5.2013 09:20	19,4	21,4	23,2	22,4	19,8
30.5.2013 10:25	28,8	28,8	28,4	30,0	24,8
31.5.2013 14:50	22,6	22,8	23,4	26,0	31,8
2.6.2013 16:25	20,8	22,2	21,2	23,0	20,0
3.6.2013 12:00	12,0	12,2	12,0	12,8	11,6
4.6.2013 13:00	10,8	11,2	11,6	11,4	10,4
6.6.2013 13:30	13,6	14,2	13,6	10,0	12,8
10.6.2013 15:40	21,4	21,6	21,4	21,6	19,6
13.6.2013 15:40	13,2	13,4	13,0	14,0	12,0
17.6.2013 17:10	14,4	14,6	14,4	15,2	13,4
20.6.2013 14:05	10,8	9,8	10,0	11,2	8,8
24.6.2013 23:50	10,0	9,2	9,0	10,2	7,4
27.6.2013 14:15	6,8	6,2	6,2	6,8	5,2
1.7.2013 12:45	7,2	7,0	6,8	7,8	4,6
2.7.2013 14:05	1,2	1,6	1,4	1,4	0,6
4.7.2013 11:35	2,0	1,8	1,4	2,0	1,4
9.7.2013 15:05	4,8	4,8	4,4	4,2	4,2
17.7.2013 12:00	6,0	5,6	5,4	6,8	5,2

Příloha č. 5 – Průběžné produkce bioplynu z intenzivně pěstovaného trávníku předupraveného při teplotě +18 °C

Datum, Čas	Produkce bioplynu [ml]				
	+18 °C - INT.	+18 °C - INT.	+18 °C - INT.	+18 °C - INT.	+18 °C - INT.
	1.	2.	3.	4.	5.
21.5.2013 16:30	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
22.5.2013 15:15	13,8	16,4	19,2	17,8	17,2
23.5.2013 09:50	31,8	32,4	31,8	31,8	32,6
23.5.2013 16:15	16,8	17,0	14,8	16,0	16,4
24.5.2013 15:25	46,6	51,0	54,2	54,4	52,4
25.5.2013 10:00	37,8	37,4	36,0	39,4	37,0
26.5.2013 11:45	35,8	38,4	38,0	40,1	34,0
27.5.2013 12:05	48,4	60,8	62,0	62,4	60,6
28.5.2013 14:00	45,8	63,2	61,8	62,0	63,8
29.5.2013 09:55	38,6	40,6	36,4	36,6	31,4
30.5.2013 10:05	40,4	39,6	40,6	36,4	34,2
31.5.2013 14:55	35,0	31,0	32,6	30,6	28,2
2.6.2013 16:20	30,8	22,4	24,2	24,0	21,6
3.6.2013 12:05	17,2	13,4	15,0	17,4	14,8
4.6.2013 13:25	13,6	13,2	13,6	14,2	11,2
6.6.2013 13:55	15,2	17,4	17,8	18,2	16,6
10.6.2013 15:15	23,2	26,4	27,0	26,8	24,6
13.6.2013 16:00	15,4	17,4	17,6	16,6	15,8
17.6.2013 17:30	20,8	15,8	17,8	16,4	15,6
20.6.2013 14:25	14,6	10,4	11,0	9,2	9,2
25.6.2013 00:05	11,4	9,0	10,2	7,8	8,4
27.6.2013 14:35	8,6	8,0	7,8	8,0	7,4
1.7.2013 13:00	7,4	6,4	7,4	6,4	6,0
2.7.2013 13:55	3,0	2,6	3,0	2,2	2,8
4.7.2013 11:30	2,4	1,8	2,6	2,6	2,8
9.7.2013 15:25	5,8	6,0	7,2	6,0	7,0
17.7.2013 12:15	4,0	5,4	7,2	5,2	6,4

Příloha č. 6 – Průběžné produkce bioplynu z extenzivně pěstovaného trávníku předupraveného při teplotě +18 °C

Datum, Čas	Produkce bioplynu [ml]				
	+18 °C - EXT.	+18 °C - EXT.	+18 °C - EXT.	+18 °C - EXT.	+18 °C - EXT.
	1.	2.	3.	4.	5.
21.5.2013 16:30	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
22.5.2013 15:20	11,0	10,4	10,8	11,6	11,8
23.5.2013 09:55	22,8	23,0	24,0	21,6	21,2
23.5.2013 16:20	10,6	11,8	14,0	11,4	12,6
24.5.2013 15:30	36,0	28,4	37,6	32,4	31,4
25.5.2013 10:00	28,6	23,8	28,8	25,0	26,8
26.5.2013 11:40	25,0	23,6	28,4	25,2	24,6
27.5.2013 12:00	37,4	36,4	37,8	32,4	37,2
28.5.2013 14:05	28,6	31,8	32,4	29,2	31,8
29.5.2013 10:00	15,2	16,8	17,2	19,4	15,2
30.5.2013 10:10	15,8	18,4	17,0	22,2	15,6
31.5.2013 15:00	15,8	18,0	18,6	21,2	17,8
2.6.2013 16:15	16,8	17,8	17,8	19,6	17,4
3.6.2013 12:10	11,0	11,4	11,6	12,4	11,2
4.6.2013 13:30	9,0	9,2	9,8	10,4	9,0
6.6.2013 14:00	12,2	12,0	12,2	12,8	12,2
10.6.2013 15:15	20,2	19,2	19,8	20,8	20,8
13.6.2013 16:05	12,8	12,0	11,8	12,2	12,6
17.6.2013 17:30	12,0	12,6	12,6	13,0	14,0
20.6.2013 14:25	6,8	7,2	7,4	7,4	8,6
25.6.2013 00:05	7,8	6,2	6,6	6,6	7,8
27.6.2013 14:35	6,2	5,0	5,0	5,2	6,0
1.7.2013 13:05	5,8	4,8	4,8	4,0	5,2
2.7.2013 14:00	2,4	2,4	1,8	2,2	2,6
4.7.2013 11:30	2,2	2,0	2,0	1,8	2,2
9.7.2013 15:30	5,4	4,8	4,6	4,8	5,8
17.7.2013 12:20	4,4	4,2	4,0	3,8	5,6

Příloha č. 7 – Průběžné produkce bioplynu z intenzivně pěstovaného trávniku předupraveného při teplotě +35 °C

Datum, čas	Produkce bioplynu [ml]				
	+35 °C - INT. 1.	+35 °C - INT. 2.	+35 °C - INT. 3.	+35 °C - INT. 4.	+35 °C - INT. 5.
21.5.2013 16:30	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
22.5.2013 15:00	17,4	11,8	16,8	19,2	9,0
23.5.2013 09:35	33,8	30,0	31,8	32,8	31,6
23.5.2013 16:00	16,2	16,4	15,8	16,2	16,0
24.5.2013 15:00	35,8	43,6	33,2	34,6	51,6
25.5.2013 10:00	29,8	36,2	34,8	31,8	37,8
26.5.2013 11:20	42,4	42,6	44,8	34,8	46,8
27.5.2013 11:30	60,0	59,0	57,8	58,8	61,6
28.5.2013 15:05	61,8	58,8	58,2	53,2	65,2
29.5.2013 09:45	28,8	27,6	25,8	35,0	31,0
30.5.2013 09:50	38,6	32,8	29,4	56,2	34,4
31.5.2013 14:40	28,8	25,6	24,6	40,4	27,2
2.6.2013 16:30	27,0	24,6	25,2	30,0	26,8
3.6.2013 11:30	16,2	14,8	14,4	15,8	15,8
4.6.2013 13:15	13,2	12,8	12,8	13,4	13,6
6.6.2013 13:40	18,0	17,8	16,6	18,4	19,2
10.6.2013 15:30	28,2	27,4	25,0	28,6	28,8
13.6.2013 15:45	17,0	17,0	15,6	18,0	18,2
17.6.2013 17:20	17,8	18,0	15,8	18,0	18,6
20.6.2013 14:15	12,0	12,6	11,8	10,6	11,8
24.6.2013 23:55	10,4	12,0	9,4	9,8	11,4
27.6.2013 14:25	7,2	7,4	6,0	6,2	8,0
1.7.2013 12:55	7,8	8,4	7,2	7,4	8,4
2.7.2013 14:10	2,2	2,2	2,2	2,0	2,2
4.7.2013 11:45	2,4	2,8	2,2	2,2	2,4
9.7.2013 15:15	7,4	6,8	6,0	5,4	6,6
17.7.2013 12:10	11,4	12,2	7,2	6,6	9,4

Příloha č. 8 – Průběžné produkce bioplynu z extenzivně pěstovaného trávniku předupraveného při teplotě +35 °C

Datum, čas	Produkce bioplynu [ml]				
	+35 °C - EXT. 1.	+35 °C - EXT. 2.	+35 °C - EXT. 3.	+35 °C - EXT. 4.	+35 °C - EXT. 5.
21.5.2013 16:30	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
22.5.2013 15:05	10,4	15,6	7,6	7,4	15,4
23.5.2013 09:40	32,2	32,0	31,6	27,2	29,6
23.5.2013 16:05	16,8	16,2	16,4	15,6	15,8
24.5.2013 15:05	41,8	44,0	35,4	44,4	32,4
25.5.2013 10:00	44,8	40,6	35,6	32,4	33,8
26.5.2013 11:25	45,0	45,2	44,2	40,4	45,0
27.5.2013 11:45	56,2	54,2	55,0	54,2	55,2
28.5.2013 15:10	54,2	51,0	54,0	50,0	51,0
29.5.2013 09:50	26,8	25,2	26,0	23,8	23,2
30.5.2013 09:55	35,8	33,8	33,2	30,0	32,0
31.5.2013 14:45	25,0	28,2	26,4	24,4	25,8
2.6.2013 16:35	24,6	26,2	24,4	24,6	25,0
3.6.2013 11:30	16,0	15,4	14,2	15,8	15,4
4.6.2013 13:20	13,0	12,8	12,4	12,2	12,4
6.6.2013 13:45	17,2	16,0	15,4	15,4	14,6
10.6.2013 15:25	26,2	26,2	24,8	25,4	24,8
13.6.2013 15:50	17,0	16,8	15,4	16,0	16,4
17.6.2013 17:20	17,6	16,2	15,8	16,8	16,2
20.6.2013 14:15	11,4	11,8	10,6	10,8	10,0
24.6.2013 23:55	11,0	10,8	9,6	10,8	9,8
27.6.2013 14:30	7,0	7,0	6,4	6,8	6,2
1.7.2013 12:55	8,2	7,6	6,8	8,0	7,2
2.7.2013 14:15	2,0	2,0	2,2	2,2	2,0
4.7.2013 11:45	2,6	2,4	2,0	2,6	1,8
9.7.2013 15:20	7,8	6,6	5,6	6,6	6,8
17.7.2013 12:10	7,6	6,8	6,0	7,6	5,8

Příloha č. 9 – Průběžné produkce bioplynu z referenční varianty pouze s inokulem

Datum, čas	Produkce bioplynu [ml]				
	Inokulum 1.	Inokulum 2.	Inokulum 3.	Inokulum 4.	Inokulum 5.
21.5.2013 16:30	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
22.5.2013 15:10	4,2	5,4	6,8	7,6	6,0
23.5.2013 09:45	2,8	2,8	3,4	3,6	3,4
23.5.2013 16:10	0,2	0,2	0,0	0,4	0,0
24.5.2013 15:20	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
25.5.2013 10:00	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
26.5.2013 11:30	0,0	0,4	2,4	2,0	1,2
27.5.2013 11:50	4,8	4,2	5,6	5,4	4,6
28.5.2013 15:20	2,6	3,6	4,2	4,0	3,8
29.5.2013 09:50	1,2	0,0	0,0	0,0	0,0
30.5.2013 10:00	4,6	5,8	8,2	8,2	7,4
31.5.2013 14:45	3,6	4,8	6,0	6,4	5,8
2.6.2013 16:40	2,4	4,6	6,0	6,4	6,0
3.6.2013 11:20	3,6	5,6	7,8	6,8	6,2
4.6.2013 13:20	4,8	5,8	6,6	6,6	6,4
6.6.2013 13:50	7,0	8,6	10,0	10,2	9,4
10.6.2013 15:20	16,0	18,2	19,8	20,2	18,8
13.6.2013 15:55	11,0	11,6	12,4	12,0	11,0
17.6.2013 17:25	11,4	10,8	12,6	11,4	10,8
20.6.2013 14:20	6,6	6,4	7,4	6,8	6,6
25.6.2013 00:05	4,6	5,6	5,6	6,4	5,0
27.6.2013 14:30	4,6	4,6	4,2	4,6	4,4
1.7.2013 13:00	3,6	4,0	3,8	4,0	3,6
2.7.2013 14:15	0,8	1,0	1,4	0,8	0,8
4.7.2013 11:45	0,8	1,0	1,0	1,6	0,8
9.7.2013 15:25	4,2	4,8	3,8	4,2	3,6
17.7.2013 12:15	2,0	2,8	2,4	2,6	1,8

Příloha č. 10 – Průběžné průměrné procentuální zastoupení methanu v bioplynu

Varianta	CH ₄ [%]								
	23.5.13	27.5.13	30.5.13	31.5.13	6.6.13	10.6.13	14.6.13	17.6.13	20.6.13
-18 °C - INT.	35,4	63,0	72,2	70,4	67,3	68,5	66,7	66,5	65,0
-18 °C - EXT.	42,9	58,3	66,6	67,5	64,7	65,9	64,4	64,2	63,5
+3 °C - INT.	37,7	60,8	67,1	68,2	65,1	66,3	65,7	64,5	63,6
+3 °C - EXT.	46,5	60,0	65,7	66,7	64,1	65,0	64,3	63,7	63,9
+18 °C - INT.	42,4	56,6	66,7	69,4	66,2	68,1	66,5	66,0	65,3
+18 °C - EXT.	49,8	61,1	62,9	63,9	62,9	64,5	63,9	64,9	63,9
+35 °C - INT.	40,7	59,4	64,5	66,1	64,0	65,2	64,7	64,0	63,3
+35 °C - EXT.	45,8	56,4	61,6	62,6	61,3	62,9	62,5	62,7	62,4

Varianta	CH ₄ [%]							
	24.6.13	27.6.13	1.7.13	4.7.13	8.7.13	11.7.13	15.7.13	17.7.13
-18 °C - INT.	65,1	65,3	65,5	65,1	64,9	65,0	65,1	64,8
-18 °C - EXT.	63,7	63,8	63,6	63,5	64,1	63,1	63,4	63,7
+3 °C - INT.	64,9	64,7	65,2	65,3	65,0	64,9	64,6	64,4
+3 °C - EXT.	64,4	64,1	63,9	63,7	64,2	64,6	64,4	64,5
+18 °C - INT.	65,5	65,8	66,1	65,4	65,1	64,9	65,3	65,2
+18 °C - EXT.	65,0	65,2	65,4	64,8	64,1	64,5	64,8	65,1
+35 °C - INT.	64,8	64,5	65,2	64,7	64,5	64,2	64,0	64,8
+35 °C - EXT.	63,8	63,5	64,1	63,3	62,9	63,1	63,5	63,7