

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra pícninářství a trávnickářství



**Vliv hnojení trvalého travního porostu na substrátovou
produkcí bioplynu**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Jakub Stibůrek

Vedoucí práce: Ing. Pavel Fuksa, Ph.D.

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci Vliv hnojení trvalého travního porostu na substrátovou produkci bioplynu 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 _____

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval Ing. Pavlu Fuksovi, Ph.D. za odborné vedení, ochotu a věcné připomínky, které mi poskytl při zpracování této diplomové práce. Rovněž bych rád poděkoval své rodině za podporu během studia.

Vliv hnojení trvalého travního porostu na substrátovou produkci bioplynu

Souhrn

Cílem diplomové práce bylo rozšířit poznatky o vlivu hnojení trvalých travních porostů (TTP) na výtěžnost bioplynu a jeho kvalitu.

V letech 2013 a 2014 byl posuzován vliv různé úrovně hnojení (nehnojená kontrola, N₅₀PK, N₂₀₀PK) TTP na produkci a kvalitativní parametry bioplynu. Fytomasa TTP byla odebrána ze znáhodněných bloků experimentálního stanoviště Černíkovice, okres Benešov. Anaerobní fermentace vysušených vzorků fytomasy probíhala formou jednorázových laboratorních batch testů po dobu 40 dnů v mezofilních podmínkách.

V roce 2013 došlo s vyšší aplikací hnojiv k průkaznému snížení substrátové a celkové výtěžnosti bioplynu mezi nehnojenou (575,4 ml/g; 3332,4 m³/ha) a nejvíce hnojenou variantou N₂₀₀PK (460,5 ml/g; 2605,7 m³/ha). Vliv hnojení na kvalitu bioplynu v roce 2013 byl průkazný v počáteční fázi (1. den) anaerobní digesce, kdy byla při nejvyšší aplikaci hnojiv stanovena vyšší koncentrace metanu (33,2 %) oproti kontrolní variantě (22,6 %).

V roce 2014 nebyl u substrátové výtěžnosti bioplynu zaznamenán průkazný rozdíl mezi žádnou ze sledovaných variant, přesto byl trend nejvyšší výtěžnosti opět pozorován u nehnojené kontrolní varianty (762,7 ml/g) ve srovnání s variantami N₅₀PK (707,6 ml/g) a N₂₀₀PK (732,8 ml/g). U celkové produkce bioplynu došlo vlivem aplikace hnojiv k průkaznému nárůstu u varianty N₅₀PK (2911,5 m³/ha) oproti nehnojené kontrole (2296,3 m³/ha). Vliv hnojení na kvalitu bioplynu byl průkazný opět pouze v počáteční fázi (7. den) anaerobní digesce, kdy nejvíce metanu obsahoval bioplyn nehnojené kontroly (59,1 %) a nejméně varianta hnojená N₅₀PK (57,9 %).

Na celkové množství bioplynu získaného z jednotky plochy mají zásadní vliv výnosy fytomasy, které byly především v roce 2013 negativně ovlivněny opožděným termínem první seče v důsledku nepříznivých stanovištních podmínek.

Z charakteru průběhu kumulativní produkce bioplynu je zřejmé, že nejdůležitější je vzhledem k produkci bioplynu prvních 14 dnů anaerobní digesce, ve kterých bylo v obou sledovaných letech vyprodukováno více než 80 % z celkového množství bioplynu.

Klíčová slova: fytomasa, bioenergie, anaerobní digesce, batch test, kvalita bioplynu

Effect of fertilization of permanent grassland on the substrate biogas yield

Summary

The aim of this study was to extend knowledge about the influence of permanent grassland fertilization on the yield and the quality of biogas.

During the years 2013 and 2014 three levels of fertilization (non – fertilized control, N₅₀PK, N₂₀₀PK) were tested. Samples were taken from the experiment site Černíkovice, Benešov region. For anaerobic digestion, a 40 day mesophilic conditions batch test was chosen.

A statistically significant decrease of substrate biogas yield (SBY) and area biogas yield (ABY) with higher doses of fertilizers occurred between non – fertilized control (575.4 ml/g; 3332.4 m³/ha) and N₂₀₀PK variant (460.5 ml/g; 2605.7 m³/ha) in 2013. The only statistically significant differences in the quality of biogas were found during the first day of anaerobic digestion, when the highest doses of fertilizers caused higher concentration of methane (33.2 %) compared to control variant (22.6 %).

Application of fertilizers had no significant effect on SBY in 2014. Still, the highest SBY was obtained from the non – fertilized control (762.7 ml/g) compared to N₅₀PK (707.6 ml/g) and N₂₀₀PK variant (732.8 ml/g). Furthermore, significant most of the ABY was obtained from the N₅₀PK (2911.5 m³/ha) compared to the non – fertilized control (2296.3 m³/ha). The only significant differences in biogas quality were found during the initial 7 days of the test. Most of the methane was contained in biogas from the non – fertilized control (59.1 %), and least amount of the methane was found in the N₅₀PK variant (57.9 %).

ABY is highly influenced by the yields of phytomass, which were negatively affected by the late first cut caused by unfavorable site conditions in 2013.

Cumulative biogas production showed that the most important part of anaerobic digestion was during the initial 14 days, which produced upwards of 80 % of total biogas yields in both years.

Keywords: phytomass, bioenergy, anaerobic digestion, batch test, biogas quality

Obsah

1 Úvod.....	8
2 Cíl práce a hypotéza.....	9
3 Literární řešerše	10
3.1 Trvalé travní porosty	10
3.1.1 Funkce TTP.....	10
3.1.2 Potenciál TTP	11
3.1.3 Obhospodařování energeticky využívaných TTP.....	12
3.1.3.1 Sečení	13
3.1.3.2 Hnojení	15
3.1.3.3 Vliv sečení a hnojení na druhovou skladbu.....	17
3.2 Produkce bioplynu z fytomasy TTP	18
3.2.1 Anaerobní digesce.....	19
3.2.1.1 Základní parametry anaerobní digesce	21
3.2.1.2 Výtěžnost bioplynu.....	22
3.2.2 Kvalita bioplynu fytomasy TTP	23
3.2.2.1 Fytomasa TTP	23
3.2.2.2 Vliv termínu sklizně	24
3.2.2.3 Vliv hnojení	25
3.2.2.4 Vliv druhového složení.....	27
4 Materiál a metody	29
4.1 Charakteristika stanoviště.....	29
4.2 Založení a design pokusu.....	29
4.3 Stanovení výnosů fytomasy a příprava vzorků pro následné testy	30
4.4 Stanovení produkce bioplynu.....	31
4.4.1 Substrátová výtěžnost bioplynu	31
4.4.2 Celková produkce bioplynu	32
4.4.3 Kvalita bioplynu	32
4.5 Statistické vyhodnocení výsledků	32
5 Výsledky	33
5.1 Výnosy sušiny fytomasy travního porostu	33
5.2 Substrátová výtěžnost bioplynu	34
5.3 Výtěžnost bioplynu z jednotky plochy.....	35
5.4 Kvalita bioplynu	36
5.5 Průběh kumulativní produkce bioplynu.....	37

6	Diskuze	41
6.1	Výnosy fytomasy.....	41
6.2	Substrátová výtěžnost bioplynu	42
6.3	Výtěžnost bioplynu z jednotky plochy.....	44
6.4	Kvalita bioplynu	45
6.5	Kumulativní produkce bioplynu.....	46
7	Závěr.....	48
8	Seznam literatury	49

1 Úvod

Druhově bohaté trvalé travní porosty se díky ekologickému ale i společenskému významu zaslouhují o nenahraditelné postavení v různých ekosystémech a svou hodnotou tak přesahují hranice nejen států, ale i světadílů. Významnou roli v péči o kvalitu trvalých travních porostů přitom zastupovala odpradávná pastva přežvýkavců. V uplynulých letech se však postupně, v důsledku poklesu stavu skotu a zdokonalujícím se technologiím v krmivářských a chovatelských postupech, výrazně snížila potřeba píce z trvalých travních porostů, které pak mnohdy leží ladem a dochází k jejich celkové degradaci. Jako vhodné využití těchto travních porostů s obrovským energetickým potenciálem fytomasy se jeví anaerobní digesce, která je perspektivním obnovitelným zdrojem energie a jejímž produktem je bioplyn tvořený z největší části energeticky hodnotným metanem. Pokud však mají být bioplynové stanice z ekonomického hlediska udržitelné, je jedním z kritérií dostatečné množství a vyhovující kvalita vstupních surovin, od kterých se odvíjí množství získané energie. Velká část současných vědeckých prací se tak zaměřuje na postupy vedoucí k maximalizaci kvality různých energetických plodin. Také trvalé travní porosty vyžadují odborné hospodaření, které zaručuje vyšší výnosy kvalitativně hodnotnějšího bioplynu. Jedním z nejčastěji hodnocených parametrů s významným vlivem na substrátovou produkci bioplynu u trvalých travních porostů je termín sečení. Přestože s oddálením termínu sklizně travních porostů dochází ke zvyšování výnosů fytomasy, je prokázáno, že s oddalující se sklizní dochází rovněž ke zvýšení obsahu látek v rostlinách, které jsou v procesu anaerobní digesce jen těžce rozkládány, a naopak dochází ke snížení obsahu látek lehce rozložitelných. Vyšší výnosy jsou tak v protikladu s nižší výtěžností bioplynu, respektive metanu z fytomasy. Rovněž vlivem aplikace hnojiv, především pak na bázi dusíku, může dojít přímo ke změnám chemického složení rostlin, ale také ke změnám v druhovém složení trvalých travních porostů. Tyto změny pak mohou mít ve svém důsledku vliv na množství a kvalitu bioplynu. Tato práce si tak klade za cíl rozšířit poznatky o vlivu hnojení trvalých travních porostů na výtěžnost bioplynu a jeho kvalitu.

2 Cíl práce a hypotéza

Cílem práce je vyhodnocení vlivu různé úrovně hnojení trvalého travního porostu na průběh a celkovou produkci bioplynu pomocí jednorázových anaerobních metanogenních testů. Součástí práce je i posouzení kvalitativních parametrů produkovaného bioplynu.

Hypotézy

Různá úroveň hnojení trvalých travních porostů má vliv na:

- substrátovou výtěžnost bioplynu
- celkovou produkci bioplynu
- obsah metanu v bioplynu
- průběh produkce bioplynu

3 Literární rešerše

3.1 Trvalé travní porosty

Trvalý travní porost (TTP) je půda využívaná trvale (několik, obvykle více než pět po sobě jdoucích let) k pěstování buďto kultivovaných, nebo přirozeně rostoucích bylinných píceň. TTP jsou tvořeny především pastvinami a lučními porosty (EUROSTAT, 2015).

Mnoho autorů rozděluje travní porosty podle různých kritérií (chovatelské postupy, botanické složení, fytoecologie atd.), avšak podstatným kritériem určujícím způsob obhospodařování porostu pro energetické účely je místo původu porostu. Dle místa původu lze rozdělit TTP do dvou kategorií.

- První kategorií jsou přirozené TTP, které vznikly bez zásahu lidské ruky. Vyskytují se v stepních, bažinných a rašeliništních lokalitách. Produkce fytomasy v těchto lokalitách je negativně ovlivněna méně příznivými podmínkami a hodí se spíše k extenzivnímu hospodaření.
- Druhou kategorií tvoří polopřirozené TTP nacházející se v oblastech, jejichž původní rostlinnou skladbu tvořily lesy. Kultivace těchto travních porostů závisí na zásahu člověka. Tyto porosty mají vysoký výnosový potenciál a dobrou dostupnost. Tvořeny jsou především směsí kulturních trav spolu s jetelovinami, hodí se proto pro intenzivní obhospodařování s energetickým využitím (Fuksa *et al.*, 2012).

3.1.1 Funkce TTP

Travní porosty jsou významné nejen pro svou produkční funkci, kdy tvoří nedílnou složku potravy přežvýkavců, ale mají také významnou neprodukční, ekologickou funkci, která spočívá v mnoha ekologicky přínosných faktorech porostu. Mezi nejvýznamnější patří schopnost TTP:

- uchovávání jak rostlinné, tak živočišné biodiverzity,
- ochrany půdy před větrnou, ale i vodní erozí,
- travního drnu efektivně zadržovat zásoby vody, stejně jako filtrovat množství zdraví ohrožujících látek před průnikem do podzemních vod,
- tvorby velkého množství odumřelé organické hmoty s hnojivým efektem,
- sekvestrace uhlíku,

- vyrovnávat teplotní a vlhkostní rozdíly ve svém okolí,
- v neposlední řadě pak poskytují estetické, zdravotně hygienické a sociálně ekonomické funkce (Fiala a Gaisler, 1999; Hopkins a Holz, 2006; Fuksa *et al.*, 2012).

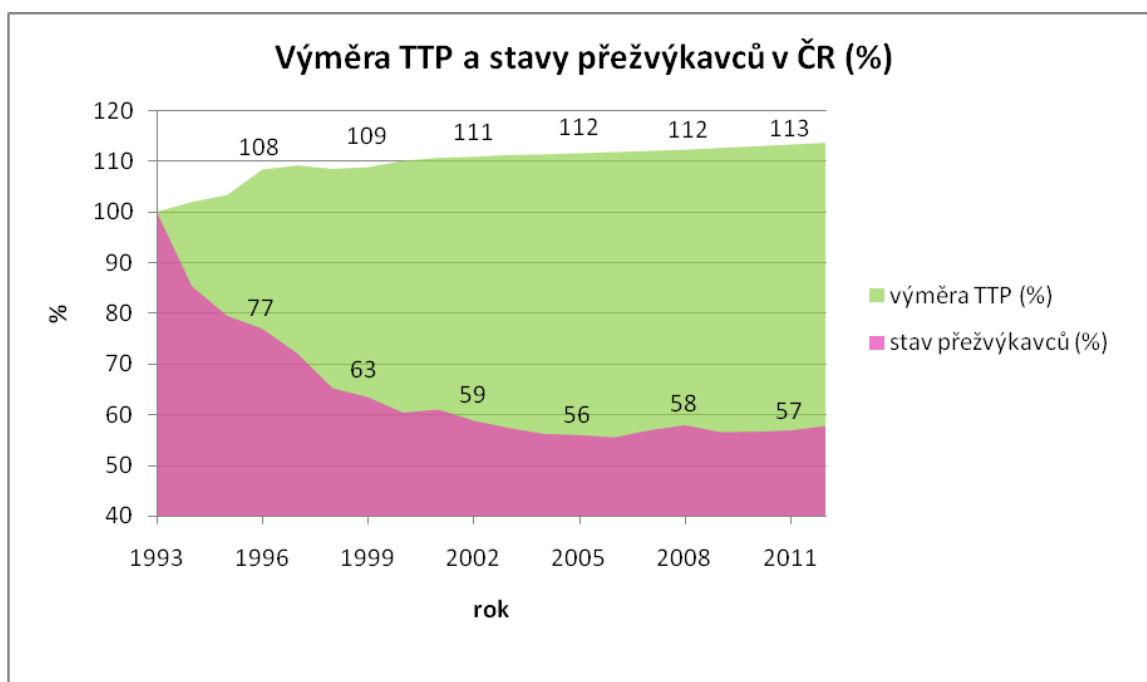
Lidstvo odpradávná využívalo fytomasu TTP především jako hlavní zdroj krmiva pro přežvýkavce. Také v současné době je většina travních porostů využívána primárně jako produkční, tedy dochází buďto k jejich sečení, spásání, nebo kombinovanému využití (Smith *et al.*, 2008; Benda *et al.*, 2012). Především ve vyspělých zemích však díky výzkumu dochází k efektivnějšímu využití potravy přežvýkavci, což má za následek sníženou potřebu doposud využívaných pastevních ploch. To v konečném důsledku vede k úplnému opouštění těchto ploch (Prochnov *et al.*, 2009). Ponechání takto opuštěných ploch ladem má za následek snížení druhové diverzity a celkovou degradaci porostu vlivem sukcese (Bílek a Žáková, 1999). Nabízí se proto využití těchto jinak nevyužívaných ploch, kdy vlivem vhodných pratotechnických opatření dojde k zachování ekologicky přínosných funkcí travního porostu spolu s energetickým využitím sklizené fytomasy (Prochnov *et al.*, 2009). Využití TTP pro energetické účely sehraje svoji roli především ve vyspělých zemích s dostatečnou rostlinnou a živočišnou produkcí, kde nebude výroba energie v kompetici se základními výživovými potřebami člověka (Ceotto, 2008).

3.1.2 Potenciál TTP

Možnost využití energetického potenciálu travních porostů dokazuje rozloha, kterou zabírají. Louky spolu s pastvinami pokrývají přibližně $3,4 \times 10^9$ ha, tedy přibližně 69 % celkové světové zemědělské plochy.

V České republice v současné době zabírají TTP přibližně 992×10^3 ha, což činí okolo 23 % z celkové zemědělské plochy. V roce 1993 činila rozloha TTP 873×10^3 ha, došlo tak postupně k rozšíření travních porostů o 14 %. Současně však došlo k postupnému snížení stavu přežvýkavců z 2 784 830 kusů na 1 607 874 kusů, což znamená pokles o 42 % (Graf 1) (ČSÚ, 2015; FAOSTAT, 2015). V budoucnu se nadále počítá s rozrůstáním rozlohy TTP nejen v České republice, ale i ve světě.

Graf 1: Výměra TTP a stavy přežvýkavců v České republice v letech 1993 až 2012



(FAOSAT, 2015)

V úvahu je nutno brát také závazek vůči EU, který ukládá ČR navýšení hrubé konečné spotřeby energie z obnovitelných zdrojů na celkem 13 % do roku 2020. Podle státní energetické koncepce je zdrojem OZE s největším potenciálem do budoucnosti právě biomasa (Vláda ČR, 2014).

Podstatnou výhodou fytomasy je možnost jejího kontinuálního využití. Přestože je sklizeň fytomasy sezónní záležitostí, lze využít procesu silážování. Fytomasa si pak dlouhodobě udrží většinu svých vlastností a lze ji tak dávkovat do fermentorů kontinuálně po dobu celého roku. Tento důležitý faktor dělá z anaerobní digesce biomasy stabilní a tím pádem klíčovou část energetického mixu, který je v mnoha případech závislý na málo, nebo vůbec ovlivnitelných faktorech (Tsapekos *et al.*, 2015).

3.1.3 Obhospodařování energeticky využívaných TTP

Klíčová role v otázce získávání energie z TTP připadá na způsob, jakým je porost obhospodařován. Získávat energii z fytomasy lze vícero způsoby. Každá forma energetického využití fytomasy má však své specifické požadavky na vlastnosti, především pak na obsah sušiny. V současné době patří mezi nejčastěji praktikované způsoby získávání energie spalováním fytomasy spolu s anaerobní digescí (AD). Právě využití AD získává stále více na

oblíbě. Pokud má být energetické využívání travních porostů ekonomicky životaschopné a zároveň konkurenceschopné, je zapotřebí zvolit nejvhodnější, dlouhodobě udržitelný způsob, jakým budou porosty obhospodařovány. Cílem obhospodařování porostů je minimalizovat náklady na vstupy a maximalizovat výstupy. Vstupy jsou tvořeny především náklady na hnojení, sklizeň (sečení, balíkování, doprava, úpravy pozemku), náklady na skladování a manipulaci (umístění do sil, zhutnění, skladování, opětovné vyjmutí ze sil a zásobování fermentorů) a režijní náklady (držby, daně, pojištění, apod.). Výstupy jsou tvořeny primárně ziskem z množství vyprodukovaného metanu, který je přeměňován kogeneračními jednotkami na elektřinu a teplo (Prochnow *et al.*, 2009). Množství vyprodukovaného metanu je především závislé na množství a kvalitě fermentované biomasy (Straka *et al.*, 2010). Cílem energeticky využívaných TTP je proto najít ideální poměr těchto dvou parametrů, při kterém bude dosaženo maximálního celkového výnosu metanu a minimálních nákladů (Butkutė *et al.*, 2014; Gützloe *et al.*, 2014).

Výnosy a kvalita fytomasy závisí na mnoha faktorech. Z dosavadních výsledků výzkumů vyplývá, že podstatnou roli zastává botanické složení, které je ovlivněno stanovištními podmínkami (klíma, vodní režim, úrodnost půdy) spolu s konkurenčními vztahy mezi rostlinnými druhy. V praxi lze však kvalitu a množství fytomasy TTP významně ovlivnit také pratotechnikou porostu, především pak usměrněnou a vyrovnanou aplikací hnojiv spolu s pravidelnou a vhodně načasovanou sečí (Mrkvička a Veselá, 2001; Fischer *et al.*, 2010; Bernhardt-Römermann *et al.*, 2011).

3.1.3.1 Sečení

Sečení je nejdůležitějším pratotechnickým zásahem na travních porostech nejen z hlediska vlivu na výnosy, ale také vlivu na kvalitu sklizené fytomasy a opětovné regenerace porostu. Jedná se o komplexní problém vyžadující vhodné načasování první seče spolu s celkovým počtem sečí za vegetační období (Prochnow *et al.*, 2009; Fuksa *et al.*, 2012). Kromě ekonomické stránky sečení je vhodné uvažovat o nezanedbatelném množství CO₂ a dalších skleníkových plynů, které jsou uvolňovány technikou při sklizni do ovzduší (Gützloe *et al.*, 2014).

Z výsledků pokusů provedených Amon *et al.* (2007) vyplývá, že vlivem časně první seče může dojít k významnému snížení celkového množství sklizené fytomasy za celé vegetační období oproti později provedené seči. To potvrzuje Frame (2000), který dodává, že

seč provedená v první polovině vegetační fáze může výrazně zpomalit růst porostu vzhledem k probíhající fotosyntéze. Dodává, že regeneraci porostu po sečení lze urychlit aplikací dusíkatých hnojiv. Je tak zřejmé, že správné načasování první seče je stěžejním parametrem v otázce hospodaření na TTP. Termín první seče je navíc v interakci s dalším důležitým faktorem, kterým je celkový počet sečí za vegetační období. Časté sečení má spíše negativní vliv na množství sklizené fytomasy. Na druhou stranu dlouhé intervaly mezi jednotlivými sečemi snižují kvalitu sklizené fytomasy. Lze říci, že optimální termín sklizně je od počátku metání, až po úplné metání, které převládá na většině travního porostu. Jestliže bude porost sklizen dříve, bude mít vyšší kvalitu s nižšími výnosy fytomasy. Naopak později sklizený porost bude mít vyšší výnosy fytomasy s nižší kvalitou. V praxi se nejčastěji setkáváme s dvou a tří sečným hospodařením, které dosahuje nejlepšího poměru mezi výnosem, kvalitou a ekonomickou stránkou (Frame, 2000; Prochnow *et al.*, 2009). Fuksa *et al.* (2012) dodávají, že při sečení porostu by měla být sledovaným parametrem také výška seče, která udává, kolik asimilační plochy a rezervního materiálu zanecháme pro další regeneraci porostu. Optimální výška seče by se měla pohybovat v rozmezí 30 až 40 mm.

Amon *et al.* (2007) v pokusu sledovali rozdíly ve výnosech sušiny fytomasy při jedné, dvou a třech sečích provedených na horském travním porostu. Při jednosečném hospodaření byly výnosy fytomasy nejnižší (4,2 t_{sušiny}/ha). Naopak při dvou sečích za vegetační období byly výnosy nejvyšší (6,4 t_{sušiny}/ha). V případě pokusu s třemi sečemi byl výnos fytomasy 5,9 t_{sušiny}/ha. Dodávají, že počet sečí je nutné přizpůsobit konkrétním stanovištním podmínkám, kdy za příznivých podmínek může dojít k vyšším výnosům biomasy při vyšším počtu sečí.

Průzkum provedený na území České republiky sledoval výnosy fytomasy u dvou a čtyř sečí provedených při různé úrovni hnojení. Obdobně, jako v pokusu provedeném Amon *et al.* (2007), také z výsledků experimentu provedeného Fuksa *et al.*, (2012) vyplývá, že bylo dosaženo nejvyšších výnosů fytomasy při dvou sečích provedených za vegetační období, a to jak u nehnojené varianty, tak u různě hnojených variant (viz. Tab. 1).

Tab. 1: Vliv četnosti sečí a hnojení na výnosy fytomasy TTP ($t_{\text{sušiny}}/\text{ha}$), průměr z let 2007 – 2009, Nicov, Česká republika.

Počet sečí	Hnojení (kg/ha)	1. seč	2. seč	3. seč (t/ha)	4. seč	Celkový výnos
2 seče	$N_0P_0K_0$	3,92	1,97	x	x	5,89
	$N_{40}P_0K_0$	4,77	2,14	x	x	6,91
	$N_{80}P_0K_0$	5,41	2,76	x	x	8,17
4 seče	$N_0P_0K_0$	2,68	1,44	1,23	0,40	5,76
	$N_{40}P_0K_0$	2,84	1,48	1,26	0,34	5,92
	$N_{80}P_0K_0$	3,16	1,90	1,44	0,39	6,89

(Fuksa *et al.*, 2012)

3.1.3.2 Hnojení

V případě energetického využití TTP dochází k jednostrannému odebrání živin spolu s posečenou fytomasou. Částečně jsou živiny odebrané z půdy nahrazovány samotnými půdními zdroji a depozicí. Především na porostech s vyšší frekvencí kosení však zpravidla není půda již schopna odebrané živiny vytvořit v dostatečném množství. Je proto nutné živiny dodávat racionálním hnojením s komplexním přístupem vyžadujícím posouzení mnoha faktorů. Základem je zhodnocení rozmanitosti a složení porostu ve vztahu k vodnímu režimu a nutričním hodnotám stanoviště. Spolu s těmito faktory je potřeba vzít v potaz klimatické podmínky stanoviště a intenzitu sečení. Na základě získaných výstupů je dále zvolen vhodný druh hnojiva spolu se způsobem a termínem jeho aplikace. Vlivem dodržení těchto zásad lze navíc zkulturnit méně hodnotné porosty a navýšit podíl žádoucích travních druhů (Mrkvička a Veselá, 2001; Bernhardt-Römermann *et al.*, 2011). Žádoucí travní druhy jsou schopny efektivně využívat dodané živiny k vytvoření většího množství fytomasy, díky čemuž získají konkurenční výhodu nad méně žádoucími druhy (Lepš, 1999). Mrkvička a Veselá (2001) upozorňují, že v případě nevhodné aplikace hnojiv může dojít k žádným, nebo i negativním změnám v porostu. Dále dodávají, že extrémní klimatické i půdní podmínky a vodní režim stanoviště výrazně snižují produkční účinnost živin z dodaných hnojiv.

V praxi se setkáváme nejčastěji s hnojivy obsahujícími především dusík, fosfor a draslík, dále pak v menší míře vápník a hořčík. Vlivem jejich vyrovnané aplikace lze dosáhnout až 200% navýšení výnosů biomasy. Nedochází-li k vyrovnané aplikaci všech tří prvků spolu s dalšími mikro a makroprvky, může dojít k snížení výnosů biomasy oproti plně hnojenému porostu (Honsová *et al.*, 2007; Liebisch *et al.*, 2013).

Za odborně nejnáročnější hnojení s významným vlivem na výnosy fytomasy travního porostu je považováno hnojení dusíkem. Dusík je v půdě přítomen z 98 až 99 % v organické formě, která je rostlinám až na výjimky nepřístupná. Zbylé 1 až 2 % jsou v půdě zastoupeny v amonné formě a ve formě dusičnanových iontů, tedy formách rostlinám dobře přístupným (Hrabě a Buchgraber, 2004). Dobrá pohyblivost dusíku v půdě i rostlině je důvodem rychlé odezvy porostu na jeho aplikaci. Negativním rysem mobilního dusíku je jeho vyplavování do podzemních vod, pokud je v půdě rostlinami nevyužitým, přebytečným množstvím (Jarvis, 2000; Mrkvička a Veselá, 2001; Fornara *et al.*, 2013). Množství aplikovaného dusíku je navíc důležitý faktor, který může významně ovlivnit nejen kvantitu, ale rovněž kvalitu fytomasy (Kacprzak *et al.*, 2012; Gützloe *et al.*, 2014).

Pohyblivost fosforu v půdním profilu je oproti dusíku jen velmi malá vlivem pevných chemických vazeb. To je také důvodem, proč je odezva porostu na hnojení fosforem zprvu pomalejší a plně se projeví až v řádech několika let (Mrkvička a Veselá, 2001).

Třetím nejčastěji používaným prvkem pro zvýšení úrodnosti travních porostů je draslík. Oproti fosforu je dostupnost draslíku na lučních půdách větší. Podobně jako u fosforu, také na draselné hnojení má porost tendence reagovat až s postupem času (Mrkvička a Veselá, 2001; Malhi *et al.*, 2010).

Jak je patrné z tabulky 2, se zvyšujícím se množstvím aplikovaných živin rostou také výnosy fytomasy. Celkový výnos sušiny pro nehnojenou variantu činil 6,08 t/ha, při aplikaci N₁₅₀P₄₀K₁₀₀ došlo k nárůstu biomasy na 9,54 t/ha. Významný vliv hnojení byl pozorován především při první seči. U druhé a třetí seče již byly rozdíly zanedbatelné (Fuksa *et al.*, 2012).

Tab. 2: Vliv hnojení na výnosy biomasy trvalých travních porostů (t_{sušiny}/ha), průměr let 2007 – 2009, Černíkovice

Hnojení (kg/ha)	1. seč	2. seč	3. seč (t/ha)	Celkový výnos
N ₀ P ₀ K ₀	2,66	2,54	0,88	6,08
N ₀ P ₄₀ K ₁₀₀	3,52	3,00	0,95	7,46
N ₅₀ P ₄₀ K ₁₀₀	4,64	3,00	0,97	8,62
N ₁₅₀ P ₄₀ K ₁₀₀	5,46	3,13	0,95	9,54

(Fuksa *et al.*, 2012)

Jiný experiment ukázal, že při zvýšení hnojení dusíkem (z 40 kg N/ha na 120 kg N/ha) dojde k lineárnímu zvýšení výnosů zelené biomasy chrastice rákosovité z 32 t/ha na 46,3 t/ha.

Avšak, jak již bylo uvedeno, hnojení travních porostů určených k produkci bioplynu je potřeba chápat v širší perspektivě. Přestože s větším množstvím aplikovaných živin zpravidla roste množství sklizené biomasy, nemusí tomu tak být v případě substrátové výtěžnosti bioplynu, která je jedním z klíčových faktorů celkové produkce bioplynu (Kacprzak *et al.*, 2012).

3.1.3.3 Vliv sečení a hnojení na druhovou skladbu

Travní porost je definován jako vícedruhové společenstvo sestávající především ze tří základních složek, kterými jsou trávy (*Poaceae*), vikvovité (*Viciaceae*) a byliny (Hrabě a Buchgraber, 2004). Tato rostlinná společenstva na sebe vzájemně působí v pedosféře a nadzemní části porostu v závislosti na klimatických a stanovištních podmínkách. Pro maximální navýšení výnosů a kvality porostu se v praxi využívá výše zmíněné sečení a hnojení, které má však kromě významného přímého vlivu na nárůst fytohmoty také vliv nepřímý. Efekt nepřímého vlivu spočívá ve změně druhové skladby porostu. Tento faktor je nutné brát v potaz vzhledem k optimalizaci hospodaření na travních porostech (Fuksa *et al.*, 2012). Důležitý je poznatek pozitivní korelace mezi počtem sečí a hnojením v pokusu provedeném na TTP v Německu, který dokazuje, že intenzita hnojení a sečení je obvykle ve vzájemném vztahu (Socher *et al.*, 2012).

Obecně platí, že časté **sečení** snižuje procento vysoce rostoucích travních druhů a naopak zvyšuje procento světlomilných rostlin s nízkým vzrůstovým habitem včetně jetelovin, které mají pozitivní vliv na úrodnost půdy díky schopnosti asimilovat vzdušný dusík pomocí rhizobiálních bakterií vyskytujících se v kořenech rostlin (Soussana a Tallec, 2010; Štýbnarová *et al.*, 2015). Prochnow *et al.* (2009) shrnují výsledky studií, které poukazují na fakt, že dochází k poklesu druhové diverzity zejména v případě tří a více sečí za vegetační období. V případě nižšího počtu sečí (1 – 2) za vegetační období může naopak dojít k zvýšení druhové skladby. Tyto výsledky korespondují s výsledky rozsáhlého pokusu, jenž potvrzuje, že porosty ošetřené vyšším počtem sečí byly zastoupeny nižším počtem rostlinných druhů oproti porostům s menším počtem sečí. Prokazatelný vliv na druhovou skladbu má také termín seče. Porosty sečené časně ve vegetačním období vykazovaly nižší druhovou bohatost oproti porostům sečeným později (Socher *et al.*, 2012).

Vlivem **hnojení** dochází k zvýšení množství dostupných živin pro rostliny v půdě. To má za následek zvýhodnění rychle rostoucích rostlin schopných rychlého příjmu dodaných živin a současnou eliminaci rostlin méně konkurenceschopných. Často tak dochází ke zvýšení

hustoty porostu způsobující nižší propustnost slunečního záření do spodnějších vrstev porostu. Nedostatek záření pak ještě více umocňuje konkurenční kompetici v rostlinných společenstvech (Guo a Berry, 1998).

Hnojení dusíkem v průměrných dávkách 35 kg N/ha způsobilo snížení druhové diverzity až o 19 %, přičemž pokryvnost travami vrostla o 14 % (Socher *et al.*, 2012). Hloucalová *et al.* (2015a) dospěli k závěru, že při aplikaci N₉₀P₃₀K₆₀ kg/ha došlo k navýšení travami až na 60,3 % oproti nehnojenému porostu, u kterého pokryvnost travami činila 40,3 %. Fuksa *et al.* (2012) shrnují obdobný vliv hnojení, především pak dusíku, kdy s jeho aplikací došlo úměrně k zvýšení pokryvnosti travami v závislosti na velikosti dávek.

Také jeteloviny významně reagují na aplikaci hnojiv. Vlivem aplikace P₃₀K₆₀ kg/ha došlo k navýšení pokryvnosti jetelovinami o 10,7 %. Vlivem aplikace N₉₀P₃₀K₆₀ kg/ha došlo pouze k mírnému navýšení jetelovin o 1,9 %. Při nejvyšší dávce N₁₈₀P₃₀K₆₀ kg/ha pak došlo k poklesu jetelovin o 3,1 % (Hloucalová *et al.*, 2015a). V jiném pokusu byly dosaženy obdobné výsledky, kdy s aplikací P a K došlo k zvýšení zastoupení jetelovin o téměř 6 %, oproti nehnojenému porostu (Honsová *et al.*, 2007).

U zastoupení ostatních bylinných druhů došlo k poklesu o 16,2 % vlivem aplikace N₁₈₀P₃₀K₆₀ kg/ha oproti nehnojené variantě. U varianty N₉₀P₃₀K₆₀ kleslo zastoupení bylin dokonce o téměř 22 % oproti nehnojenému porostu (Hloucalová *et al.*, 2015a).

K zajímavému zjištění dospěli Hejzman *et al.* (2007), a to že největší rozdíly ve struktuře a složení porostu byly mezi porostem hnojeným a nehnojeným fosforem. Z výsledků vyplynulo, že prokazatelně nižší výšku měl porost nehnojený fosforem.

Mnoho autorů potvrzuje, že při dlouhodobé a pravidelné aplikaci hnojiv, především pak dusíku, dochází k negativnímu snížení druhové skladby porostů až o 60 % (Wedin *et al.*, 1996; Fuksa *et al.*, 2012). Na základě těchto výsledků jasně vyplývá, že hnojení má zásadní vliv nejen na přímý nárůst fytomasy, ale také na botanické složení porostu, které může mít významný vliv na kvalitu bioplynu z travních porostů.

3.2 Produkce bioplynu z fytomasy TTP

Cílem získávání energie z fytomasy určené k zásobování bioplynových stanic je dosáhnout co nejvyšších výnosů bioplynu na jednotku plochy (m³/ha). Výtěžnost bioplynu na jednotku plochy je dána parametry substrátové výtěžností bioplynu (l/kg_{ODM}, ODM – organická sušina) a množstvím sklizeného produktu (kg_{ODM}/ha). Substrátová výtěžnost bioplynu závisí na

kvalitě fytomasy, ale také na technologických postupech bioplynové stanice. Vhodná kombinace výnosů a kvality fytomasy je tak klíčová pro celkové množství získaného metanu (Prochnow *et al.*, 2009).

Biomasa je přetvářena na bioplyn za pomoci anaerobní digesce. Samotný bioplyn je z největší části tvořen energeticky hodnotným metanem a v menší míře pak oxidem uhličitým a dalšími plyny. Právě poměr metanu, oxidu uhličitého a dalších dílčích plynů udává výslednou kvalitu bioplynu (Straka *et al.*, 2010). Kvalita i množství bioplynu jsou především závislé na chemickém složení fermentované fytomasy, které lze mimo jiné ovlivnit hospodařením na porostech. Mnoho vědeckých prací dokazuje významný vliv termínu seče na substrátovou výtěžnost bioplynu (Kandel *et al.*, 2013; McEniry a O'Kiely, 2013; Gützloe *et al.*, 2014; Herrmann *et al.*, 2014). Méně pozornosti je věnováno vlivu hnojení na výtěžnost bioplynu, který může mít také významný vliv (Kacprzak *et al.*, 2012).

Vyprodukovaný bioplyn lze využít nejen k přímé výrobě elektrické energie, ale lze jím také vytápět domácnosti, nebo po úpravě jej lze využívat jako pohonnou hmotu pro dopravní prostředky. Může se tak stát plnohodnotnou náhradou neobnovitelného zemního plynu (Murphy a Power, 2009). Využití bioplynu se navíc řadí mezi obnovitelné postupy výroby energie, kde množství oxidu uhličitého vzniklého během přeměny organické hmoty na bioplyn se rovná množství oxidu uhličitého asimilovaného během fotosyntézy rostlin. Nedochozí tedy k navyšování množství oxidu uhličitého vypouštěného do atmosféry (Benda *et al.*, 2012; Boulamanti *et al.*, 2013).

3.2.1 Anaerobní digestce

Anaerobní digestce organických materiálů je souborem procesů, při nichž směsná kultura mikroorganismů postupně rozkládá biologicky rozložitelnou organickou hmotu bez přístupu kyslíku za vzniku bioplynu. Jedná se o vícestupňový systém, kde dílčí procesy na sebe navazují a podílí se na nich několik základních skupin mikroorganismů. Produkty jednotlivých skupin mikroorganismů se pak stávají substrátem pro další skupiny až do vzniku metanu. Jednotlivé procesy vývoje bioplynu jsou hydrolýza, acidogeneze, acetogeneze a metanogeneze (Straka *et al.*, 2010).

Hydrolýza je první fází rozkladu organické hmoty, která není uskutečňována vlastními metanogeny a často začíná ještě v přítomnosti kyslíku. Hydrolytické mikroorganismy (obligátní a fakultativní anaeroby) rozkládají makromolekulární rozpuštěné organické látky (sacharidy, lipidy, proteiny) pomocí extracelulárních hydrolytických enzymů

na nízkomolekulární vodorozpustné produkty, jako jsou jednoduché sacharidy, glycerol, vyšší mastné kyseliny, aminokyseliny a voda. Tyto látky jsou již mikroorganismy schopny absorbovat do nitra buněk. Hydrolýza sacharidů trvá v této fázi řádově několik hodin, zatímco hydrolýza proteinů a lipidů trvá řádově několik dní. Degradace lignocelulózy a ligninu je pak velmi pomalá a ne vždy proběhne úplně. Výzkum zaměřený na zvýšení efektivity hydrolýzy však napovídá, že nové technologie budou hrát podstatnou roli při získávání metanu z fyto-masy TTP (Chandra *et al.*, 2012; Orozco *et al.*, 2013).

Během **acidogeneze** jsou produkty hydrolýzy dále rozkládány uvnitř buněk mikroorganismů na jednodušší organické látky. Především se jedná o karboxylové kyseliny s krátkými řetězci, jako jsou kyselina octová, kyselina propionová, kyselina máselná atd. V malých množstvích se pak také tvoří kyselina mléčná, alkohol, vodík a oxid uhličitý (Ust'ak a Váňa, 2004; Chandra *et al.*, 2012). Fermentací všech těchto látek se tvoří řada jiných konečných redukovaných látek, které jsou závislé na charakteru počátečního substrátu a na podmínkách prostředí uvnitř fermentoru. Důležitým sledovaným parametrem této fáze je koncentrace přechodných vodíkových iontů, které ovlivňují metabolismus acetogenních bakterií. Přílišná koncentrace vodíku může snížit produkci žádoucích sloučenin (kyselina octová, oxid uhličitý, vodík), je proto účelné udržovat nejnižší možný parciální tlak vodíku (Weiland, 2010).

Ve fázi **acetogeneze** transformují specifické kmeny bakterií produkty acidogeneze především na kyselinu octovou, vodík a oxid uhličitý. Acetogenní bakterie dále přeměňují organické kyseliny a alkoholy na acetáty, které spolu s kyselinou octovou, vodíkem a oxidem uhličitým slouží jako substrát pro metanogenní bakterie. Důležitá je symbióza acetogenních a metanogenních bakterií, kdy metanogenní bakterie spotřebovávají přebytečný vodík vyprodukovaný acidogenními bakteriemi k tvorbě metanu.

Metanogeneze je poslední fází anaerobní digesce vyžadující striktně anaerobní podmínky prostředí. Různé kmeny metanogenních mikroorganismů jsou schopny rozkládat různé produkty hydrolýzy, acidogeneze a acetogeneze. Zpravidla ale metanogenní mikroorganismy využívají jako substrát pro produkci metanu kyselinu octovou, acetát, vodík, oxid uhličitý, ale také metanol. U metanogenních mikroorganismů jsou klíčové především dva mechanismy, a to schopnost oxidace vodíku a redukce oxidu uhličitého. Využívají tak oxid uhličitý jako terminální akceptor elektronů při přeměně látek na metan (Chandra *et al.*, 2012).

3.2.1.1 Základní parametry anaerobní digesce

Průběh anaerobní digesce je ovlivněn některými základními parametry, jejichž optimální hodnoty jsou nutné pro efektivní fungování jednotlivých druhů anaerobních bakterií a celého procesu digesce. Mezi tyto základní parametry patří:

Retenční čas – obecně, čím delší je retenční čas, tím více se vyprodukuje bioplynu a naopak dojde ke snížení množství rozložitelných látek v substrátu. Množství vyprodukovaného bioplynu na počátku anaerobní digesce prudce stoupá, s postupem doby trvání pak dochází k postupnému poklesu, až do konce rozkladu biomasy. Doba retence substrátu ovlivňuje také množství vyprodukovaného metanu (Yadvika *et al.*, 2004).

Teplota – rozdíly v provozních teplotách, dokonce i jen několik stupňů, mohou ovlivnit téměř veškerou biologickou aktivitu, nebo ji úplně zastavit. Obzvláště citlivé jsou metanogenní bakterie, které jsou ve většině případů aktivní v mezofilních (30 – 35 °C) a méně pak termofilních (50 – 60 °C) teplotních režimech. Termofilní režim fermentace oproti mezofilnímu přináší mnohé výhody, jako je kratší doba rozkladu organické hmoty, redukce množství patogenů a vyšší produkce bioplynu. Nevýhodou je naopak obtížnější kontrola procesu fermentace (Orozco *et al.*, 2013).

Hodnota pH – je parametr, který rovněž významně ovlivňuje aktivitu mikroorganismů v procesu anaerobní digesce. V počáteční fázi anaerobní digesce produkují acidogenní bakterie množství těkavých kyselin a oxidu uhličitého. V této fázi dochází k poklesu pH pod hodnotu 6. Následuje nárůst pH do neutrálních, až alkalických hodnot, pohybujících se okolo pH 7 – 8, ale i vyšších. Za těchto podmínek metanogenní bakterie konzumují produkty acidogenních bakterií a produkují metan. Hodnota pH mimo rozsah 6,0 – 8,5 je pro metanogenní bakterie toxická. Optimální hodnota pH pro tvorbu metanu se pohybuje v rozmezí 7,0 – 7,2 (Chandra *et al.*, 2012).

Složení substrátu – obecně může být pro anaerobní digesci použita jakákoliv biomasa, pokud obsahuje sacharidy, proteiny a lipidy jakožto hlavní komponenty. Nicméně z ekonomicko-technologických důvodů jsou materiály preferované a materiály méně vhodné. Výnosy a složení bioplynu jsou značně ovlivněny složením fermentovaného materiálu a především pak zastoupením sacharidů, proteinů a lipidů. Při anaerobní digesci sacharidů činil výnos bioplynu 886 litrů (koncentrace metanu okolo 50 %) na kilogram rozložených těkavých pevných látek. U lipidů dosahoval celkový výnos bioplynu 1535 litrů (koncentrace metanu okolo 70 %) na kilogram těkavých pevných látek a u proteinů bylo získáno 587 litrů bioplynu (koncentrace metanu okolo 84 %) na kilogram těkavých pevných látek. Stejně tak je

důležitý obsah vody v substrátu, který by se měl pohybovat okolo 90 %. Při větším množství vody dochází k nižšímu využití objemu fermentoru, a tím ke snížení výnosů bioplynu na jednotku objemu. Naopak, pokud je obsah vody příliš nízký, dochází k přílišnému nahromadění kyseliny octové a dochází k inhibici fermentace. Při digesci různých druhů biomasy je proto nutné brát v potaz jejich obsah vody (Straka *et al.*, 2010; Weiland, 2010; Chandra *et al.*, 2012).

Hodnota C:N – různé druhy fytomasy mají různé chemické složení a tedy také různý poměr uhlíku k dusíku. Dusík je prvek nutný pro tvorbu buněčných struktur mikroorganismů. Pokud je tedy dusík v poměru s uhlíkem v nedostatečném množství, dochází k nedostatečnému nárůstu metanogenních bakterií a potenciál fytomasy není plně využit. Na druhou stranu, pokud je dusík v substrátu v nadbytečném množství, může dojít k tvorbě amoniaku, který při vyšších koncentracích zpomaluje, nebo i zastavuje metanogenní proces. Za optimální poměr C:N pro anaerobní digesci je považována hodnota v rozmezí od 20 – 30:1. V praxi je fytomasa s rozdílným poměrem C:N mixována tak, aby došlo k optimalizaci poměru a zvýšení výnosů metanu (Chandra *et al.*, 2012).

3.2.1.2 Výtěžnost bioplynu

Substrátová výtěžnost bioplynu (l/kg) udává množství výtěžku bioplynu z určitého množství fermentované fytomasy a představuje základní kvalitativní charakteristiku v procesu výroby energie za pomoci anaerobní digescce. Zásadní vliv udávající výtěžnost bioplynu je dán obsahem jednotlivých živin (proteiny, lipidy, sacharidy) fermentovaného substrátu, které mohou být rozloženy na metan a oxid uhličitý. Z praktického hlediska je výhodné znát teoretické množství vyprodukovaného bioplynu. A právě na základě obsahu těchto živin byl vytvořen tzv. MEVM – Methane Energy Value Model. Model MEVM využívá regresních modelů k odhadu výnosu metanu nejen TTP, ale i jiných významných energetických plodin. Nevýhodou modelu může být fakt, že je založen na laboratorních testech, které se blíží ideálním podmínkám. Za běžných podmínek se proto výnosy metanu v bioplynové stanici budou od modelu MEVM v závislosti na technické úrovni zařízení lišit (Amon *et al.*, 2007).

Výtěžnost bioplynu z jednotky plochy (m³/ha) slouží jako základní ukazatel ekonomické efektivity energeticky využívaných TTP. Kromě chemického složení je množství bioplynu závislé na množství sklizené fytomasy. Přijatelného zisku z bioplynu lze dosáhnout díky vysokým výnosům kvalitní fytomasy, středně dlouhým dopravním vzdálenostem

a příznivým terénním podmínkám obhospodařovaných polí (Blokina *et al.*, 2011). Přestože jsou vysoké výnosy fytomasy TTP žádoucí, mohou mít faktory navyšující množství fytomasy také negativní vliv na její kvalitu (Fuksa *et al.*, 2012; Allison *et al.*, 2012; Murozuka *et al.*, 2014).

3.2.2 Kvalita bioplynu fytomasy TTP

Bioplyn je z největší části tvořen energeticky hodnotným metanem a v menší míře pak nevyužitelným oxidem uhličitým a dalšími plyny. Právě poměr metanu, oxidu uhličitého a ostatních dílčích plynů udává výslednou kvalitu bioplynu (Straka *et al.*, 2010). Koncentrace metanu vyprodukovaného ze substrátu závisí především na obsahu látek (proteiny, lipidy, vláknina, bezdusíkaté látky), které mohou být rozloženy právě na metan a oxid uhličitý (Amon *et al.*, 2007). Zejména však vláknina, která je z významné části tvořena hemicelulózou a ligninem, je při anaerobní digesti obtížně rozkládána. S větším množstvím těchto látek ve fermentované biomase tak dochází k nižší výtěžnosti metanu (McEniry a O'Kiely, 2013). Jednou z hlavních strategií je tak výzkum zabývající se snižováním těchto nežádoucích látek, především pak ligninu (Bosch a Hazen, 2014).

3.2.2.1 Fytomasa TTP

Fytomasa se skládá převážně z celulózy, hemicelulózy a ligninu. Dále se ve fytomase objevují pektiny, proteiny, lipidy, extraktivní a minerální látky (Jorgensen *et al.*, 2007; Murozuka *et al.*, 2014).

Hlavní stavební složkou buněčných stěn rostlin je celulóza, která je charakteristická vláknitou strukturou. Celulóza se v biomase nachází v krystalické a amorfní formě. Hlavní podíl však tvoří krystalická forma, zatímco amorfní složka, která je lépe enzymaticky degradovatelná, tvoří pouze malé procento. Dlouhé řetězce polymerů celulózy jsou navzájem propojeny vodíkovými můstky spolu s van der Waalsovými silami a tvoří mikrovláknina tzv. mikrofibrily, které jsou propojeny hemicelulózou (amorfní polymery různých sacharidů) a ligninem. Velké a složité molekuly ligninu jsou pak sestaveny z fenolických monomerů. Právě hemicelulóza a především pak lignin jsou látky nejvíce problematické v procesu anaerobní digestce, kde jsou jen velmi málo, nebo nejsou vůbec rozložitelné mikroorganismy. Obecně lze však říci, že travní druhy obsahují nižší množství ligninu. Navíc díky správnému obhospodařování TTP lze snížit obsah nežádoucích látek v porostu, a tím také dosáhnout

vyšší výtěžnosti a kvality bioplynu (Casler *et al.*, 2008; Prochnow *et al.*, 2009; Chandra *et al.*, 2012).

Z dosavadních výzkumů vyplývá, že chemické složení porostů se významně mění se stářím porostu, ale také s aplikací hnojiv, která mají vliv na změnu rostlinných společenstev, ale také mohou přímo ovlivňovat chemismus buněčných stěn rostlin (Prochnow *et al.*, 2009; Kacprzak *et al.*, 2012; Kandel *et al.*, 2013; Hloucalová *et al.*, 2015a). Allison *et al.* (2012) dodávají, že přestože dochází ke stejnému postupu obhospodařování u stejného druhu porostu, tak se může obsah látek v buněčných stěnách rostlin výrazně měnit na základě vlivů konkrétního roku.

3.2.2.2 Vliv termínu sklizně

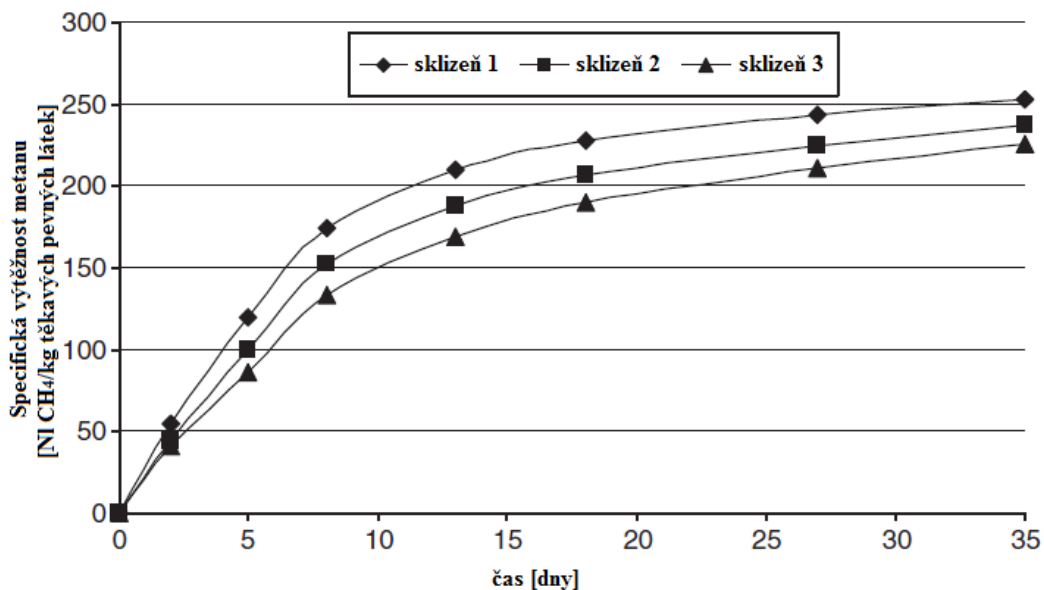
Závislost výnosů metanu na stupni zralosti TTP je podstatným faktorem, který může být negativně ovlivněn špatným načasováním termínu první seče spolu s celkovým počtem sečí za vegetační období (Amon *et al.*, 2007).

Výsledky výzkumu zaměřeného na výnosy metanu u pěti druhů běžných trav v závislosti na stupni jejich zralosti dokazují, že u všech testovaných druhů došlo s oddalující se sklizní ke snížení substrátové výtěžnosti metanu (Graf 2). Současně došlo ke zvýšení obsahu vlákniny (celulóza, hemicelulóza, lignin) a snížení obsahu proteinů a vodou rozpustných sacharidů v rostlinách uložených. Tyto výsledky tak potvrzují vliv stáří porostu na výtěžnost metanu danou změnami chemického složení rostlin (Allison *et al.*, 2012; McEniry a O'Kiely, 2013). Také v pokusu provedeném Mohammed *et al.* (2014) vykazovaly buněčné stěny rostlin sklizených v říjnu zvýšený obsah nerozpustných látek oproti porostu sklizenému v červenci.

U travního porostu nacházejícího se v rakouských Alpách byly zjištěny obdobné výsledky výzkumu. Substrátová výtěžnost metanu klesala postupně z hodnot 221 – 362 litrů CH₄/kg_{sušiny} ve vegetativní fázi rostlin na 171 litrů CH₄/kg_{sušiny} v generativní fázi, až na 153 litrů CH₄/kg_{sušiny} při pozdní seči provedené v srpnu (Amon *et al.*, 2007).

Prochnow *et al.* (2009) shrnují mnoho systematických pokusů, jejichž výsledky prokázaly, že s narůstajícím stářím porostu se snižuje substrátová výtěžnost bioplynu. Butkutė *et al.* (2014) upozorňují na kolísání metanu u určitých druhů trav v závislosti na jejich stáří.

Graf 2: Vliv termínu sklizně (sklizeň 1=12. května, sklizeň 2=9. června, sklizeň 3=7. července; průměr testovaných trav) na kumulativní výnos metanu v 35 denních batch testech



(McEniry a O'Kiely, 2013)

3.2.2.3 Vliv hnojení

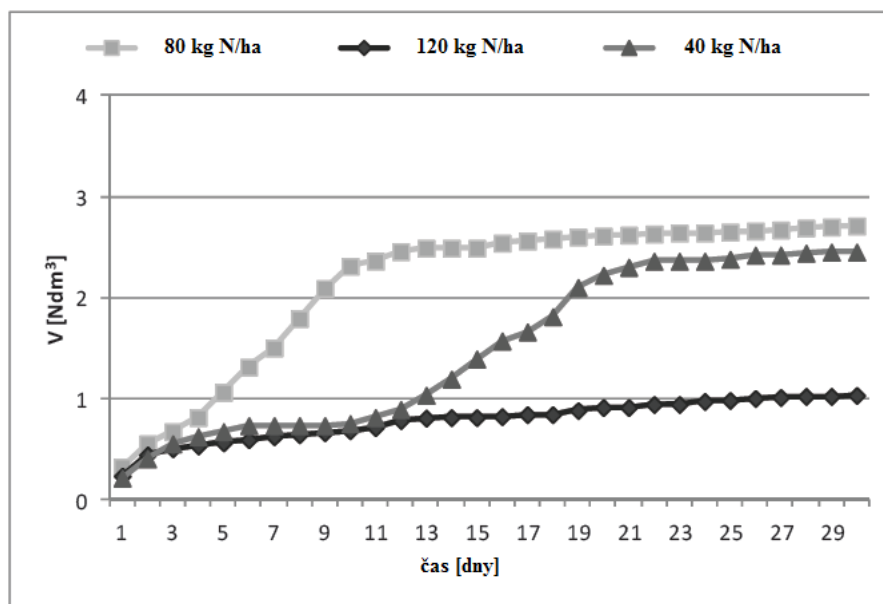
Vliv hnojení na kvalitu a množství bioplynu z TTP může být dvojího charakteru. Na základě mnoha výzkumů je prokázáno, že vlivem aplikace živin dochází ke změnám v rostlinných společenstvech (kapitola 3.1.3.3) a tedy i ke změnám chemického složení porostu, stejně tak však může dojít přímo ke změnám chemického složení buněčných stěn jednotlivých rostlin.

Při aplikaci 150 kg N/ha (dusičnan amonný) došlo u porostu chřastice rákosovité (*Phalaris arundinacea*) k významnému zvýšení obsahu neutrální detergentní vlákniny (celulóza, hemicelulóza, lignin) o 3,5 % a zvýšení obsahu samotné celulózy o 7,5 %. K nejvýznamnějším změnám však došlo u ligninu, který zvýšil svůj obsah o 10 % (Klasonova metoda). Vyšší dávky hnojiva již neměly významný vliv na zvýšení obsahu ligninu. Hnojení dusíkem dále způsobilo malé, ale významné snížení obsahu hemicelulózy. Z výsledků také vyplývá, že aplikace dusíku měla menší vliv na složení buněčné stěny, než vliv termínu sklizně i ročníku (Allison *et al.*, 2012). U pšeničné slámy došlo vlivem aplikace hnojiva (dusičnan amonný) také ke změnám v jejím chemickém složení. Koncentrace obsahu dusíku ve fytomase se lineárně zvyšovala z 0,32 % na 0,71 % při dávkách od 48 kg N/ha do 288 kg N. Obsah uhlíku se po aplikaci hnojiva výrazně nezměnil. Došlo však k téměř dvojnásobnému zvýšení obsahu draslíku. U křemíku došlo dokonce k postupnému snížení z 2,5 % na 1,5 % při aplikaci od 48 kg N/ha do 192 kg N/ha. Koncentrace celulózy ani hemicelulózy se

s aplikací výrazně neměnila. Naopak koncentrace ligninu s dávkou hnojiva prokazatelně vzrostla. Zajímavé je, že nejvyšší obsah ligninu obsahovala fytomasa po dávkách 144 kg N/ha a 192 kg N/ha. Při vyšších dávkách se obsah ligninu opět snižoval (Murozuka *et al.*, 2014). Mohammed *et al.* (2015) dodávají, že při aplikaci 112 kg N/ha (močovina) došlo k významnému snížení obsahu celulózy za současného zvýšení obsahu popelovin v buněčných stěnách rostlin směsného vzorku TTP.

Zvýšení obsahu ligninu a minerálních látek v buněčných stěnách rostlin vlivem přidaného hnojení koresponduje s výsledky experimentu zkoumajícího vliv hnojení dusíkem na výnosy bioplynu z chrastice rákosovité. Výsledky experimentu dokazují podstatný vliv hnojení dusíkem nejen na množství sklizené fytomasy, ale také na konečné množství bioplynu z ní získané. Z grafu 3 je rovněž patrné, že aplikace dusíku měla vliv na kumulativní produkci bioplynu. Hodnoty ukazují, že přestože dochází se zvýšením hnojením k lineárnímu zvýšení výnosů zelené fytomasy, není tomu tak s výtěžkem bioplynu. Nejvyššího výtěžku bioplynu ($126 \text{ m}^3/\text{t}_{\text{zelené hmoty}}$) bylo dosaženo při aplikaci 80 kg N/ha. Naopak nejnižšího výnosu bioplynu ($45,5 \text{ m}^3/\text{t}_{\text{zelené hmoty}}$) bylo dosaženo při aplikaci nejvyššího množství hnojiva (120 kg N/ha), jak je patrné z grafu 3 (Kacprzak *et al.*, 2012).

Graf 3: Průběh kumulativní produkce bioplynu z chrastice rákosovité při třech různých úrovních hnojení



(Kacprzak *et al.*, 2012)

Hloucalová *et al.* (2015b) ve svém pokusu zkoumajícím vliv hnojení na kvalitu fytomasy TTP nacházejícím se na Moravě, dospěli k závěru, že nejkvalitnější porost

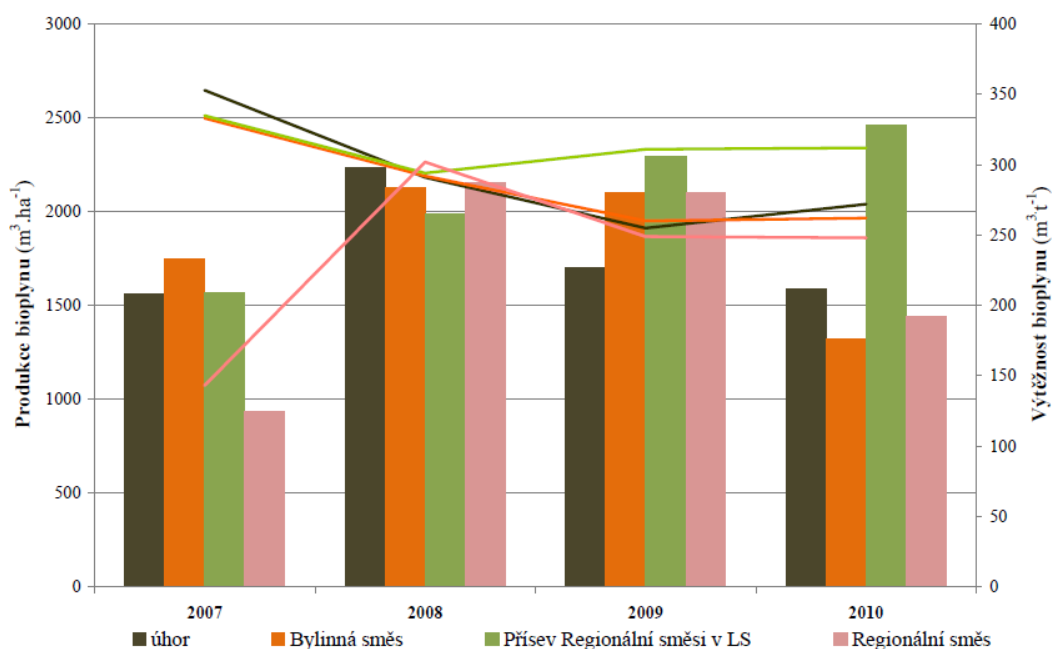
vzhledem k obsahu vlákniny, dusíkatých látek, sacharidů a popelovin byl ten, u kterého došlo k aplikaci pouze $P_{30}K_{60}$ kg/ha. Nejvíce vlákniny obsahoval porost hnojený nejvyšší dávkou hnojiva $N_{180}P_{30}K_{60}$ kg/ha.

3.2.2.4 Vliv druhového složení

Výsledky série výzkumů provedených na experimentálních travních porostech se stejným druhovým složením dokazují, že rozdíly substrátové výtěžnosti metanu mezi stejnými druhy trav nejsou významné. Ve skutečnosti se však vegetace TTP skládá z různých rostlinných společenstev. Nabízí se tak otázka, zda různé zastoupení rostlinných druhů ve společenstvech TTP mohou vést k různým hodnotám substrátové výtěžnosti metanu. Vzhledem k tomu, že různé rostlinné druhy TTP mají rozdílné chemické složení, se však dá předpokládat rozdílná kvalita a výnosy bioplynu (Prochnow *et al.*, 2009).

Jeden z výzkumů mapující výnosy bioplynu z různých druhů travních směsí o vysoké druhové diverzitě se uskutečnil na experimentálních stanovištích v České republice (Graf 4). Pro stanovení produkce bioplynu byly v letech 2007 – 2010 vybrány 4 varianty travních směsí. Varianta 1 – bylinná směs s obsahem 26 rostlinných druhů (6 trav, 2 jeteloviny, 18 bylin), varianta 2 – regionální směs tvořena trávami a jetelovinami s přidavkem bylin (6 trav, 3 jeteloviny, 22 bylin), varianta 3 – přisev regionální směsi (6 trav, 2 jeteloviny), a varianta 4 – spontánní úhor vzniklý samozatravněním na orné půdě. Z výsledků anaerobní digesce lze vyzorovat, že vyšší produkce bioplynu bylo dosaženo u směsi fytomasy s vyšším podílem jetelovin. K nižší výtěžnosti bioplynu naopak došlo u fytomasy s vyšším podílem chrpy luční. Podrobnější výzkum chrpy potvrdil, že vlivem její přítomnosti při digesci dojde k výraznému snížení výtěžnosti bioplynu. Podobný negativní vliv na metanogenezi byl pozorován také u fytomasy štírovníku růžkatého. Nejvyšší produkce bioplynu z jednotky plochy a substrátové produkce bioplynu bylo dosaženo u varianty 3, tedy u směsi sestávající pouze z trav a jetelovin. Výnosy této varianty byly vyšší o 13 až 20 % oproti ostatním směsím. Zajímavým výsledkem je také nejnižší produkce bioplynu z jednotky plochy u varianty 2, a to přestože tato varianta vykazovala nejvyšší průměrnou produkci fytomasy (Frydrych *et al.*, 2012).

Graf 4: Celková produkce a výtěžnost bioplynu u vybraných směsí, Zubří



(Frydrych *et al.*, 2012)

Variabilitu výtěžnosti bioplynu mezi jednotlivými travními druhy dokazuje výzkum provedený ve Švýcarských podnebných podmínkách. Z výsledků vyplývá, že podobných výtěžností bioplynu (490 – 540 l/kg_{sušiny}) bylo dosaženo u bojínku lučního, srhy laločnaté a chrastice rákosovité. U psárky luční pak byly naměřeny prokazatelně nižší hodnoty výnosů bioplynu (420 l/kg_{sušiny}). Obdobný pokus z oblasti jižního Německa, ve kterém byly hodnoceny výnosy substrátové výtěžnosti metanu u pěti druhů běžných lučních trav (jílek – 9 variet, kostřava luční, lipnice luční, srha laločnatá, bojínek luční), poskytl výsledky v širokém rozmezí produkce metanu od 198 do 375 l/kg_{sušiny}. Kolísání substrátové výtěžnosti metanu mezi odrudami jednoho druhu většinou překročilo šíři kolísání substrátové výtěžnosti metanu mezi samotnými druhy. Výnosy biomasy jednotlivých druhů a odrud trav pak měly větší vliv na výtěžnost metanu z jednotky plochy, než na substrátovou výtěžnost metanu (Prochnow *et al.*, 2009).

Na pokusných travních porostech nacházejících se v severozápadní Evropě byly výnosy metanu u jílků vytrvalého, jílků mnohokvětého, bojínku lučního a kostřavy rákosovité podobné. Pouze výtěžnost metanu u srhy laločnaté dosahovala nižších hodnot až o 26 %. Srha laločnatá tak byla vyhodnocena jako méně vhodný travní druh pro anaerobní digesti v podmínkách tohoto regionu (McEniry a O’Kiely, 2013). Naopak významným druhem s vhodným chemickým složením a výnosy byla vyhodnocena chrastice rákosovitá (Lötjönen a Paappanen, 2013).

4 Materiál a metody

4.1 Charakteristika stanoviště

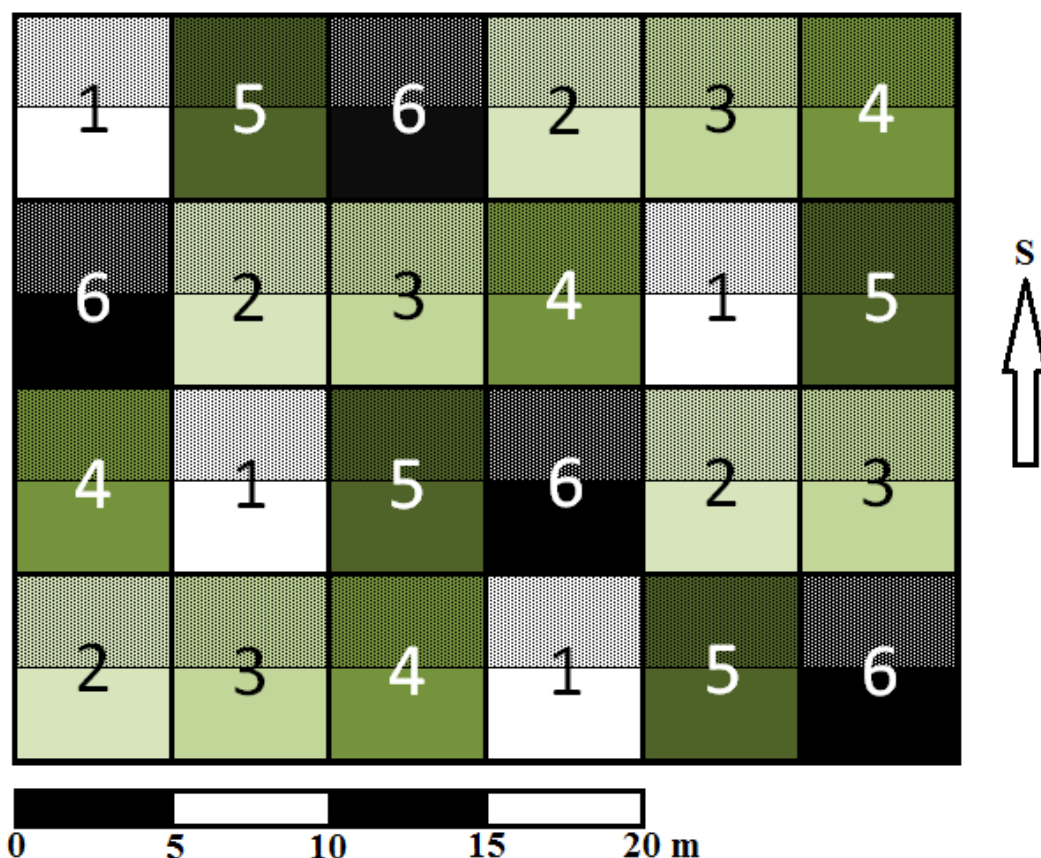
Experimentální pozemek, na kterém byl sledován vliv hnojení na trvalý travní porost, leží u obce Černíkovice (49°46'27"N, 14°34'52"E) v okrese Benešov. Stanoviště se nachází v nadmořské výšce 363 m na úrodné nivní louce typu *Alopecuretum* s roční průměrnou teplotou 8,1 °C a ročním průměrným úhrnem srážek 600 mm. Údolní louka s experimentálním pozemkem je mezofytního až mezohygrofytního charakteru s průměrnou hloubkou hladiny podzemní vody v 0,55 m. Samotná půda je hlinitá, fluvizem glejová.

4.2 Založení a design pokusu

Pokus byl založen již v roce 1966 a v současnosti je tvořen znáhodněnými bloky šesti variant hnojení v celkem čtyřech opakováních (Obr. 1), přičemž rozloha každého bloku je 5 x 3 m. Varianty hnojení jsou: nehnojená kontrola, hnojeno PK, N₅₀PK kg/ha, N₁₀₀PK kg/ha, N₁₅₀PK kg/ha, N₂₀₀PK kg/ha. Aplikace dusíku probíhá každoročně na jaře ve formě ledku amonného s vápencem (NH₄NO₃ + CaCO₃). Aplikace fosforu (40 kg/ha) ve formě superfosfátu (Ca(H₂PO₄)₂ + CaSO₄) a draslíku (100 kg/ha) ve formě draselné soli (KCl + NaCl) probíhá každoročně na podzim. Na pokusném pozemku se dále sleduje reziduální vliv hnojení (R) z minulých let.

Pro potřeby diplomové práce byly zvoleny a vyhodnoceny varianty bez hnojení (kontrola), N₅₀PK (50 kg N/ha/rok) a varianta s nejvyšší dávkou živin N₂₀₀PK (200 kg N/ha/rok).

Obr. 1: Schematické znázornění pokusného stanoviště s TTP v Černíkovcích



1	kontrola	1	R-kontrola
2	PK	2	R-PK
3	N ₅₀ PK	3	R-N ₁₀₀ PK
4	N ₁₀₀ PK	4	R-N ₂₀₀ PK
5	N ₁₅₀ PK	5	R-N ₃₀₀ PK
6	N ₂₀₀ PK	6	R-N ₄₀₀ PK

Ve spodních částech bloků se nacházejí varianty, na kterých probíhá výzkum vlivu dlouhodobého hnojení.

V horních částech bloků se zvýrazněným tečkováním se nacházejí varianty s reziduálním vlivem hnojení z minulých let.

4.3 Stanovení výnosů fytomasy a příprava vzorků pro následné testy

Stanovení výnosů fytomasy proběhlo v roce 2013 a 2014 při trojsečném využití porostu (Tab. 3).

Tab. 3: Přehled termínů sklizně fytomasy v letech 2013 a 2014

rok	1. seč	2. seč	3. seč
2013	21.6.	12.8.	7.10.
2014	3.6.	5.8.	8.10.

Porost byl posečen vždy ve střední části bloku žací lištou MF – 70 (šířka lišty 140 cm), posečený pás jednoho bloku tak tvoří 7 m². Výška posečeného porostu se pohybovala okolo 5 cm. Ihned po posečení byla fytomasa ze sledovaných bloků zvážena. Ze čtyř opakování každé varianty byly dále odebrány reprezentativní vzorky fytomasy, u nichž byl v laboratoři stanoven obsah sušiny. Fytomasa byla sušena při 60 °C do konstantní hmotnosti vzorku. Poté byla hmotnost vysušeného vzorku přepočtena na výnos suché hmoty v t/ha. Vzorky fytomasy byly rozemlety na laboratorním mlýnu se sítím s otvory o velikosti 1 mm. Pro vyhodnocení celkového obsahu popelovin a organické hmoty byla sušina fytomasy jednotlivých variant (vzorky o navážce 0,28 – 0,30 g) žihána v muflové peci při 550 °C.

4.4 Stanovení produkce bioplynu

4.4.1 Substrátová výtěžnost bioplynu

Pro testy na substrátovou výtěžnost bioplynu (SBY; ml/g) byly využity vzorky získané z první seče v letech 2013 a 2014. U vybraných variant (kontrola, N₅₀PK, N₂₀₀PK) byly v obou letech vytvořeny směsné vzorky ze 4 opakování každé varianty.

Výtěžnost bioplynu ze směsných vzorků z každé varianty byla stanovena v pěti opakováních pomocí laboratorních, jednorázových anaerobních batch testů. Testy probíhaly ve skleněných lahvích o objemu 120 ml, do nichž bylo nadávkováno 0,7 g materiálu spolu s 30 g inokula, a na závěr byl objem lahve doplněn do 80 g demineralizovanou vodou. Poté byly lahve zapečetěny gumovým septem se šroubovací maticí a umístěny v termokomoře v mezofilních podmínkách při teplotě 40 ± 1 °C. Produkce bioplynu směsných vzorků byla průběžně měřena na plynoměrné byretě, kdy bylo použito metody objemového měření produkce bioplynu, které je založeno na principu měření objemu kapaliny plynem vytlačené.

Pro získání přesných výsledků substrátové výtěžnosti bioplynu z fytomasy TTP byl současně proveden test pro stanovení substrátové výtěžnosti z inokula (také v pěti opakováních). Po odečtení dosažených hodnot z tohoto pokusu od sledovaných vzorků s fytomasou byla získána čistá substrátová výtěžnost bioplynu fytomasy TTP.

Délka trvání batch testů byla 40 dnů. Produkce bioplynu byla v průběhu testů měřena od počátku testů v jednodenních intervalech, od 11. dne ve dvoudenních intervalech a od 20. dne v intervalu 3 – 7 dnů.

4.4.2 Celková produkce bioplynu

Vynásobením průměrné substrátové výtěžnosti bioplynu každé ze sledovaných variant s množstvím sklizené sušiny totožných variant a přepočtením na plochu byla získána celková produkce bioplynu (ABY; m³/ha).

4.4.3 Kvalita bioplynu

Současně byl v průběhu testů hodnocen také obsah metanu (%) pomocí plynového chromatografu (DANI Master GC, Italy) opatřeného tepelně vodivostním detektorem a 90 m x 0,37 mm kolonou (Restek). Jako nosný plyn byl použit vodík. Injekční objem činil 0,2 ml. Teplota injektoru byla 110 °C, teplota detektoru a pece byla pak nastavena na 195 °C.

4.5 Statistické vyhodnocení výsledků

Statistické hodnocení dat bylo provedeno v programu Statistica 12. K vyhodnocení dat byla použita jednofaktorová a vícefaktorová analýza rozptylu s interakcemi (Tukey HSD test, $\alpha = 0,05$).

5 Výsledky

5.1 Výnosy sušiny fytomasy travního porostu

Celkových vyšších výnosů sušiny fytomasy bylo u každé ze tří zkoumaných variant dosaženo v roce 2013, oproti roku 2014. U kontrolní nehnojené varianty byl výnos sušiny v roce 2013 vyšší o 46,6 %, u varianty N₅₀PK o 25,6 % a u varianty N₂₀₀PK o 27,6 % oproti roku 2014.

V roce 2013 tvořila první seč celkem 52,6 % (průměr 5,76 t/ha) výnosů, druhá seč 32,2 % (průměr 3,53 t/ha) výnosů a třetí seč 15,2 % (průměr 1,67 t/ha) výnosů sušiny fytomasy z celkem tří sečí. V roce 2014 tvořila první seč 42,2 % (průměr 3,50 t/ha) výnosů, druhá seč 34,1 % (průměr 2,83 t/ha) výnosů a třetí seč 23,6 % (průměr 1,96 t/ha) výnosů sušiny fytomasy ze všech sečí. Z hlediska výnosů byla v roce 2013 i 2014 nejvýznamnější první seč.

Tab. 4: Vliv hnojení na výnosy travní fytomasy ($t_{\text{sušiny}}/\text{ha}$), Černíkovice, 2013, 2014

Varianta	1. seč	2. seč	3. seč	celkový výnos
(kg/ha)	(t/ha)			
Rok 2013				
kontrola	5,79 ^a	3,31	1,35	10,45
N ₅₀ PK	5,82 ^a	3,67	1,61	11,10
N ₂₀₀ PK	5,66 ^a	3,62	2,06	11,34
Rok 2014				
kontrola	3,01 ^a	2,53	1,59	7,13
N ₅₀ PK	4,11 ^a	2,88	1,85	8,84
N ₂₀₀ PK	3,38 ^a	3,07	2,44	8,89
P				
Rok	<0,000			
Varianta	0,642			
Rok × Varianta	0,694			

Z tabulky 4 je zřejmé, že v roce 2013 došlo vlivem zvýšené aplikace hnojiv k postupnému navýšení celkových výnosů sušiny fytomasy TTP z 10,45 t/ha na 11,34 t/ha. V roce 2014 došlo také ke zvýšení celkových výnosů sušiny fytomasy ze 7,13 t/ha (kontrola) na 8,89 t/ha (N₂₀₀PK). Mezi variantou N₅₀PK a N₂₀₀PK byl však rozdíl ve výnosech sušiny fytomasy v roce 2013 i 2014 zanedbatelný. Z výsledků dále vyplývá, že na množství získané fytomasy měl významný vliv termín seče.

Statistické zhodnocení výnosů sušiny fytomasy bylo provedeno pouze u variant odebraných z první seče, které sloužily jako podklad pro substrátovou a celkovou výtěžnost bioplynu. U statistického vyhodnocení výnosu sušiny fytomasy nebyl prokázán ($P=0,642$) významný rozdíl mezi žádnou z variant hnojení. Rovněž interakce Rok \times Varianta hnojení nebyla průkazná ($P=0,692$). Jediný statisticky průkazný rozdíl ($P<0,000$) ve výnosech sušiny fytomasy TTP byl zaznamenán mezi samotnými lety 2013 a 2014.

5.2 Substrátová výtěžnost bioplynu

V tabulce 5 jsou prezentovány dvouleté hodnoty substrátové výtěžnosti bioplynu (SBY) ze sušiny fytomasy a čisté organické hmoty travního porostu v závislosti na dávce živin.

Z výsledků je patrné, že v roce 2013 došlo s vyšší dávkou živin k poklesu průměrného substrátového výtěžku bioplynu (SBY) z 575,4 ml/g_{suš.} (kontrola) na 535,0 ml/g_{suš.} (N₅₀PK) a až na 460,5 ml/g_{suš.} (N₂₀₀PK). Pokles SBY mezi nehnojenou kontrolní variantou a variantou s nejvyšší dávkou živin N₂₀₀PK byl pak ze statistického hlediska významný. S vyšší aplikací živin došlo v roce 2013 ke snížení obsahu popelovin fytomasy TTP: 14,2 % (kontrola), 12,3 % (N₅₀PK), 10,6 % (N₂₀₀PK). Pokles obsahu popelovin v sušině fytomasy TTP vlivem vyšší aplikace živin způsobil, že pokles SBY mezi nehnojenou kontrolní variantou (670,6 ml/g_{oh.}) a variantou hnojenou N₂₀₀PK (514,9 ml/g_{oh.}) byl u čisté organické hmoty fytomasy TTP výraznější, nežli tomu bylo u SBY ze sušiny fytomasy.

Z tabulky 5 je dále patrné, že SBY v roce 2014 nenavazovala na trend z roku 2013. Vlivem zvýšeného hnojení nedošlo ke statisticky průkazným rozdílům mezi žádnou ze sledovaných variant, a to ani u sušiny, ani u čisté organické hmoty TTP. Přesto nejvyššího průměrného výtěžku bioplynu 762,7 ml/g_{suš.} bylo, obdobně jako v roce 2013, dosaženo u kontrolní varianty. Naopak nejnižšího průměrného substrátového výtěžku bioplynu (707,6 ml/g_{suš.}) bylo dosaženo u varianty hnojené N₅₀PK. V případě čisté organické hmoty fytomasy TTP bylo rovněž dosaženo nejvyšší průměrné SBY u kontrolní varianty (830,2 ml/g_{oh.}) a nejnižší u varianty N₅₀PK (771,9 ml/g_{oh.}). Obsažené množství popelovin ve fytomase se v roce 2014 oproti roku 2013 naopak s vyšší dávkou živin zvyšovalo. Jednalo se však pouze o nepatrné rozdíly, kdy u kontrolní varianty tvořil obsah popele 8,1 %, u varianty N₅₀PK 8,3 % a fytomasa varianty N₂₀₀PK obsahovala 8,8 % popelovin.

Z výsledků dále vychází najevo statisticky významný rozdíl v SBY mezi lety 2013 a 2014. Vyšších hodnot SBY bylo dosaženo v roce 2014 oproti roku 2013 a to v případě sušiny fytomasy i čisté organické hmoty TTP.

Interakce Rok \times Varianta hnojení pro SBY z organické hmoty byla statisticky průkazná ($P=0,035$). Naopak interakce Rok \times Varianta hnojení pro SBY ze sušiny fytomasy průkazná nebyla ($P=0,098$).

Tab. 5: Vliv hnojení na substrátovou výtěžnost bioplynu ze sušiny fytomasy (ml/g sušiny) a z čisté organické hmoty fytomasy (ml/g OH), Černíkovice, 2013, 2014

Rok	Varianta	Substrátová produkce bioplynu	
		ml/g sušiny	ml/g OH
2013	kontrola	575,4 ^c	670,6 ^{cd}
	N ₅₀ PK	535,0 ^{bc}	610,4 ^{bc}
	N ₂₀₀ PK	460,5 ^b	514,9 ^b
2014	kontrola	762,7 ^a	830,2 ^a
	N ₅₀ PK	707,6 ^a	771,9 ^{ad}
	N ₂₀₀ PK	732,8 ^a	803,9 ^a
<i>P</i>	<i>Rok</i>	<0,000	<0,000
	<i>Varianta</i>	0,018	0,008
	<i>Rok \times Varianta</i>	0,098	0,035

5.3 Výtěžnost bioplynu z jednotky plochy

Pro stanovení výtěžnosti bioplynu z jednotky plochy byly použity vždy pouze vzorky odebrané z první seče, která byla z hlediska výnosů fytomasy ve zkoumaných letech 2013 a 2014 nejvýznamnější.

Nejvyšší průměrný výtěžek bioplynu z jednotky plochy 3332,4 m³/ha byl v roce 2013 stanoven u nehnojené varianty. U varianty N₅₀PK byla hodnota průměrného výtěžku bioplynu z jednotky plochy 3112,3 m³/ha. Nejnižší průměrný výtěžek bioplynu z jednotky plochy 2605,7 m³/ha byl stanoven u varianty s největší dávkou živin N₂₀₀PK. V roce 2013 došlo s vyšší dávkou hnojiva ke snížení zisku množství bioplynu z jednotky plochy. Mezi nehnojenou variantou a variantou N₂₀₀PK se jednalo o statisticky významný rozdíl (Tab. 6).

V roce 2014 byl nejvyšší průměrný výtěžek bioplynu z jednotky plochy 2911,5 m³/ha zaznamenán u varianty N₅₀PK. Tato varianta dosáhla v roce 2013 statisticky podobné hodnoty. Nejnižšího průměrného výtěžku bioplynu 2296,3 m³/ha bylo dosaženo u nehnojené

kontroly, která se oproti roku 2013 statisticky významně lišila. U varianty N₂₀₀PK byl dosažen průměrný výtěžek bioplynu z jednotky plochy 2475,0 m³/ha. V roce 2013 bylo u této varianty ze statistického hlediska dosaženo podobných výsledků. V roce 2014 byl statisticky významný rozdíl mezi nehnojenou kontrolou a variantou N₅₀PK (Tab. 6).

Z tabulky 6 vyplývá, že výtěžnost bioplynu z jednotky plochy byla významně ovlivněna rokem ($P < 0,001$). Rovněž interakce Roku a Varianty hnojení byla průkazná ($P = 0,001$).

Tab. 6: Vliv hnojení na výtěžnost bioplynu z jednotky plochy (m³/ha), Černíkovice, 2013, 2014

Rok	Varianta	Celková produkce bioplynu
		m ³ /ha
2013	kontrola	3332,4 ^d
	N ₅₀ PK	3112,3 ^{cd}
	N ₂₀₀ PK	2605,7 ^{abc}
2014	kontrola	2296,3 ^a
	N ₅₀ PK	2911,5 ^{bcd}
	N ₂₀₀ PK	2475,0 ^{ab}
<i>P</i>	<i>Rok</i>	<0,000
	<i>Varianta</i>	0,002
	<i>Rok × Varianta</i>	0,001

5.4 Kvalita bioplynu

V tabulce 7 jsou uvedeny hodnoty obsahu metanu v bioplynu z fytomasy TTP v závislosti na dávce živin a době trvání anaerobní digesce v letech 2013 a 2014.

V roce 2013 byl vliv dávky živin na obsah metanu v bioplynu z fytomasy TTP statisticky průkazný v počáteční fázi anaerobní digesce mezi všemi sledovanými variantami hnojení. Nejvíce metanu (33,2 %) obsahoval bioplyn z fytomasy porostu hnojeného N₂₀₀PK. Méně metanu (31,2 %) obsahoval bioplyn varianty hnojené N₅₀PK. Nejméně metanu (22,6 %) bylo obsaženo v bioplynu z nehnojeného porostu TTP. Koncentrace metanu s počtem přibývajících dnů stoupala u všech variant, přesto se již nejednalo o statisticky průkazné rozdíly. Po 40 dnech od založení batch testů byla nejvyšší koncentrace metanu (71,0 %) naměřena u fytomasy porostu hnojeného N₅₀PK (Tab. 7).

Z tabulky 7 je dále patrné, že v roce 2014 v průběžném měření obsahu metanu v bioplynu byly, obdobně jako v roce 2013, pozorovány statisticky průkazné rozdíly

v počáteční fázi procesu anaerobní digesce. Nejvyšší koncentrace metanu (59,1 %) byla v této fázi zaznamenána u bioplynu z fytomasy nehnojené varianty. Nižší množství metanu (58,8 %) obsahoval bioplyn z fytomasy porostu hnojeného nejvyšší dávkou N₂₀₀PK a nejméně metanu (57,9 %) bylo obsaženo v bioplynu varianty N₅₀PK. Mezi nehnojenou kontrolou a variantou N₅₀PK byl stanoven statisticky průkazný rozdíl. S přibývajícím počtem dnů od založení testu se koncentrace metanu zvyšovala u všech variant, a přestože nebyly dále zjištěny průkazné statistické rozdíly, lze pozorovat zvýšené množství metanu u nehnojené varianty.

Tab. 7: Obsah metanu v bioplynu (%) stanovený v batch testech ve směsných vzorcích fytomasy z TTP v závislosti na hnojení, Černíkovice, 2013, 2014

Rok	Varianta	Čas od založení batch testů (dny)				
		1	12	20	27	40
2013	kontrola	22,6 ^a	62,9	63,7	68,1	67,4
	N ₅₀ PK	31,2 ^b	63,6	64,3	65,4	71,0
	N ₂₀₀ PK	33,2 ^c	65,4	64,0	66,9	68,2
	<i>P</i>	<0,000	0,071	0,958	0,175	0,061
2014	kontrola	59,1 ^b	57,6	62,1	66,0	68,1
	N ₅₀ PK	57,9 ^a	57,5	61,3	66,6	66,7
	N ₂₀₀ PK	58,8 ^{ab}	57,6	61,2	65,8	66,2
	<i>P</i>	0,038	0,991	0,813	0,799	0,799

5.5 Průběh kumulativní produkce bioplynu

Grafy 5 a 6 znázorňují průběh kumulativní produkce bioplynu získaného ze sušiny fytomasy TTP v závislosti na různé aplikaci živin v roce 2013 a 2014.

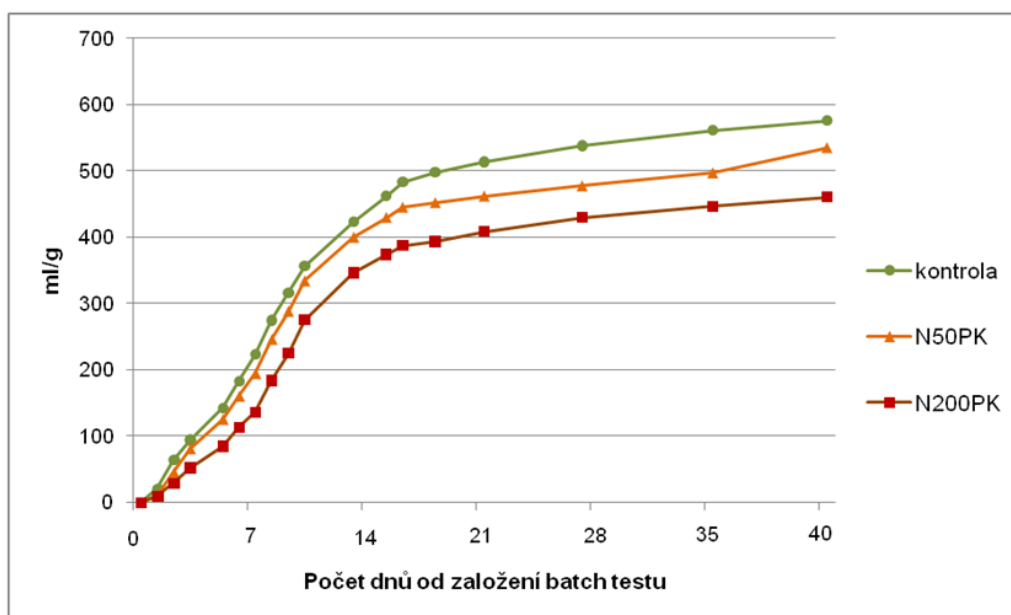
V roce 2013 bylo během prvních 14 dnů vyprodukováno více než 80 % bioplynu u všech zkoumaných variant. K nejrychlejší a zároveň nejvyšší produkci bioplynu došlo u fytomasy z nehnojeného porostu. Varianta hnojená N₅₀PK vykazovala pomalejší nárůst bioplynu. Nejpomalejší a nejnižší produkce bioplynu byla zaznamenána u porostu s největší dávkou hnojiv N₂₀₀PK (Graf 5).

Obdobně jako v roce 2013, také v roce 2014 bylo vzhledem ke kumulativní produkci bioplynu klíčových počátečních 14 dnů. Po 14 dnech od počátku anaerobní digesce činila kumulativní produkce bioplynu u všech sledovaných variant více než 90 %. Přestože se jednalo o nepatrné rozdíly, také v roce 2014 byla pozorována nejrychlejší a nejvyšší produkce

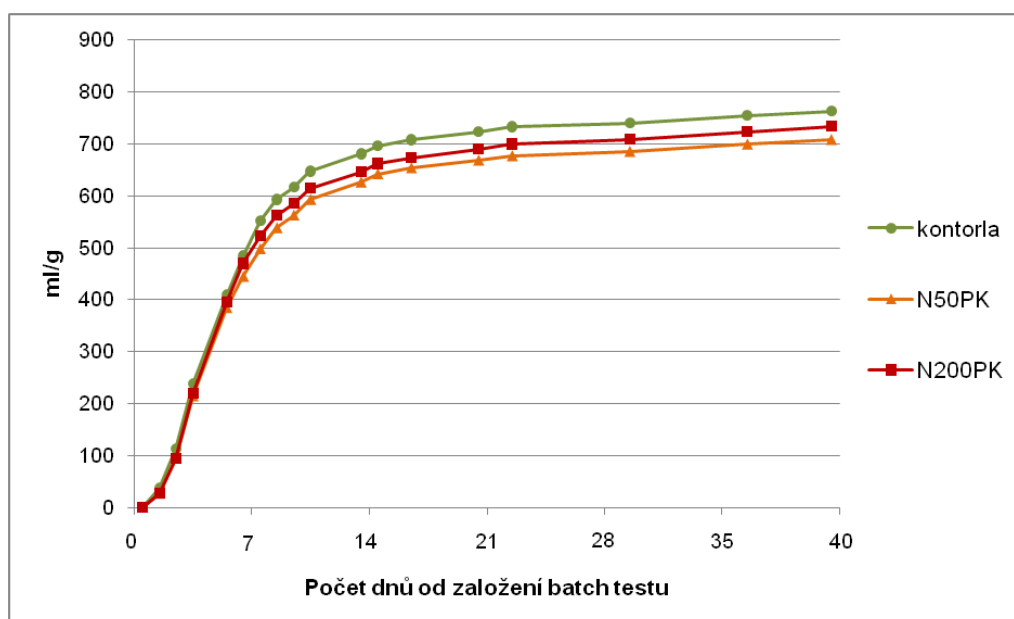
bioplynu u nehnojené varianty. Oproti roku 2013 byl nejpomalejší nárůst kumulativní produkce bioplynu sledován u varianty hnojené N₅₀PK (Graf 6).

Z Grafů 5 a 6 je tak zřejmé, že vzhledem k celkové produkci bioplynu byla nejdůležitější počáteční fáze procesu anaerobní digesce, a že nejrychleji a nejvíce byl bioplyn produkován z fytohmoty nehnojeného porostu.

Graf 5: Průběh kumulativní produkce bioplynu (ml/g) ze sušiny fytohmoty TTP při třech různých úrovních hnojení, Černíkovice, 2013



Graf 6: Průběh kumulativní produkce bioplynu (ml/g) ze sušiny fytohmoty TTP při třech různých úrovních hnojení, Černíkovice, 2014



V roce 2013 byl pozorován průkazný vliv hnojení na snížení kumulativní produkce bioplynu 7., 21. a 40. den anaerobní digesce, a přestože u ostatních termínů měření nebyl vliv hnojení statisticky průkazný, statistické *P* – hodnoty se pohybovaly těsně pod mezí průkaznosti. U všech termínů měření kumulativní produkce bioplynu bylo nejvyšších hodnot dosaženo u nehnojené kontrolní varianty a nejnižších u nejvíce hnojené varianty N₂₀₀PK (Tab. 8).

V roce 2014 nebyl pozorován statisticky průkazný vliv hnojení na kumulativní produkci bioplynu ze sušiny fytomasy u žádné ze sledovaných variant, přesto bylo opět nejvyšších hodnot dosaženo u nehnojené varianty (Tab. 8).

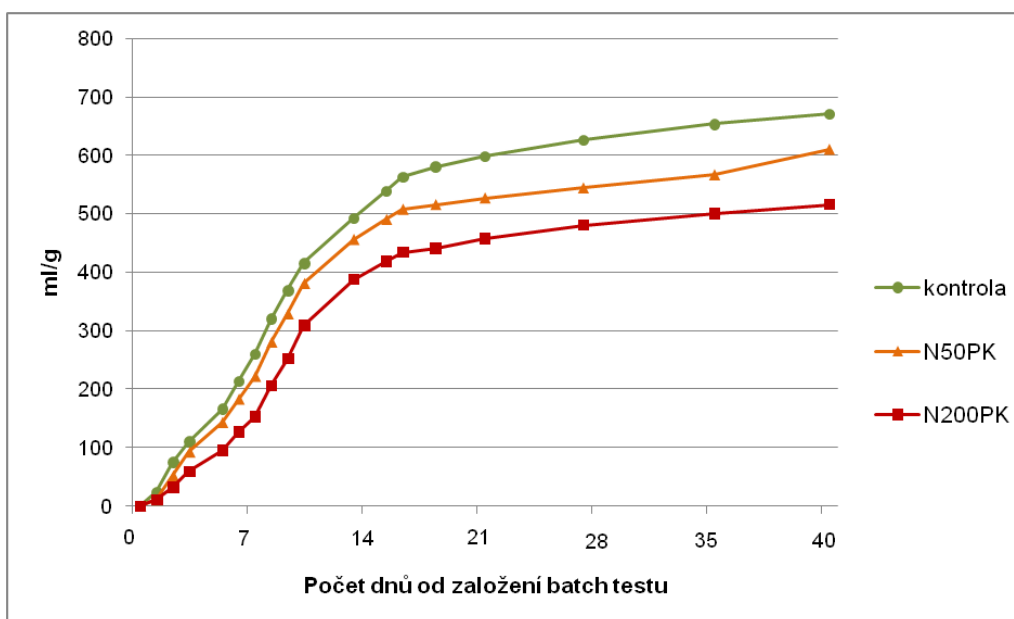
Tab. 8: Kumulativní produkce bioplynu (ml/g_{suš.}) stanovená v batch testech ve směsných vzorcích sušiny fytomasy TTP v závislosti na hnojení, Černíkovice, 2013, 2014

Rok	Varianta	Čas od založení batch testů (dny)					
		1	3	7	14	21	40
2013	kontrola	20,6	94,8	223,2 ^a	462,3	513,2 ^a	575,4 ^a
	N ₅₀ PK	9,7	81,3	194,7 ^{ab}	429,9	462,2 ^{ab}	535,0 ^{ab}
	N ₂₀₀ PK	9,6	52,6	136,2 ^b	374,0	408,5 ^b	460,5 ^b
	<i>P</i>	0,033	0,069	0,045	0,074	0,035	0,018
2014	kontrola	37,4	237,5	551,4	696,5	732,5	762,7
	N ₅₀ PK	26,7	214,2	497,4	641,7	676,4	707,6
	N ₂₀₀ PK	27,2	218,6	522,4	661,3	698,7	732,8
	<i>P</i>	0,299	0,403	0,311	0,287	0,269	0,281

Grafy 7 a 8 zobrazují průběh kumulativní produkce bioplynu získaného z čisté organické hmoty fytomasy TTP v závislosti na různé aplikaci živin v roce 2013 a 2014.

Charakter průběhu kumulativní produkce bioplynu z organické hmoty byl obdobný jako v případě sušiny fytomasy. Hlavní rozdíl byl především ve vyšších výnosech bioplynu z čisté organické hmoty.

Graf 7: Průběh kumulativní produkce bioplynu (ml/g) z čisté organické hmoty fytomasy TTP při třech různých úrovních hnojení, Černíkovice, 2013



Graf 8: Průběh kumulativní produkce bioplynu (ml/g) z čisté organické hmoty fytomasy TTP při třech různých úrovních hnojení, Černíkovice, 2014



Mezi roky 2013 a 2014 je zřejmá variabilita v kumulativní produkci bioplynu. V roce 2013 byly rozdíly v produkci bioplynu mezi jednotlivými variantami hnojení zřetelné již v počáteční fázi anaerobní digesce. V roce 2014 nebyl naopak v počáteční fázi digesce zřejmý výraznější rozdíl v rychlosti tvorby bioplynu mezi jednotlivými variantami.

6 Diskuze

6.1 Výnosy fytomasy

Experimentální stanoviště Černíkovice je z hlediska vlivu aplikace živin na množství získané fytomasy z TTP již mnohaletým pokusem. Z výsledků minulých let (1967 – 2006) byl průkazný trend zvyšování výnosů fytomasy spolu s vyšší dávkou živin (Honsová *et al.*, 2007). Trend vyšších výnosů fytomasy vlivem vyšší dávky živin byl na pokusném pozemku v Černíkovicích sledován také v letech 2007 – 2009 (Fuksa *et al.*, 2012). Bylo prokázáno, že vlivem aplikace hnojiv ($N_{150}PK$) došlo k významnému navýšení průměrných výnosů sušiny fytomasy oproti nehnojenému porostu až o 56 %. Vliv hnojení na výnosy fytomasy byl zřejmý především u první seče, před kterou byla aplikována dávka dusíku, což potvrzuje dobrou využitelnost dusíku rostlinami a jeho obecný zásadní vliv na vyšší výnosy fytomasy nejen travních porostů (Mrkvička a Veselá, 2001; Heggenstaller *et al.*, 2009; Fuksa *et al.*, 2012).

Je zřejmé, že výnosy fytomasy TTP v roce 2013, které jsou prezentovány v této práci, nekorrespondují s trendem výsledků z let 1967 – 2009. Zvýšená dávka hnojení neměla téměř žádný vliv na výnos sušiny. V první seči byl výnos fytomasy u nejvyšší dávky živin $N_{200}PK$ dokonce nižší, než tomu bylo u nehnojené varianty. Rozdílný trend roku 2013 oproti minulým létům mohl být zapříčiněn jedním z několika faktorů, nebo vzájemnou kombinací některých z faktorů.

Pravděpodobně nejvýznamnější faktor, jenž způsobil nulový efekt hnojení na výnosy fytomasy v roce 2013, byl opožděný termín první seče. V letech 1967 – 2009 byl porost zpravidla sečen v období konce května. V roce 2013 byla však vlivem nepříznivých podmínek prostředí první seč provedena až 21. června. Hnojený porost dosáhl svých maximálních výnosů pravděpodobně dříve, než porost nehnojený. Vlivem pozdní první seče však došlo k jeho stagnaci a nehnojený porost mezitím dospěl také ke svým maximálním výnosům fytomasy. Vlivem časové prodlevy tak došlo k vyrovnání výnosů fytomasy mezi hnojenou a nehnojenou variantou. Dosažené výsledky jsou v souladu s výsledky pokusů provedených Amon *et al.* (2007) a Frame (2000), kteří dospěli rovněž k zjištění, že načasování především první seče je pro celkové výnosy fytomasy TTP klíčové. Dodávají, že vzhledem k termínu první seče by měl být uzpůsoben rovněž celkový počet sečí za vegetační období.

Louka, na které se experimentální stanoviště nachází, je mezofytního, až mezohygrofytního charakteru. Jaro, kdy byl aplikován ledek amonný, bylo v oblasti

Černíkovice roku 2013 podle meteorologických údajů srážkově nadprůměrné. Při první seči byla část experimentálního pozemku silně zamokřená. Mohlo tak dojít k ovlivnění výsledků zapříčiněné polehnutím porostu. Rovněž mohlo dojít vlivem srážek k proplavení a částečnému odplavení dusíku z místa jeho aplikace.

V roce 2014 byla první seč provedena v lehce opožděném termínu 3. června. Výnos sušiny fytomasy u nejméně hnojené varianty N₂₀₀PK byl při první seči nižší, než u varianty N₅₀PK. Rozdíl v celkových výnosech fytomasy za vegetační období byl mezi variantami N₅₀PK a N₂₀₀PK zanedbatelný. Ani v roce 2014 tak výnosy fytomasy v závislosti na aplikaci živin nenavazovaly na trend výsledků let 1967 – 2009.

Příčina nižších výnosů fytomasy při vyšších dávkách živin mohla být v roce 2014 opět způsobena negativními stanovištními podmínkami. Část experimentálního pozemku byla silně podmáčena, především pak jeden z úseků hnojených N₂₀₀PK. Mohlo tak dojít k odplavení hnojiva z experimentálního pozemku, nebo případnému polehání části porostu.

V obou letech 2013 i 2014 byly vzorky fytomasy odebírány při méně vhodných stanovištních podmínkách. Mrkvička a Veselá (2001) upozorňují, že obdobné extrémní klimatické i půdní podmínky a vodní režim stanoviště výrazně snižují produkční účinnost živin z aplikovaných hnojiv. Jarvis (2000) dodává, že dusík je v půdním profilu velmi dobře pohyblivým prvkem a při zvýšené vlhkosti je jeho pohyblivost ještě více umocněna.

6.2 Substrátová výtěžnost bioplynu

Z výsledků je patrné, že v roce 2013 došlo s vyšší aplikací živin k statisticky průkaznému snížení substrátové výtěžnosti bioplynu (SBY) ze sušiny fytomasy TTP. Největší rozdíl v SBY byl pozorován mezi nehnojenou variantou a variantou s největší dávkou dusíku N₂₀₀PK. Také Kacprzak *et al.* (2012) ve svém pokusu dospěli k závěru, že s vyšší aplikací dusíku (120 kg/ha) došlo k statisticky významnému snížení SBY. Tento jev mohl mít příčinu ve třech hlavních faktorech, popřípadě v jejich kombinaci.

Nejpravděpodobnějším faktorem snížení SBY s vyšší dávkou živin byla opožděná první seč v roce 2013. Porost hnojený N₂₀₀PK a N₅₀PK dosáhl svého optimálního stupně zralosti již dříve, než byla provedena první seč. Poté hnojený porost stagnoval a u rostlin docházelo k zvyšování poměru vlákniny (celulóza, hemicelulóza, lignin) v buněčných stěnách. Oproti tomu nehnojený porost obsahoval vlivem pomalejšího růstu menší množství vlákniny. V termínu první seče tak více hnojený porost mohl obsahovat větší množství hůře rozložitelných látek v procesu anaerobní digesce, nežli tomu bylo u porostu nehnojeného.

Amon *et al.* (2007) potvrzují, že načasování první seče spolu s počtem sečí za vegetační období významně ovlivňuje nejen množství sklizené fytomasy, ale rovněž SBY a kvalitu bioplynu. Výsledky SBY z roku 2013 rovněž korespondují s pokusem provedeným McEniry a O'Kiely (2013), kteří dospěli k závěru, že s oddalující se sklizní dochází ve fytomase TTP ke zvýšení obsahu vlákniny a snížení obsahu proteinů a vodou rozpustných sacharidů.

Další velmi pravděpodobný faktor mohla být změna ve složení rostlinných společenstvech způsobená hnojením. Na základě mnoha výzkumů je prokázáno, že vlivem aplikace živin dochází ke změnám v rostlinných společenstvech a tedy i ke změnám chemického složení porostu. Guo a Berry (1998) potvrzují, že aplikace živin zvýhodňuje rychle rostoucí rostliny, které pak potlačují rostliny méně konkurenceschopné. Hloucalová *et al.* (2015a) dospěli ve svém pokusu k závěru, že s vyšší dávkou hnojiva na bázi dusíku došlo k významnému snížení pokryvnosti jetelovinami, ostatními bylinnými druhy a celkově došlo ke snížení druhové diverzity. Současně došlo k navýšení pokryvnosti travami. Nižší zastoupení jetelovin, které jsou v procesu anaerobní digesce dobře rozložitelné, mohlo způsobit také snížení SBY. Tento poznatek koresponduje s výsledky prezentovanými Frydrychem *et al.* (2012), v jejichž pokusu dosahoval porost zastoupený vyšším podílem jetelovin rovněž vyšší produkce bioplynu. Prochnow *et al.* (2009) potvrzují, že změna druhového složení TTP způsobená aplikací různého množství živin mohla zapříčinit rovněž změnu v SBY a dodávají, že kolísání SBY mezi odrůdami jednoho druhu trav většinou překročilo šíři kolísání SBY mezi samotnými travními druhy.

Jiným důležitým faktorem mohla být přímá změna chemismu buněčných stěn rostlin způsobená aplikací hnojiv. Hloucalová *et al.* (2015b) ve svém pokusu zabývajícím se vlivem hnojení na kvalitu TTP dospěli k závěru, že nejvíce vlákniny obsahoval porost hnojený nejvyšší dávkou živin N₁₈₀P₃₀K₆₀ kg/ha. Allison *et al.* (2012) ve svém pokusu, ve kterém aplikovali na porost chrastice rákosovité (*Phalaris arundinacea*) 150 kg N/ha (dusičnan amonný) dospěli rovněž k závěru, že došlo k zvýšení obsahu vlákniny a především pak těžce rozložitelného ligninu až o 10 %. Murozuka *et al.* (2014) dodávají, že rovněž u fytomasy pšeničné slámy byl naměřen nejvyšší obsah ligninu při dávkách dusíku 144 kg N/ha a 192 kg N/ha. Je tak pravděpodobné, že především u varianty hnojené N₂₀₀PK došlo v roce 2013 k navýšení obsahu ligninu, který negativně ovlivnil průběh anaerobní digesce. V roce 2013 došlo rovněž se zvyšující se aplikací hnojiv ke snížení obsahu popelovin. Tento výsledek je však v rozporu s pokusem provedeným Mohammed *et al.* (2015), ve kterém dospěli k zjištění, že při aplikaci 112 kg N/ha (močovina) došlo k významnému zvýšení obsahu popelovin v rostlinách směšného vzorku TTP. Rovněž Balabanlı *et al.* (2010) došli k závěru, že při

aplikaci $N_{80}P_{40}K_{50}$ kg/ha na porost TTP došlo k zvýšení obsahu popelovin oproti nehnojenému porostu.

V roce 2014 nebyl trend roku 2013 potvrzen. Mezi žádnou z variant hnojení nebyl v roce 2014 sledován statisticky významný vliv na SBY. Důležitým rozdílem let 2013 a 2014 byl však termín první seče, kdy v roce 2013 došlo k pozdní první seči provedené 21. června a v roce 2014 k lehce opožděné první seči provedené 3. června. Rozdílný termín první seče měl s velkou pravděpodobností podstatný vliv na rozdílné výsledky obou let. Přesto nehnojený porost vykazoval opět, obdobně jako v roce 2013, nejvyšší SBY. Oproti roku 2013 byla nejnižší SBY naměřena u porostu hnojeného $N_{50}PK$. V roce 2014 se tak efekt hnojení mohl podílet především na změně rostlinných společenstev v porostu a na přímé změně chemického složení buněčných stěn samotných rostlin. Z výsledků je však především patrný významný vliv podmínek roku. V roce 2014 byl u všech variant hnojení dokázán statisticky významně vyšší zisk SBY oproti roku 2013. Obsah popela v roce 2014 měl oproti roku 2013 opačnou tendenci, tedy s vyšší dávkou živin se zvyšoval. Jednalo se však pouze o nepatrné rozdíly. Rozdílné tendence ve výsledcích mezi jednotlivými roky korespondují s výsledky Allison *et al.* (2012), kteří rovněž dospěli k zjištění, že přestože dochází ke stejnému postupu obhospodařování u stejného druhu porostu, tak se může obsah látek v buněčných stěnách rostlin výrazně měnit na základě vlivů konkrétního roku. Rozdílné složení látek v rostlinách má pak přímý vliv na SBY.

6.3 Výtěžnost bioplynu z jednotky plochy

Výtěžnost bioplynu z jednotky plochy (ABY) je parametr, který udává celkové množství získaného bioplynu z fytomasy sklizené z jednotky plochy. Na rozdíl od SBY je tak parametr ABY kromě látkového složení rostlin závislý na množství sklizené fytomasy. Z hlediska energetického využití TTP se tak jedná o podstatnou veličinu.

Obdobně jako u SBY, také parametr ABY je ovlivněn parametry sečení, hnojení a jejich vlivy na botanickou skladbu a látkové složení porostu. To potvrzují Prochnow *et al.* (2009) a doplňují, že výnosy biomasy jednotlivých druhů a odrůd trav měly větší vliv na výtěžnost metanu z jednotky plochy, než na substrátovou výtěžnost metanu.

V roce 2013 ABY průkazně klesala s vyšší dávkou hnojiva. Tento výsledek byl však především ovlivněn nulovou odezvou nárůstu fytomasy porostu na aplikaci živin. Z předešlých let je však zřejmé, že s vyšší aplikací živin docházelo zpravidla k vyšším

výnosům fytomasy TTP, rok 2013 je proto vzhledem k této skutečnosti výjimkou, která negativně ovlivnila ABY ve sledovaném roce.

V roce 2014 bylo nejvíce bioplynu získáno z plochy hnojené N₅₀PK a naopak nejméně z nehnojené kontroly, kde byl potvrzen statisticky významný rozdíl. U porostu hnojeného N₂₀₀PK byly nízké výnosy ABY způsobeny především nízkými výnosy fytomasy, které měly v roce 2014 opět spíše výjimečný charakter oproti výsledkům z výzkumů minulých let.

Z výsledků rovněž vyplývá, že větší vliv na ABY měl v letech 2013 a 2014 samotný rok, nežli hnojení.

Amon *et al.* (2007) dospěli k závěru, že ABY se s přidáním hnojením u TTP zvyšuje. Masse *et al.* (2011) dodávají, že obzvláště dusík měl pozitivní vliv na vyšší ABY. Tento výsledek byl na experimentálním stanovišti v oblasti Černíkovice v roce 2013 a 2014 potvrzen pouze částečně v roce 2014, kdy došlo s aplikací N₅₀PK k vyšší ABY oproti nehnojené kontrole. Rok 2013 měl pak oproti výsledkům Amon *et al.* (2007) zcela opačný trend. Je však nutné brát v potaz výsledky z výnosů nadzemní fytomasy, které byly v roce 2013 silně ovlivněny již zmíněnými faktory, a které mají významný vliv na výtěžnost bioplynu z jednotky plochy.

6.4 Kvalita bioplynu

V průběžném měření obsahu metanu v bioplynu byly mezi jednotlivými variantami hnojení pozorovány průkazné rozdíly pouze v počáteční fázi anaerobní digesce v roce 2013 i 2014. Rovněž se u všech variant hnojení zvyšovala koncentrace metanu s přibývajícím počtem dnů od založení testu. Přesto byly v letech 2013 a 2014 pozorovány rozdílné vlivy hnojení na koncentraci metanu v bioplynu získaného z fytomasy TTP.

V roce 2013 obsahoval v počáteční fázi anaerobní digesce nejvíce metanu bioplyn z nejvíce hnojené varianty N₂₀₀PK, nejméně metanu pak obsahoval bioplyn nehnojené varianty. Balabanli *et al.* (2010) dospěli k závěru, že zvýšené hnojení dusíkem vedlo ke zvýšení obsahu proteinů, které jsou snadno rozložitelné v procesu anaerobní digesce. V roce 2013 tak mohlo dojít k obdobnému efektu, který zapříčinil zvýšený obsah metanu v počáteční fázi procesu. Tento závěr se však neslučuje s výsledky pokusů provedenými Allison *et al.* (2012), ve kterých dospěli k závěru, že došlo vlivem aplikace hnojiv na bázi dusíku ke zvýšení obsahu ligninu ve fytomase chrastice rákosovité až o 10 %. Navíc došlo v roce 2013 k pozdní první seči, která u hnojeného porostu s největší pravděpodobností

zapříčinila zvýšený obsah vlákniny oproti nehnojenému porostu. Lze tak usoudit, že rok 2013 nebyl zcela reprezentativním rokem vzhledem k obsahu metanu v bioplynu.

V roce 2014 obsahoval v počáteční fázi anaerobní digesce nejvíce metanu bioplyn z nehnojené varianty, nižší množství metanu obsahoval bioplyn z fytomasy porostu hnojeného nejvyšší dávkou N₂₀₀PK a nejméně metanu bylo obsaženo v bioplynu z varianty N₅₀PK. Přestože nebyly s přibývajícím počtem dnů od založení batch testů pozorovány průkazné statistické rozdíly, lze pozorovat i nadále zvýšené množství metanu u nehnojené varianty. Melts *et al.* (2014) ve svém pokusu posuzovali vliv závislosti rychlosti uvolňování metanu na funkčních skupinách v porostu. Došli k závěru, že je metan uvolňován rychleji z jetelovin s vyšším obsahem N a P. Dodávají, že výtěžnost metanu byla ke konci anaerobní digesce vyšší u travin s nižším obsahem K, Mg a ligninu. Toto tvrzení koresponduje s výsledky Hloucalová *et al.* (2015a), v jejichž pokusu došlo s vyšší dávkou hnojiva na bázi dusíku k významnému snížení pokryvnosti jetelovinami a k současnému navýšení pokryvnosti travami. V roce 2014 tak mohlo mít hnojení vliv na botanické složení porostu, které na základě výše uvedených důvodů vedlo k tomu, že nejvíce metanu bylo na počátku u nehnojené varianty. Naopak nižší koncentrace metanu v bioplynu způsobená zastoupením travin byla naměřena u variant N₅₀PK a N₂₀₀PK.

6.5 Kumulativní produkce bioplynu

V obou letech 2013 i 2014 byla většina bioplynu vyprodukována v prvních 14 dnech. Rovněž bylo v obou letech již od 1. dne, až do konce trvání batch testů dosaženo nejvyšší substrátové produkce bioplynu z fytomasy nehnojeného porostu. Průkazné rozdíly byly však potvrzeny pouze v některých termínech v roce 2013.

V roce 2013 bylo během prvních 14 dnů vyprodukováno více než 80 % bioplynu z celkového množství u všech zkoumaných variant. Rozdíl v kumulativní produkci bioplynu byl mezi variantami znatelný od počátku anaerobní digesce. S vyšší aplikací hnojiv došlo ke zpomalení a celkovému snížení kumulativní produkce bioplynu. Rozdíl v rychlosti a výnosech bioplynu mezi jednotlivými variantami byl s postupem trvání batch testu více znatelný u čisté organické hmoty oproti sušině fytomasy. Lze tak předpokládat, že hnojení mělo negativní vliv na kvalitu organické hmoty.

V roce 2014 dosahovala kumulativní produkce bioplynu během prvních 14 dnů dokonce více než 90 % u všech zkoumaných variant. Rozdíly mezi jednotlivými variantami byly v počáteční fázi nepatrné, teprve okolo sedmého dne trvání batch testů došlo

ke znatelnější diferenciaci v kumulativní produkci bioplynu mezi variantami hnojení. Oproti roku 2013 je však rozdíl mezi variantami méně výrazný, a to rovněž v případě kumulativní produkce bioplynu u čisté organické hmoty.

Liubarskij *et al.* (2006) dospěli k obdobnému závěru, že více než 90 % bioplynu z fytomasy travních porostů bylo v procesu anaerobní digesce vyprodukováno po 9 – 11 dnech.

7 Závěr

Z dosažených dvouletých výsledků lze potvrdit, že zvýšená aplikace živin měla průkazný vliv na produkci a kvalitativní parametry bioplynu z fytomasy trvalých travních porostů.

V roce 2013 došlo s vyšší aplikací živin k:

- průkaznému snížení substrátové výtěžnosti bioplynu,
- průkaznému snížení celkové produkce bioplynu mezi nehnojenou variantou a variantou nejvíce hnojenou,
- průkaznému zvýšení koncentrace metanu v bioplynu v počáteční fázi anaerobní digesce,
- průkaznému snížení kumulativní produkce bioplynu 7., 21. a 40. den trvání batch testů.

V roce 2014:

- nebyl pozorován statisticky průkazný vliv hnojení trvalého travního porostu na substrátovou výtěžnost bioplynu u žádné ze sledovaných variant hnojení, přesto byla nejvyšší hodnota substrátové výtěžnosti bioplynu naměřena, obdobně jako v roce 2013, u fytomasy nehnojeného porostu,
- byla celková produkce bioplynu průkazně nejvyšší při aplikaci 50 kg N/ha,
- obsahoval v počáteční fázi anaerobní digesce prokazatelně nejvíce metanu bioplyn z fytomasy nehnojeného porostu,
- nebyl zjištěn průkazný vliv hnojení na kumulativní produkci bioplynu, přesto, jako v roce 2013, hnojení snižovalo v celém průběhu trvání batch testů výtěžnost bioplynu.

Z průběhu kumulativní produkce bioplynu dále vychází najevo, že v procesu anaerobní digesce bylo rozhodujících prvních 14 dnů trvání batch testů, kdy bylo vytvořeno 80 – 90 % z celkové produkce bioplynu u všech zkoumaných variant.

Výsledky pokusů byly především v roce 2013 negativně ovlivněny půdně klimatickými podmínkami a v jejich důsledku později provedenou první sečí. Kromě působení živin se tak potvrdil také vliv dalších faktorů (ročník, termín seče) na kvantitativní a kvalitativní parametry produkce bioplynu. Pro potvrzení trendu vlivu hnojení trvalého travního porostu na výtěžnost a kvalitativní parametry bioplynu by bylo vhodné rozšířit výzkum o další výsledky.

8 Seznam literatury

Allison, G. G., Morris, C., Lister, S. J., Barraclough, T., Yates, N., Shield, I., Donnison, L. S. 2012. Effect of nitrogen fertiliser application on cell wall composition in switchgrass and reed canary grass. *Biomass and Bioenergy*. 40. 19-26.

Amon, T., Amon, B., Kryvoruchko, V., Machmüller, A., Hopfner-Sixt, K., Bodiroza, V., Hrbek, R., Friedel, J., Pötsch, E., Wagentristsl, H., Schreiner, M., Zollitsch, W. 2007. Methane production through anaerobic digestion of various energy crops grown in sustainable crop rotations. *Bioresource Technology*. 98 (17). 3204-3212.

Balabanli, C., Albayrak, S., Yüksel, O. 2010. Effects of nitrogen, phosphorus and potassium fertilization on the quality and yield of native rangeland. *Turkish Journal of Field Crops*. 15 (2). 164-168.

Benda, V., Doležalová, H., Dušička, P., Hansian, D., Jevič, P., Matuška, T., Myslil, V., Pastorek, Z., Stupavský, V., Šejvl, R., Šrefl, J., Šulek, P. 2012. *Obnovitelné zdroje energie*. Profi Press. Praha. p. 208. ISBN: 978-80-86726-48-9.

Bernhardt-Römermann, M., Römermann, Ch., Sperlich, S., Schmidt, W. 2011. Explaining grassland biomass – the contribution of climate, species and functional diversity depends on fertilization and mowing frequency. *Journal of Applied Ecology*. 48. 1088-1097.

Bílek, M., Žáková, I. 1999. Využití pastvy ovcí k údržbě a obnově travních porostů v chráněných územích. *Farmář*. 2. 50-51.

Blokhina, Y. N., Prochnow, A., Plöchl, M., Luckhaus, C., Heiermann, M. 2011. Concepts and profitability of biogas production from landscape management grass. *Bioresource Technology*. 102 (2). 2086-2092.

Bosch, M., Hazen, S. P. 2014. Lignocellulosic feedstocks: research progress and challenges in optimizing biomass quality and yield. *Frontiers in plant science*. 4 (474). 5-7.

Boulamanti, A. K., Maglio, S. D., Giuntoli, J., Agostini A. 2013. Influence of different practices on biogas sustainability. *Biomass and Bioenergy*. 53 (zvláštní vydání). 149-161.

Butkutė, B., Lemežienė, N., Kanapeckas, J., Navickas, K., Dabkevičius, Z., Venslauskas, K. 2014. Cocksfoot, tall fescue and reed canary grass: Dry matter yield, chemical composition and biomass convertibility to methane. *Biomass and Bioenergy*. 68. 1-11.

Casler, M. D., Jung, H. G., Coblentz, W. K. 2008. Clonal selection for lignin and etherified ferulates in three perennial grasses. *Crop Science*. 48 (2). 424-433.

Ceotto, E. 2008. Grasslands for bioenergy production. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. 28 (1). 47-55.

Český statistický úřad. [cit. 2015-15-07]. Dostupné z <<https://www.czso.cz/>>.

EUROSTAT, European Commission [cit. 2015-01-07]. Dostupné z <http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Glossary:Permanent_grassland>.

FAOSTAT, The Statistics Division of the Food and Agriculture Organization of the United Nations. [cit. 2015-08-07]. Dostupné z <<http://faostat3.fao.org/home/E>>.

Fiala, J., Gaisler, J. 1999. Obhospodařování travních porostů pícninářsky nevyužívaných. *Metodiky pro zemědělskou praxi*. Praha. p. 38. ISBN: 80-7271-029-X.

Fischer, G., Prieler, S., Velthuisen, H., Lensink, S. M., Londo, M., Wit, M. 2010. Biofuel production potentials in Europe: Sustainable use of cultivated land and pastures. Part I: Land productivity potentials. *Biomass and Bioenergy*. 34. 159-172.

Fornara, D. A., Banin, L., Crawley, M. J. 2013. Multi-nutrient vs. nitrogen-only effects on carbon sequestration in grassland soils. *Global change biology*. 19. 3848-3857.

Frame, J. 2000. *Improved Grassland Management*. Farming Press. Tonbridge, United Kingdom. p. 351. ISBN: 0-85236-543-8.

Frydrych, J., Macháč, R., Volková, P., Andert, D., Gerndtová, I., Juchelková, D., Zajonc, O. 2012. Výzkum využití travních porostů na produkci bioplynu. *Agritech Science*. 12 (3). 1-6.

Fuksa, P., Hakl, J., Hrevušová, Z., Šantrůček, J., Gerndtová, I., Habart, J. 2012. Utilization of permanent grassland for biogas production. In: Sahin, A.S. (ed.). *Modeling and optimization of renewable energy systems*. InTech. Rijeka. p. 298. ISBN: 978-953-51-0600-5.

Guo, Q., Berry, W. L. 1998. Species richness and biomass: Dissection of the hump-shaped relationships. *Ecology*. 79 (7). 2555-2559.

Gützloe, A., Thumm, U., Lewandowski, I. 2014. Influence of climate parameters and management of permanent grassland on biogas yield and GHG emission substitution potential. *Biomass and Bioenergy*. 64. 175-179.

Heggenstaller, A. H., Moore, K. J., Liebman, M., Anex, R. P. 2009. Nitrogen influences biomass and nutrient partitioning by perennial, warm-seasoned grasses. *Agronomy Journal*. 101 (6). 1363-1371.

Hejcman, M., Klauisová, M., Schellberg, J., Honsová, D. 2007. The rengen grassland experiment: Plant species composition after 64 years of fertilizer application. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 122 (2). 259-266.

Herrmann, C., Prochnow, A., Heiermann, M., Idler, C. 2014. Biomass from landscape management of grassland used for biogas production: effects of harvest date and silage additives on feedstock quality and methane yield. *Grass and forage science*. 69. 549-566.

Hloucalová, P., Knot, P., Horký, P., Skládanka. 2015a. Effect of fertilization on species composition of grassland. *Mendelnet. 22 Conference*. 117-121.

Hloucalová, P., Knot, P., Horký, P., Skládanka. 2015b. Effect of fertilization on grassland quality. *Mendelnet. 22 Conference*. 122-125.

- Honsová, D., Hejzman, M., Klauďisová, M., Pavlů, V., Kocourková, D., Hakl, J. 2007. Species composition of an alluvial meadow after 40 years of applying nitrogen, phosphorus and potassium fertilizer. *Preslia*. 79 (3). 245-258.
- Hopkins, A., Holz, B. 2006. Grassland for agriculture and nature conservation: production, quality and multi-functionality. *Agronomy Research*. 10 (konference). 3-20.
- Hrabě F., Buchgraber K. 2004. *Pícninářství (Travní porosty)*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. ISBN: 80-7157-816-9.
- Chandra, R., Takeuchi, H., Hasegawa T. 2012. Methane production from lignocellulosic agricultural crop wastes: A review in context to second generation of biofuel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 16 (3). 1462-1476.
- Jarvis, S. C. 2000. Progress in studies of nitrate leaching from grassland soils. *Soil Use and Management*. 16 (1). 152-156.
- Jorgensen, H., Kristensen, J. B., Felby, C. 2007. Enzymatic conversion of lignocellulose into fermentable sugars: challenges and opportunities. *Journal of Biofuels, Bioproducts & Biorefining*. 1 (2). 119-34.
- Kacprzak, A., Matyka, M., Krzystek, L., Ledakowicz, S. 2012. Evaluation of biogas collection from reed canary grass, depending on nitrogen fertilisation levels. *Chemical and Process Engineering*. 33 (4). 697-701.
- Kandel, T. P., Sutaryo, S., Møller, H. B., Jørgensen, U., Lærke, P. E. 2013. Chemical composition and methane yield of reed canary grass as influenced by harvesting time and harvest frequency. *Bioresource Technology*. 130. 659-666.
- Lepš, J. 1999. Nutrient status, disturbance and competition: an experimental test of relationships in a wet meadow. *Journal of Vegetation Science*. 10 (2). 219-230.

- Liebisch, F., Bünemann, E. K., Huguenin-Elie, O., Jeangros, B., Frossard, E., Oberson, A. 2013. Plant phosphorus nutrition indicators evaluated in agricultural grasslands managed at different intensities. *European Journal of Agronomy*. 44. 67-77.
- Liubarskij, V., Mahnert, P., Heiermann, M., Linke, B. 2006. Biogas production from different grass. *Žemės Ūkio Inžinerija*. 38 (3). 32-44.
- Lötjönen, T., Paappanen, T. 2013. Bale density of reed canary grass spring harvest. *Biomass and Bioenergy*. 51. 53-59.
- Malhi, S. S., Nyborg, M., Soon, Y. K. 2010. Long-term effects of balanced fertilization on grass forage yield, quality and nutrient uptake, soil organic C and N, and some soil quality characteristics. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 86 (3). 425-438.
- Masse, D., Gilbert, Y., Savoie, P., Belanger, G., Parent, G., Babineau, D. 2011. Methane yield from switchgrass and reed canarygrass grown in Eastern Canada. *Bioresource Technology*. 102 (22). 10286-10292.
- McEniry, J., O'Kiely, P. 2013. Anaerobic methane production from five common grassland species at sequential stages of maturity. *Bioresource Technology*. 127. 143-150.
- Melts, I., Normak, A., Nurk, L., Heinsoo, K. 2014. Chemical characteristics of biomass from nature conservation management for methane production. *Bioresource Technology*. 167. 226-231.
- Mohammed, Y. A., Chen, Ch., Lee, D. K. 2014. Harvest Time and Nitrogen Fertilization to Improve Bioenergy Feedstock Yield and Quality. *Agronomy Journal*. 106 (1). 57-65.
- Mrkvička, J., Veselá, M. 2001. Vliv různých forem hnojení na botanické složení a výnosový potenciál travních porostů. Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha. p. 26. ISBN: 80-7271-0.

- Murozuka, E., Laursen, K. H., Lindedam, J., Shield, I. F., Bruun, S., Magid, J., Møller, I. S., Schjoerring, J. K. 2014. Nitrogen fertilization affects silicon concentration, cell wall composition and biofuel potential of wheat straw. *Biomass and Bioenergy*. 64. 291-298.
- Murphy, J. D., Power, N. M., 2009. An argument for using biomethane generated from grass as a biofuel in Ireland. *Biomass and Bioenergy*. 33 (3). 504-512.
- Orozco, A. M., Nizami, A. S., Murphy, J. D., Groom, E. 2013. Optimizing the thermophilic hydrolysis of grass silage in a two-phase anaerobic digestion system. *Bioresource Technology*. 143. 117-125.
- Prochnow, A., Heiermann, M., Plöchl, M., Linke, B., Idler, C., Amon, T., Hobbs, P. J. 2009. Bioenergy from permanent grassland A review: 1. Biogas. *Bioresource Technology*. 100 (21). 4931-4944.
- Smit, H. J., Metzger, M. J., Ewert, F. 2008. Spatial distribution of grassland productivity and land use in Europe. *Agricultural Systems*. 98. 208-219.
- Socher, S. A., Prati, D., Boch, S., Müller, J., Klaus, V. H., Hölzel, N., Fischer, M. 2012. Direct and productivity-mediated indirect effects of fertilization, mowing and grazing on grassland species richness. *Journal of Ecology*. 100 (6). 1391-1399.
- Soussana, J. F., Tallec, T. 2010. Can we understand and predict the regulation of biological N₂ fixation in grassland ecosystems? *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 88 (2). 197-213.
- Straka, F., Ciahotný, K., Dohányos, M., Jeníček, P., Kajan, M., Lacek, P., Záborská, J. 2010. *Bioplyn*. Gas. Praha. p. 305. ISBN: 978-80-7328-235-6.
- Štýbnarová, M., Hakl, J., Pavlína, M., Karabcová, H., Látal, O., Fiala, K., Pozdíšek, J. 2015. Species diversity and botanical composition of permanent grassland as a response to different grazing management practise. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*. 63 (4). 1201-1209.

Tsapekos, P., Kougias, P. G., Angelidaki, I. 2015a. Anaerobic Mono- and Co-digestion of Mechanically Pretreated Meadow Grass for Biogas Production. *Energy and fuels*. 29. 4005-4010.

Tsapekos, P., Kougias, P. G., Angelidaki, I. 2015b. Biogas production from ensiled meadow grass; effect of mechanical pretreatments and rapid determination of substrate biodegradability via physicochemical methods. *Bioresource Technology*. 182. 329-335.

Ust'ak, S., Váňa, J. 2004. Anaerobní digesce biomasy a komunálních odpadů. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha. P. 111. ISBN 80-86555-55-0.

Vláda ČR. 2014. Aktualizace státní energetické koncepce České republiky. Praha.

Wedin, D. A., Tilman, D. 1996. Influence of nitrogen loading and species composition on the carbon balance of grasslands. *Science*. 274. 1720-1723.

Weiland, P. 2010. Biogas production: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 85 (4). 849-860.

Yadvika, Santosh, Sreekrishnan, T. R., Kohli, S., Rana, V. 2004. Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques – a review. *Journal of Bioresource Technology*. 95 (1). 1-10.