

**Konwersja odpadów
przemysłu rolno-spożywczego
do biogazu – podejście systemowe**

Conversion of waste from agri-food industry to biogas – a system approach

**edited by
Irena Wojnowska-Baryła
and Janusz Gołaszewski**

Konwersja odpadów przemysłu rolno-spożywczego do biogazu – podejście systemowe

pod redakcją
**Ireny Wojnowskiej-Baryły
i Janusza Gołaszewskiego**



Kolegium Wydawnicze UWM
Przewodniczący
Zbigniew Chojnowski

Recenzenci
Andrzej Królikowski, Józef Szlachta

Zespół autorów

Katarzyna Bernat, Beata Biega, Lidia Błaszczuk, Katarzyna Bułkowska,
Andrzej G. Chmielewski, Agnieszka Cydzik-Kwiatkowska, Paweł Cyplik, Jacek Dach,
Marcin Dębowski, Janusz Gołaszewski, Łukasz Graban, Mariusz Gusiatin,
Mariusz-Orion Jędrysek, Dariusz Kardaś, Marek Klein, Ewa Klimiuk,
Sławomir Krzebietke, Mirosław Krzemieniewski, Dominika Kufka, Jacek Kwiatkowski,
Waldemar Lajszner, Andrzej Lewicki, Roman Marecik, Jacek Palige, Tomasz Pokój,
Sylvia Polesek-Karczewska, Cezary Purwin, Barbara Pysera, Otton Roubinek,
Sabina Rynkowska, Stanisław Sienkiewicz, Monika Szołucha, Józef Tworkowski,
Agata Urbaniak, Janusz Usidus, Katarzyna Wawryniuk, Jadwiga Wierzbowska,
Dariusz Wiśniewski, Irena Wojnowska-Baryła, Iwona Wyzlic, Michał Zalewski,
Magdalena Zielińska, Marcin Zieliński, Piotr Żarczyński

Zespół edytorski

Agata Głowacka-Gil, Mariusz Dubicki, Ewelina Olba-Zięty, Monika Nitkiewicz

Projekt okładki
Adam Głowacki

Prace badawcze będące u podstaw niniejszej monografii były finansowane z budżetu Zadania Badawczego nr 4 pt. „Opracowanie zintegrowanych technologii wytwarzania paliw i energii z biomasy, odpadów rolniczych i innych” w ramach strategicznego programu badań naukowych i prac rozwojowych pt. „Zaawansowane technologie pozyskiwania energii” realizowanego ze środków NCBiR iENERGA S.A.

ISBN 978-83-7299-899-6

© Copyright by Wydawnictwo UWM • Olsztyn 2014

Wydawnictwo UWM
ul. Jana Heweliusza 14, 10-718 Olsztyn
tel. 89 523-36-61, fax 89 523-34-38
www.uwm.edu.pl/wydawnictwo/
e-mail: wydawca@uwm.edu.pl

Ark. wyd. 15,50; ark. druk. 13,25
Druk: Zakład Poligraficzny UWM w Olsztynie, zam. 604

Spis treści

Od Redakcji	11
Rozdział 1. <i>Identyfikacja ścieżek metanogenezy na podstawie badań izotopowych węgla i wodoru</i> (Beata Biega, Dominika Kufka, Mariusz-Orion Jędrysek)	13
1. Wstęp	14
2. Metodyka badań	16
2.1. Opis eksperymentów	16
2.2. Fermentacja wsadów jednorodnych metodą batch	17
2.3. Fermentacja wsadów jednorodnych w bioreaktorach Sartorius Biostat A Plus	18
2.4. Etap III fermentacja wsadów mieszanych metodą batch	20
2.5. Analiza zawartości suchej masy i suchej masy organicznej w substratach i pofermentatach	22
2.6. Analiza chromatograficzna	22
2.7. Analiza izotopowa	22
2.8. Preparatyka próżniowa gazów oraz materii organicznej	23
2.9. Analiza na spektrometrze mas	23
2.10. Izotopowy bilans mas	23
3. Wyniki i dyskusja	24
3.1. Fermentacja wsadów jednorodnych i mieszanych	24
3.1.1. Fermentacja jednorodna – metoda batch	24
3.1.2. Fermentacja wsadów jednorodnych – badania prowadzone w bioreaktorach	26
3.1.3. Fermentacja wsadów mieszanych – metoda batch	27
3.2. Wyniki analiz izotopowych	28
3.2.1. Wyniki analiz izotopowych węgla w materii organicznej	28
3.2.2. Wyniki analiz izotopowych węgla i wodoru w CH ₄	29
3.2.3. Wyniki analiz izotopowych węgla z CO ₂	31
3.3. Izotopowy bilans mas	31
4. Podsumowanie badań	32
5. Wnioski	35

Rozdział 2. <i>Ślázowiec</i> <i>Sida hermaphrodita</i> (L.) Rusby jako substrat biogazowni rolniczej (Jacek Kwiatkowski, Cezary Purwin, Stanisław Sienkiewicz, Józef Tworkowski, Barbara Pysera, Jadwiga Wierzbowska, Łukasz Graban, Waldemar Lajsner, Iwona Wyźlic, Sławomir Krzebietke, Piotr Żarczyński)	37
1. Wstęp	38
2. Metody	41
2.1. Konserwacja biomasy	42
2.2. Wartość nawozowa pozostałości pofermentacyjnej	42
2.3. Metody analityczne	43
2.4. Metody obliczeniowe	43
3. Wyniki	45
4. Wpływ zakiszania na skład chemiczny biomasy	49
5. Ocena przydatności pofermentu z biogazowni rolniczej do nawożenia ślázowca	52
6. Dyskusja	56
7. Wnioski	59
Rozdział 3. <i>Wpływ biologicznej obróbki wstępnej surowców lignocelulozowych na wydajność produkcji biogazu</i> (Roman Marecik, Paweł Cyplik, Lidia Błaszczyk, Andrzej Lewicki, Jacek, Dach)	63
1. Wstęp	64
2. Materiały i metody	67
2.1. Szczepy grzybów z rodzaju <i>Trichoderma</i>	67
2.1.1. Identyfikacja gatunkowa izolatów <i>Trichoderma</i>	68
2.1.2. Hodowla <i>Trichoderma</i> i indukcja syntezy enzymów	69
2.2. Surowce lignocelulozowe poddawane hydrolizie	69
2.3. Analiza aktywności celulolitycznej i hemicelulolitycznej grzybów z rodzaju <i>Trichoderma</i>	69
2.4. Hydroliza surowca lignocelulozowego	70
2.5. Fermentacja metanowa surowców lignocelulozowych	71
2.6. Statystyczna analiza wyników	71
3. Wyniki	71
4. Podsumowanie	75
Rozdział 4. <i>Przygotowanie surowców do fermentacji i kofermentacji</i> (Katarzyna Bernat, Irena Wojnowska-Baryła)	79
1. Wstęp	80
2. Metodyka badań	85
2.1. Organizacja badań w etapie I	85
2.2. Organizacja badań w etapie II	87
2.3. Metody analityczne	88

2.4. Metody obliczeniowe	89
3. Wyniki	90
3.1. Produktywność gazowa substratów	90
3.2. Wstępne przygotowanie biomasy lignocelulozowej do stabilizacji beztlenowej	91
3.3. Produktywność gazowa podczas kofermentacji	94
4. Dyskusja	96
5. Podsumowanie	100
Rozdział 5. <i>Termochemiczne metody przetwarzania lignocelulozy na surowiec do produkcji biogazu</i> (Dariusz Kardaś, Marek Klein, Sylwia Polesek-Karczewska)	103
1. Wstęp	103
2. Struktura lignocelulozy	105
3. Hydroliza lignocelulozy	106
4. Eksplozja pary	108
5. Badania eksperymentalne	109
5.1. Stanowisko badawcze	109
5.2. Charakterystyka surowca i opis procesu hydrolizy	110
5.3. Analiza mikroskopowa	112
5.4. Analiza hydrolizatu	112
5.4.1. Analiza GC-MS	112
5.4.2. Badanie zawartości cukrów	113
6. Wyniki	113
6.1. Charakterystyka produktu stałego i bilans masy	113
6.2. Analiza mikroskopowa	116
6.3. Analiza hydrolizatu	119
6.3.1. Analiza GC-MS	119
6.3.2. Badanie zawartości cukrów	119
7. Podsumowanie	120
Rozdział 6. <i>Wpływ promieniowania mikrofalowego na szybkość rozkładu serwatki w procesie fermentacji metanowej</i> (Marcin Zieliński, Marcin Dębowski, Mirosław Krzemieniewski, Magdalena Zielińska, Agnieszka Cydzik-Kwiatkowska)	123
1. Wstęp	124
1.1. Promieniowanie mikrofalowe	124
1.2. Oddziaływanie mikrofal na układy organiczne	125
1.3. Przykłady wykorzystania mikrofal w inżynierii środowiska	127
2. Metodyka	128
2.1. Pomiary respirometryczne	130
2.2. Pomiary pH-metryczne	132

3. Wyniki	132
4. Dyskusja wyników	136
5. Podsumowanie	139
Rozdział 7. Współfermentacja biomasy odpadowej oraz z upraw energetycznych – stan obecny i kierunki rozwoju (Ewa Klimiuk, Mariusz Z. Gusiatin, Katarzyna Bułkowska, Tomasz Pokój, Sabina Rynkowska)	
1. Wstęp	144
2. Charakterystyka substratów i kosubstratów	145
2.1. Skład chemiczny wybranych substratów i kosubstratów	145
2.2. Stosunek C/N	149
2.3. Inhibitory wzrostu mikroorganizmów	150
3. Wydajność biogazu/metanu z biomasy roślinnej i odpadów rolniczych	151
3.1. Warunki statyczne	152
3.2. Wydajność metanu w reaktorach quasi-przepływowych	154
4. Kierunki intensyfikacji produkcji biogazu rolniczego	156
5. Modelowanie produkcji metanu w biogazowniach rolniczych	157
6. Podsumowanie	161
Rozdział 8. Układ bioreaktorów do wytwarzania biogazu (Jacek Palige, Andrzej G. Chmielewski, Michał Zalewski, Otton Roubinek, Janusz Usidus)	
1. Wstęp	165
2. Fermentacja metanowa	166
2.1. Stosowane technologie	168
2.2. Przerabiane surowce, wydajności procesu	169
3. Instalacja ćwierćtechniczna do wytwarzania biogazu wg patentu nr 197595 .	170
3.1. Metodyka pomiarów	171
3.2. Analiza składników wsadu	172
3.2.1. Oznaczenie suchej masy	172
3.2.2. Zawartość suchej masy organicznej i nieorganicznej	172
3.3. Wyniki analizy zabezpieczonych próbek cieczy	173
3.4. Pomiarы stężenia CH ₄ , CO ₂ , H ₂ S, H ₂ w biogazie	174
4. Założenia projektowe	176
Rozdział 9. Wzbogacanie biogazu w metan z wykorzystaniem membrany poliimidowej (Andrzej G. Chmielewski, Jacek Palige, Agata Urbaniak, Katarzyna Wawryniuk, Monika Szolucha)	
1. Wstęp	184
2. Metodyka prowadzenia badań separacji dwutlenku węgla z biogazu przy użyciu instalacji membranowej	186
2.1. Laboratoryjna membranowa instalacja do separacji biogazu	188
2.2. Wyniki badań membranowej separacji biogazu	191

3. Założenia projektowe membranowej instalacji do wzbogacania biogazu w metan o wydajności 60 Nm ³ /h	192
4. Wnioski	196
Rozdział 10. Zagospodarowanie energetyczne odpadów z biogazowni rolniczej (Dariusz Wiśniewski)	199
1. Wstęp	200
2. Stanowisko badawcze i przygotowanie pofermentu do badań nad termicznymi metodami przetwarzania	201
3. Badania nad zgazowaniem osuszonego pofermentu	206
4. Wnioski	209

Od Redakcji

Instalacje biogazowni są doskonalone od dziesiątków lat, a mimo to wciąż proces fermentacji beztlenowej i wytwarzania biogazu stanowi ważne wyzwanie zarówno z badawczego, jak i z gospodarczo-środowiskowego punktu widzenia. Klasycznie zakłada się, że współczesna biogazownia powinna łączyć dochodowość instalacji z racji wytwarzanej energii (biogaz, metan) z jednoczesnym zagospodarowaniem odpadów organicznych na wejściu (substrat) i pozostałości po fermentacji na wyjściu (poferment) w celach nawozowych. Wymienione funkcje biogazowni mają wymiar jednoznacznie prośrodowiskowy, polegający na ograniczeniu obciążenia środowiska odpadami, redukcji emisji ditlenku węgla (energia odnawialna z lokalnych źródeł) oraz redukcji zużycia paliw kopalnych na produkcję nawozów syntetycznych. To klasyczne rozumienie biogazowni zaczyna stopniowo ewoluować w kierunku instalacji o relatywnie małych mocach, które zazwyczaj nie generują zysku bezpośrednio z instalacji, ponieważ główne źródło dochodu – energia jest wykorzystywana na potrzeby własne. Staje się zatem oczywiste, że taki trend rozwojowy prowadzi do przewartościowania rynku biogazowni od dużych instalacji o mocach gwarantujących dochód ze sprzedaży energii do powszechnych instalacji prosumenckich, których zasadniczą funkcję można sprowadzić do potrzeby zagospodarowania odpadów lokalnie, w miejscu ich powstawania oraz zwiększenia samodzielności energetycznej. Zatem dla prosumenta wartość dodana takiej instalacji wynika z efektów przeniesionych (*trade-off*) – zamkniętego obiegu materii i energii, ograniczenia potrzeb energetycznych i niższych rachunków za energię.

Techniczno-technologiczne ograniczenia w rozwoju małych biogazowni wynikają przede wszystkim z braku skutecznych rozwiązań efektywnej produkcji biogazu na małą skalę, niskiej wydajności biogazu z odpadów i substratów roślinnych o relatywnie dużej zawartości lignocelulozy, a także z dużej objętości pozostałości pofermentacyjnych o niskiej zawartości składników odżywczych. Oznacza to wciąż duży potencjał rozwojowy badań nad tego typu instalacjami i potrzebę poszukiwania nowych rozwiązań techniczno-technologicznych zwiększających efektywność produkcji biogazu w małych biogazowniach.

Biogazownię należy postrzegać jako ważną instalację przyszłego rynku, tzw. biogospodarki, gdzie biogazownia jest obiektem, którego funkcja jest wypadkową lokalnych uwarunkowań produkcyjnych oraz specyfiki dostępnego substratu, a także oczekiwanych efektów energetycznych, ekonomicznych i środowiskowych. W zależności od źródła substratu – pierwotnego, wtórnego czy trzeciorzędowego – funkcja biogazowni może zmieniać się od oczekiwanych efektów energetycznych i ekonomicznych, gdy dominującym substratem bio-

gazowni jest biomasa z upraw energetycznych dedykowanych biogazowni, poprzez komplementarne efekty energetyczne w sytuacji, gdy biogazownia jest składową procesów biorafineryjnych, aż do dominujących efektów próśrodowiskowych, gdy zasadniczym celem produkcji jest ograniczenie obciążenia środowiska odpadami. Niezależnie od relacji między tymi efektami biogazownia utożsamia cyrkulacyjny obieg materii i energii według modelu analizy cyklu życia *from cradle to cradle*. Cyrkulacja substratu z biomasy pierwotnej, wariant nieracjonalnego wykorzystania biomasy, przebiega zgodnie z tym modelem. W przypadku substratu z biomasy wtórnej lub trzeciorzędnej jest składową tego modelu w zamkniętej cyrkulacji biorafinerii lub zagospodarowania odpadów.

W niniejszej monografii przedstawiono wyniki badań nad procesami konwersji odpadów przemysłu rolno-spożywczego oraz biomasy lignocelulozowej pochodzącej z upraw dedykowanych do biogazu oraz nad możliwością termicznego unieszkodliwiania odpadów pofermentacyjnych. Interesujące poznawczo było wykorzystanie technik izotopowych do określenia ścieżek węgla i wodoru w fermentacji metanowej biomasy lignocelulozowej i odpadów przemysłu rolno-spożywczego w procesach fermentacji i współfermentacji metanowej. Wyniki badań podstawowych mogą być w przyszłości wykorzystane do monitoringu przemian fermentacji mezofilowej, jak też wspomóc wybór substratów do współfermentacji. Wskazano również na możliwości zagospodarowania gruntów pozaklasowych do hodowli wielopokostowej ślazuwca *Sida hermaphrodita* (L.) Rusby i wykorzystania tej rośliny do produkcji biomasy lignocelulozowej wsadu do fermentacji metanowej. Sprawdzono efektywność technologii zakiszania biomasy ślazuwca oraz możliwości wykorzystania przyrodniczego odpadu po fermentacji metanowej.

Znaczną część monografii poświęcono technologiom przygotowania substratu do fermentacji w wyniku działania czynnikami biologicznymi, chemicznymi, termicznymi czy wykorzystania promieniowania mikrofalowego, czynnika fizycznego, do zwiększenia dostępność materii organicznej mikroorganizmom. Nie mniej istotny w przypadku produkcji biogazu jest dobór substratów do współfermentacji. Przedstawiono zatem aktualne dane o współfermentacji biomasy odpadowej z upraw energetycznych oraz kierunki rozwoju technologii fermentacji metanowej. Kolejnym prezentowanym problemem jest konfiguracja reaktorów i organizacja techniczna układu technologicznego do produkcji metanu z biomasy lignocelulozowej. Uwzględniono możliwości zastosowania membran do zagęszczania metanu w biogazie pozyskanym z fermentacji biomasy lignocelulozowej. Przedstawiono możliwości i celowość stosowania metod termicznej przeróbki do odzysku energii z odpadów pofermentacyjnych.

Wiedza i doświadczenie badawcze zapewniają autorskie, oryginalne podejście do problemów związanych z praktycznym wykorzystaniem wyników badań do projektowania bioinstalacji.

ROZDZIAŁ 1

Identyfikacja ścieżek metanogenezy na podstawie badań izotopowych węgla i wodoru

Identification of methanogenesis pathways on the basis of isotope analyses of carbon and hydrogen

Beata Biega, Dominika Kufka, Mariusz-Orion Jędrysek

Zakład Geologii Stosowanej i Geochemii
Uniwersytet Wrocławski

Słowa kluczowe: fermentacja metanowa, analizy izotopowe, biogaz.

Key words: methane fermentation, isotopic analysis, biogas.

Streszczenie

Zastosowanie nowoczesnego narzędzia, jakim są analizy zmienności stosunków izotopów trwałych, umożliwi dokładniejsze poznanie mechanizmów i przebiegu procesu metanogenezy w skali laboratoryjnej, a tym samym bezpośrednią poprawę efektywności procesu fermentacji metanowej realizowanej w biogazowniach.

Celem badań było wyznaczenie tła izotopowego niezbędnego do prowadzenia kontroli procesu, w tym sterowania składem wsadów fermentacyjnych, ocena tempa fermentacji w różnych kombinacjach wkładów oraz obserwacja zmian składu izotopowego, umożliwiających śledzenie następstw i intensywności fermentacji surowców, a ponadto wykonanie izotopowego bilansu mas wkładów mieszanych oraz dokonanie oceny efektywności wybranych metod fermentacji przy uwzględnieniu jakości wkładu, warunków fizykochemicznych i inokulum.

Przeprowadzone metodą batch oraz w bioreaktorach fermentacje odpadów rolniczych, a także analizy izotopowe umożliwiły uzyskanie praktycznej wiedzy. Pozwala to na optymalizację technologii produkcji biogazu w zakresie jakości i proporcji mieszanin wkładów poddawanych fermentacji oraz na wstępne dostosowanie technik fermentacji do jakości otrzymywanych wkładów.

Summary

The application of a modern tool such as analyses of stable isotopes will allow more accurate understanding of the mechanisms and the process of methanogenesis in a laboratory scale, and thus directly improving the efficiency of the fermentation process in biogas plants.

The aims of studies were: determination isotopic background which is necessary to control the fermentation process, especially the composition of fermentation inputs, estimation the rate of fermentation in various combinations inputs and observation of changes in the isotopic composition, enabling to trace sequences and intensity of fermented materials. Moreover accomplishment the isotopic ass balance of mixed inputs and assessment the effectiveness of selected fermentation methods, taking into account the quality of inputs, physico-chemical conditions and inoculum.

Fermentations of agriculture wastes carried out batch methods and inside bioreactors also with using isotopic analyses allowed to obtain a practical knowledge about methane fermentation. It is necessary for optimizing technology of biogas production in terms of quality and proportion of mixing inputs which are fermented and for initially adjust fermentation techniques to quality of the inputs.

1. Wstęp

Fermentacja metanowa jest procesem beztlenowego rozkładu (mineralizacji) wysokocząsteczkowych związków organicznych, w wyniku którego powstaje m.in. metan i ditlenek węgla. Za przebieg fermentacji odpowiadają zróżnicowane konsorcja mikrobiologiczne, w szczególności złożone z bakterii hydrolizujących i fermentujących, redukujących wodór, bakterii homoacetogennych i metanowych. Fermentacja metanowa jest determinowana przez szereg czynników, takich jak skład chemiczny substratu, temperatura prowadzenia procesu fermentacji, czas trwania procesu, ilość i częstotliwość doprowadzania substratu, intensywność mieszania, hydrauliczny czas zatrzymania, czas zatrzymania zawieszin, odczyn, zawartość lotnych kwasów tłuszczowych i wartość zasadowości, zawartość: azotu ogólnego, fosforu ogólnego, substancji toksycznych oraz uwodnienie. Mogą wpływać one bądź stymulująco, bądź hamująco na szybkość i efektywność jego przebiegu (Magrel 2004). Istotne znaczenie w przebiegu fermentacji metanowej ma zarówno substrat, jak i odpowiednie populacje mikroorganizmów, parametry środowiskowe, m.in. temperatura, pH, stężenie składników pokarmowych i związków toksycznych, które wpływają na aktywność mikroorganizmów, a także szybkość przemian (Weiland 2010; Jędrzszak 2007).

Zastosowanie badań izotopowych może być istotnym wskaźnikiem, zwłaszcza w kontekście optymalizacji procesu fermentacji metanowej w skali przemysłowej. W naturze obserwuje się różne względne stężenia izotopów. Różnice te ujawniają się w zależności od formy i miejsca występowania pierwiastka, a głównymi przyczynami ich powstawania są różnice w właściwościach chemicznych i fizycznych izotopów wynikających z ich masy. Skutkiem tego zróżnicowania jest frakcjonowanie izotopowe w reakcjach chemicznych, procesach zmiany fazy (parowanie, skraplanie, zamarzanie) oraz procesach transportu (dyfuzji).

Frakcjonowanie izotopowe (wyróżnienie izotopowe) to proces rozdziału izotopów między dwie substancje lub fazy tej samej substancji, prowadzący do ustalenia nowych stosunków izotopowych. Największy wpływ na rozdział izotopów przy współwystępowaniu innych substancji ma temperatura, mniejszy zaś inne czynniki środowiskowe, jak np. skład chemiczny, procesy dyfuzji, czas, stopień utlenienia pierwiastków (Gałuszka, Migaszewski 2007; Jędrysek 1990). Przyczyną frakcjonowania izotopowego w środowisku przyrodniczym są reakcje wymiany izotopowej i efekty kinetyczne, które zależą głównie od szybkości reakcji związków chemicznych o odmiennym składzie izotopowym (Hoefs 2009; Sharp 2007).

Przy oznaczaniu izotopów trwałych wylicza się wartość delty (δ), która wyznacza względne odchylenie stosunku izotopowego próbki od wykorzystywanego wzorca (Gałuszka, Migaszewski 2007; Craig 1961)

$$\delta_{(\text{promil lub ppt})} = \frac{R_{(\text{póbki})} - R_{(\text{wzorca})}}{R_{(\text{wzorca})}} \cdot 1000 \quad (1)$$

gdzie:

R – stosunek zawartość izotopu ciężkiego w stosunku do zawartości izotopu lekkiego

$$R = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C} \quad (2)$$

Analiza zmienności stosunków lekkich izotopów trwałych jest nowoczesnym narzędziem pozwalającym na precyzyjne śledzenie mechanizmów i dynamiki reakcji chemicznych, przejść fazowych, migracji, proporcji mieszania substancji wykazujących identyczny skład chemiczny. Umożliwia także analizę procesów oraz czynników wpływających na fermentację metanową. W dotychczasowych systemach produkcji metanu na skalę przemysłową nie stosuje się jeszcze tego typu narzędzia, jakim są analizy izotopowe. Śledzenie zmian składu izotopowego węgla i wodoru w substratach oraz w metanie pozwala na ustalenie ścieżki powstawania tego gazu (Keppler i in. 2010; Laukenmann i in. 2010; Ou i in. 2009), co ma znaczenie dla efektywności procesu fermentacji metanowej. Metan może powstawać poprzez biologiczny rozkład kwasu octowego (Wolfe 1971), za który odpowiadają bakterie heterotroficzne, bądź też na skutek redukcji ditlenku węgla (Barker 1936) przez bakterie autotroficzne. Metan powstały w tych dwóch procesach, różni się stosunkami izotopów ${}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}$ oraz ${}^2\text{H}/{}^1\text{H}$. Z dotychczasowych badań wynika, że bardziej wydajna jest produkcja metanu na skutek rozkładu kwasu octowego (Jędrysek 1999).

Badania realizowane w ramach projektu „Badania izotopowe ścieżek węgla i wodoru w fermentacji metanowej” ukierunkowane są na wskazanie – na podstawie badań izotopowych – takich kombinacji wsadów fermentacyjnych, w których metanogeneza będzie przebiegała najefektywniejszą ścieżką, czyli poprzez rozkład kwasu octowego. Poznanie składu izotopowego substratów oraz produktów umożliwi wykonanie izotopowego bilansu mas, a tym samym bezpośrednio otrzymanie informacji o procentowym udziale poszczególnych ścieżek w produkcji metanu. W konsekwencji możliwe staje się odpowiednie sterowanie procesem fermentacji metanowej, tak aby produkowany biogaz był jak najbardziej zasobny w metan, a sama produkcja jak najszybsza.

Celem prezentowanych badań było wykonanie eksperymentalnych fermentacji wkładów jednorodnych i mieszanych, przygotowanych na bazie odpadów rolno-spożywczych. Przeprowadzone analizy izotopowe ukierunkowane były na:

1) wyznaczenie tła izotopowego niezbędnego do sterowania procesem fermentacji metanowej;

2) ocenę tempa fermentacji w różnych kombinacjach wkładów (mieszanin) oraz obserwacji zmian składu izotopowego;

3) wykonanie izotopowego bilansu mas wkładów mieszanych oraz dokonanie oceny efektywności wybranych metod fermentacji przy uwzględnieniu jakości wkładu, warunków fizykochemicznych i podłoża mikrobiologicznego.

2. Metodyka badań

Przedmiotem badań było przeprowadzenie eksperymentów fermentacyjnych odpadów rolno-spożywczych w różnych kombinacjach wsadów. Ponadto określono zawartości suchej masy i suchej masy organicznej w substratach i pofermentatach, wykonano analizy chromatograficzne biogazu oraz analizy izotopowe substratów i produktów fermentacji.

2.1. Opis eksperymentów

Fermentacje odpadów rolno-spożywczych były realizowane w skali laboratoryjnej i obejmowały:

- fermentacje metodą batch oraz w bioreaktorach wsadów jednorodnych i mieszanych,
- analizy ilościowe i jakościowe biogazu,
- analizy izotopowe $\delta^{13}\text{C}$ (materia organiczna), $\delta^{13}\text{C}$ (CO_2), $\delta^{13}\text{C}$ (CH_4), $\delta^2\text{H}$ (CH_4).

Eksperymenty oraz analizy izotopowe wykonano w Pracowni Geologii Izotopowej i Geoekologii Instytutu Nauk Geologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego.

Fermentację prowadzono w układach nieprzepływowych (fermentacja statyczna) przy jednorazowym wprowadzaniu wsadu do komory fermentacyjnej. Testowano wpływ pojedynczych czynników, takich jak temperatur[a] czy inokulacja osadem pościekowym/pofermentacyjnym na efektywność procesu fermentacji.

W ramach badań przeprowadzono eksperymenty fermentacyjne wsadów jednorodnych i mieszanych z wykorzystaniem: kiszonki z traw, kiszonki z kukurydzy, melasy, obornika, odpadu pogorzelnianego, kiszonki z lucerny, ślázowca pensylwańskiego. Badania realizowano etapowo.

W pierwszym etapie wykonano badania metodą batch. Pozwoliło to na wstępne wytypowanie najkorzystniejszych warunków do prowadzenia procesu metanogenezy. Na podstawie uzyskanych wyników przygotowano doświadczenia w bioreaktorach (firmy Sartorius Biostat A Plus).

2.2. Fermentacja wsadów jednorodnych metodą batch

Przeprowadzono 38 eksperymentów fermentacyjnych wsadów jednorodnych przygotowanych na bazie następujących substratów: kiszonki z kukurydzy, kiszonki traw, obornika bydłęcego, wywaru gorzelnianego oraz ślazuwca pensylwańskiego.

W szklanych butelkach o pojemności roboczej 0,5 dm³ umieszczano wsad fermentacyjny komponowany na bazie jednego z surowców oraz wody destylowanej (tab. 1). W przypadku niektórych eksperymentów zastosowano inokulację wsadów osadami z oczyszczalni ścieków. Butelki szczelnie zamykano gumowym septum zaciśniętym metalową zakrętką. Inkubację prowadzono w temperaturze 32°C. Każdego dnia dokonywano analizy ilościowej biogazu. Gaz, po pobraniu strzykawką poprzez nakłucie septum, umieszczano w szczelnych szklanych ampułkach o pojemności 0,20 dm³ wypełnionych częściowo wodą z bakteriocytem, które do momentu wykonania analiz przechowywano w lodówce odwrócone gumowym korkiem do dołu w temperaturze 4°C.

Tabela 1
Eksperymenty wsadów jednorodnych metodą batch przygotowanych na bazie kiszonki z kukurydzy, kiszonki traw, wywaru gorzelnianego, obornika

Lp.	Eksperyment	Wsad fermentacyjny
1	2	3
1	1 A	kiszonka z kukurydzy (10 g), woda destylowana (300 cm ³)
2	1 B	kiszonka z kukurydzy (10 g), woda destylowana (300 cm ³) (próba zaciemniona)
3	1 C	kiszonka z kukurydzy (10 g), woda destylowana (420 cm ³), argon
4	1 D	kiszonka z kukurydzy (40 g), woda destylowana (300 cm ³)
5	1 E	kiszonka z kukurydzy (20 g), woda destylowana (300 cm ³)
6	1 F	kiszonka z kukurydzy (10 g), woda destylowana (300 cm ³), Compostreat (1,5 g)
7	1G	kiszonka z kukurydzy (10 g), woda destylowana (300 cm ³)
8	1 H	kiszonka z kukurydzy (10 g), woda destylowana (300 cm ³) (próba zaciemniona)
9	1 I	kiszonka z kukurydzy (10 g), woda destylowana (420 cm ³), argon
10	1 J	kiszonka z kukurydzy (20 g), woda destylowana (300 cm ³)
11	1 K	kiszonka z kukurydzy (50 g), woda destylowana (250 cm ³), osad pościekowy A (50 cm ³)
12	1 L	kiszonka z kukurydzy (50 g), woda destylowana (250 cm ³), osad pościekowy B (50 cm ³)
13	1 Ł	kiszonka z kukurydzy (50 g), woda destylowana (250 cm ³), osad pościekowy C (50 cm ³)
14	1 M	kiszonka z kukurydzy (50 g), woda destylowana (250 cm ³), osad pościekowy A (50 cm ³)

1	2	3
15	1 N	kiszonka z kukurydzy (50 g), woda destylowana (250 cm ³), osad pościekowy B (50 cm ³)
16	1 O	kiszonka z kukurydzy (50 g), woda destylowana (250 cm ³), osad pościekowy C (50 cm ³)
17	2 A	kiszonka trawy (10 g), woda destylowana (300 cm ³), Compostreat
18	2 B	kiszonka trawy (10 g), woda destylowana (300 cm ³)
19	2 C	kiszonka trawy (10 g), woda destylowana (300 cm ³), argon
20	2 D	kiszonka trawy (10 g), woda destylowana (300 cm ³), Compostreat, argon
21	2 E	kiszonka trawy (10 g), woda destylowana (300 cm ³)
22	2 F	kiszonka trawy (10 g), woda destylowana (300 cm ³), argon
23	3 A	wywar gorzelniany (170 cm ³), woda destylowana (80 cm ³), osad pościekowy A (50 cm ³)
24	3 B	wywar gorzelniany (170 cm ³), woda destylowana (80 cm ³), osad pościekowy B (50 cm ³)
25	3 C	wywar gorzelniany (170 cm ³), woda destylowana (80 cm ³), osad pościekowy C (50 cm ³)
26	3 D	wywar gorzelniany (170 cm ³), woda destylowana (130 cm ³), Compostreat (1,5 g)
27	3 E	wywar gorzelniany (230 cm ³), woda destylowana (70 cm ³)
28	3 A'	wywar gorzelniany (170 cm ³), woda destylowana (80 cm ³), osad pościekowy A (50 cm ³)
29	3 B'	wywar gorzelniany (170 cm ³), woda destylowana (80 cm ³), osad pościekowy B (50 cm ³)
30	3 C'	wywar gorzelniany (170 cm ³), woda destylowana (80 cm ³), osad pościekowy C (50 cm ³)
31	3 D'	wywar gorzelniany (170 cm ³), woda destylowana (130 cm ³), Compostreat (1,5 g)
32	4 A	obornik (30 g), woda destylowana (300 cm ³), Compostreat
33	4 B	obornik (50 g), woda destylowana (300 cm ³)
34	4 C	obornik (30 g), woda destylowana (300 cm ³), Compostreat
35	4 D	obornik (50 g), woda destylowana (300 cm ³)
36	5 A	ślazowiec pensylwański (10,0 g), woda destylowana
37	5 B	ślazowiec pensylwański (20,0 g), woda destylowana, Compostreat
38	5 C	ślazowiec pensylwański (20,0 g), woda destylowana

2.3. Fermentacja wsadów jednorodnych w bioreaktorach Sartorius Biostat A Plus

Fermentację w bioreaktorach Sartorius Biostat A Plus przeprowadzono z wykorzystaniem następujących substratów: kiszonka z kukurydzy, obornik, wywar gorzelniany. W trakcie procesu kontrolowano parametry fizykochemi-

czne: pH, temperaturę, zawartość tlenu, potencjał redox. Monitorowanie przebiegu metanogenezy w fermentatorze możliwe było dzięki oprogramowaniu μ DCU zainstalowanemu na jednostce sterującej. W komorze o pojemności roboczej 6,5 dm³ umieszczano wsad fermentacyjny. Następnie szczelnie zamknięto pokrywą oraz przestrzeń nad osadem przepłukiwano argonem. Dzięki oprogramowaniu PC – based Operation zadawano parametry prowadzenia fermentacji: temperaturę, prędkość mieszania osadu, pH (korekty pH za pomocą 1 M HCl i 1 M NaOH). Temperatura w komorze utrzymywana była za pomocą płaszcza grzejnego i chłodnicy. Zawartość komory mieszano mieszadłem mechanicznym, łopatkowym z prędkością 60 rpm. Monitorowanie parametrów fizykochemicznych prowadzono z wykorzystaniem:

- elektrody procesowej Hamilton Easycontrol OPR 120 – potencjał redox,
- elektrody procesowej Hamilton Easyferm plus K8 325 – pH,
- elektrody procesowej Hamilton Oxyferm FDA 325 – zawartość tlenu.

W celu ustalenia składu jakościowego i ilościowego wydzielającego się w komorze biogazu dokonywano pomiaru jego objętości oraz pobierano próbki do analizy chromatograficznej i izotopowej. Gaz, po pobraniu strzykawką poprzez nakłucie septum, umieszczano w szczelnych szklanych ampułkach o pojemności 0,20 dm³, wypełnionych częściowo wodą z bakteriocytem, przechowywano w lodówce odwrócone gumowym korkiem do dołu w temperaturze 4°C.

Wykonano trzy serie fermentacji metanowych w bioreaktorach na bazie różnych substratów. W pierwszej serii zastosowano jednorodny wsad przygotowany z kiszonki kukurydzy oraz wody destylowanej. W przypadku eksperymentu F2 K zastosowano dodatkowo pożywkę Compostreat. W celu zapewnienia w reaktorze warunków beztlenowych komorę fermentacyjną (F1 K, F2 K) przepłukano argonem. Eksperymentalna inkubacja prowadzona była w temperaturze 34°C przez okres około 40 dni (tab. 2).

Tabela 2

Skład wsadów jednorodnych fermentowanych w bioreaktorach – kiszonka z kukurydzy

Eksperyment	Wsad fermentacyjny		
	kiszonka z kukurydzy [kg]	woda destylowana [dm ³]	dodawane medium
F 1 K	0,15	5,0	argon
F 2 K	0,15	5,0	pożywka, argon
F 3 K	0,15	5,0	–

K – wsad fermentacyjny na bazie kiszonki z kukurydzy

Kolejna seria eksperymentów obejmowała fermentacje przygotowane na bazie obornika bydłęcego. W trzech bioreaktorach umieszczano jednorodne wsady fermentacyjne (tab. 3), które inokulowane były osadami pościekowymi. Inkubację prowadzono w temperaturze 34°C przez okres 36 dni.

Tabela 3

Skład wsadów jednorodnych fermentowanych w bioreaktorach – obornik

Eksperyment	Wsad fermentacyjny		
	obornik [kg]	woda destylowana [dm ³]	osad pościekowy [dm ³]
F 1 O	0,5	4,5	0,5
F 2 O	0,5	4,5	0,5
F 3 O	0,5	4,5	0,5

O – wsad fermentacyjny na bazie obornika

Trzecia seria eksperymentów obejmowała fermentację wsadów jednorodnych przygotowanych na bazie wywaru gorzelnianego. Badania prowadzono w trzech różnych wariantach. W eksperymencie F3 W fermentowano wyłącznie wywar gorzelniany z wodą destylowaną. Wsady fermentacyjne w eksperymentach F1 W oraz F2 W inokulowano osadem pofermentacyjnym z oczyszczalni ścieków MPWiK S.A. we Wrocławiu. W przypadku eksperymentu F2 W zastosowano dodatkowo pożywkę Compostreat. Inkubację prowadzono w temperaturze 34°C przez ponad 60 dni (tab. 4).

Tabela 4

Skład wsadów jednorodnych fermentowanych w bioreaktorach – wywar gorzelniany

Eksperyment	Wsad fermentacyjny			
	wywar gorzelniany [dm ³]	woda destylowana [dm ³]	osad pofermentacyjny [dm ³]	pożywka Compostreat [g]
F 1 W	1,0	3,7	0,3	0,0
F 2 W	1,0	3,7	0,3	20,0
F 3 W	1,0	4,0	0,0	0,0

W – wsad fermentacyjny na bazie wywaru gorzelnianego

2.4. Etap III fermentacja wsadów mieszanych metodą batch

Fermentację wsadów mieszanych metodą batch przeprowadzono w 31 wariantach. Wsady fermentacyjne przygotowano, wykorzystując 6 surowców: obornik bydłęcy, wywar gorzelniany, kiszonkę z kukurydzy, lucernę, kiszonki traw, ślázowiec pensylwański oraz melasę. Substraty umieszczono w szklanych

Tabela 5

Skład wsadów mieszanych fermentowanych metodą batch

Eksperyment	Wsad fermentacyjny
1	2
P 1	obornik (50 g), wywar gorzelniany (50 g)
P 2	obornik (33 g), wywar gorzelniany (33 g), melasa (33 g)
P 3	obornik (50 g), wywar gorzelniany (25 g), melasa (25 g), osad z oczyszczalni ścieków
P 4	obornik (50 g), melasa (50 g), kiszonka z traw (12 g)
P 5	obornik (75 g), wywar gorzelniany (25 g)
P 6	obornik (25 g), wywar gorzelniany (75 g), osad z oczyszczalni ścieków
P 7	obornik (50 g), wywar gorzelniany (25 g), melasa (25 g)
P 8	obornik (25 g), wywar gorzelniany (25 g), melasa (50 g)
P 9	obornik (25 g), melasa (55 g), wywar gorzelniany (10 g), kiszonka z traw (10 g), osad z oczyszczalni ścieków
P 10	obornik (30 g), melasa (40 g), wywar gorzelniany (20 g), kiszonka z traw (10 g)
P 11	obornik (75 g), melasa (25 g)
P 12	obornik (25 g), melasa (75 g), osad z oczyszczalni ścieków
P 13	melasa (50 g), wywar gorzelniany (50 g)
P 14	melasa (75 g), wywar gorzelniany (25 g)
P 15	melasa (25 g), wywar gorzelniany (75 g), osad z oczyszczalni ścieków
P 16	melasa (75 g), kiszonka z traw (25 g)
P 17	melasa (50 g), kiszonka z traw (50 g)
P 18	melasa (25 g), kiszonka z traw (25 g), osad z oczyszczalni ścieków
P 19	kiszonka z kukurydzy (50 g), ślazowiec pensylwański (10 g)
P 20	kiszonka z kukurydzy (10 g), kiszonka z lucerny (10 g), wywar gorzelniany (25 ml)
P 21	kiszonka z kukurydzy (10 g), kiszonka z traw (10 g)
P 22	ślazowiec pensylwański (10 g), kiszonka z lucerny (10 g)
P 23	ślazowiec pensylwański (10 g), kiszonka z traw (10 g)
P 24	kiszonka z lucerny (10 g), kiszonka z traw (10 g), wywar gorzelniany (25 g), Compostreat
P 25	kiszonka z kukurydzy (10 g), ślazowiec pensylwański (10 g), kiszonka z lucerny (10 g)
P 26	kiszonka z kukurydzy (10 g), ślazowiec pensylwański (10 g), kiszonka z lucerny (10 g), Compostreat
P 30	melasa (30 g), obornik (30 g), kiszonka z kukurydzy (10 g), wywar gorzelniany (30 g)
P 31	melasa (70 g), ślazowiec pensylwański (20 g), kiszonka z traw (10 g), Compostreat
P 32	melasa (70 g), kiszonka z kukurydzy (10 g), kiszonka z lucerny (10 g), ślazowiec (10 g)
P 33	obornik (70 g), kiszonka z kukurydzy (10 g), ślazowiec pensylwański (10 g), kiszonka z lucerny (10 g)
P 34	obornik (40 g), kiszonka z kukurydzy (10 g), melasa (40 g), kiszonka z lucerny (10 g), Compostreat

butelkach o pojemności 0,5 dm³. Zawartość każdej butelki uzupełniono wodą destylowaną do objętości 0,3 dm³ i szczelnie zamknięto septum (tab. 5). Inkubacje prowadzono w temperaturze 32°C przez okres około 30 dni.

Do wybranych eksperymentów, w celu zainicjowania procesu fermentacji metanowej, dodano osad pofermentacyjny lub pościekowy z oczyszczalni ścieków bądź też pożywkę Compostreat.

2.5. Analiza zawartości suchej masy i suchej masy organicznej w substratach i pofermentatach

Badania zawartości suchej masy (s.m.) oraz suchej masy organicznej (s.m.o.) zostały wykonane jako element uzupełniający, konieczny do obliczenia izotopowego bilansu mas wybranych eksperymentów fermentacyjnych. Oznaczenia zawartości s.m. i s.m.o. wykonywano metodą wagową zgodnie z metodą opisaną przez Håkanson i Jansson (1983) oraz Myślińską (2010).

2.6. Analiza chromatograficzna

Analizy stężenia metanu oraz ditlenku węgla w biogazie wykonano przy użyciu chromatografu gazowego ELWRO 504 produkcji Teleks Wrocław. Do identyfikacji gazów oraz oznaczenia stężenia w mieszaninach zastosowano Komputerowy System Przetwarzania Danych (KSPD 7.5) chromatograficznych firmy „Metroster”. Rozdział gazów przeprowadzono, stosując kolumnę chromatograficzną (Poropak R) wypełnioną zeolitem (Witkiewicz i in. 2001; Witkiewicz 2005). Stężenie gazów mierzono względem wzorców. Próbkę gazu wprowadzającą do chromatografu miała objętość 0,5 cm³. Jako gazu nośnego użyto helu.

2.7. Analiza izotopowa

Wykonano badania izotopowe węgla i wodoru w substratach i produktach fermentacji metanowej. Do przeprowadzenia pomiarów stosunków izotopów trwałych na spektrometrze mas niezbędne było uprzednie przygotowanie prób z wykorzystaniem preparatyk na liniach próżniowych.

2.8. Preparatyka próżniowa gazów oraz materii organicznej

Biogaz pozyskany w wyniku fermentacji metanowej preparowany był na szklanej linii próżniowej do preparatyki metanu zgodnie z metodyką opracowaną przez Jędrzyka (1999). Preparatyka próżniowa węgla z materii organicznej wykonana została zgodnie z metodą opisaną przez Bouttona (1991).

2.9. Analiza na spektrometrze mas

Składy izotopowe węgla $\delta^{13}\text{C}$ z CH_4 i z CO_2 oraz wodoru $\delta^2\text{H}$ z H_2O zmierzono poprzez naprzemienne analizowanie wzorca roboczego i próbki. Cykl powtarzany był kilkakrotnie, a uzyskane wyniki uśredniono. Następnie wartości δ znormalizowano względem międzynarodowych wzorców i przedstawione w skali VPDB oraz VSMOW. Pomiary składu izotopowego węgla $\delta^{13}\text{C}(\text{CO}_2)$, $\delta^{13}\text{C}(\text{CH}_4)$ wykonano na spektrometrze *Finnigan Mat Delta E*, a wodoru $\delta^2\text{H}(\text{CH}_4)$ przy użyciu spektrometru *Thermo Delta V Advantage*.

2.10. Izotopowy bilans mas

Do obliczenia bilansu mas wykorzystano dane uzyskane w badaniach eksperymentalnych, tj. (1) zawartość węgla organicznego w substratach i pofermentatach, (2) zawartości ditlenku węgla i metanu w biogazie, (3) objętości powstałego biogazu, (4) masy substratów i pofermentatów, (5) masy molowe związków węgla (ditlenek węgla, metan), (6) wartości $\delta^{13}\text{C}$ substratów i produktów metanogenezy.

W obliczeniach zastosowano następujące wzory:

$$\delta^{13}\text{C}(\text{WF}) \cdot m \text{ C} = \delta^{13}\text{C}(\text{CO}_2) \cdot m \text{ C} + \delta^{13}\text{C}(\text{CH}_4) \cdot m \text{ C} + \delta^{13}\text{C}(\text{PF}) \cdot m \text{ C} \quad (3)$$

$$\delta^{13}\text{C}_{(\text{sub})} \cdot m \text{ C}_{(\text{sub})} = \delta^{13}\text{C}_{(\text{prod } 1)} \cdot m \text{ C}_{(\text{prod } 1)} + \delta^{13}\text{C}_{(\text{prod } 2)} \cdot m \text{ C}_{(\text{prod } 2)} + \delta^{13}\text{C}_{(\text{prod } 3)} \cdot m \text{ C}_{(\text{prod } 3)} \quad (4)$$

$$m \text{ C}_{\text{prod } 1} + m \text{ C}_{\text{prod } 2} + m \text{ C}_{\text{prod } 3} = 1 \quad (5)$$

gdzie:

m – masa, WF – wsad fermentacyjny, PF – pofermentat, sub – wsad fermentacyjny / substrat, prod (1, 2, 3) – produkty fermentacji (CO_2 , CH_4 , poferment).

Na podstawie danych o masie substratów i pofermentatów, zawartości węgla organicznego, masie węgla zawartego w metanie i ditlenku węgla, obliczono zawartość węgla w substratach i produktach fermentacji metanowej. Następnie w oparciu o te dane oraz wyniki analiz izotopowych wykonano izotopowy bilans mas (tab. 6).

Tabela 6

Charakterystyka eksperymentów, dla których wykonano izotopowy bilans mas

Eksperyment	Wsad fermentacyjny	Objętość powstałego biogazu [dm ³]
P 6	obornik (25 g), wywar gorzelniany (75 g), osad z oczyszczalni ścieków	0,400
P 17	melasa (50 g), kiszonka z traw (50 g)	1,002
P 31	melasa (70 g), ślázowiec pensylwański (20 g), kiszonka z traw (10 g), Compostreat	1,737
P 32	melasa (70 g), kiszonka z kukurydzy (10 g), kiszonka z lucerny (10 g), ślázowiec (10 g)	1,064

3. Wyniki i dyskusja

3.1. Fermentacja wsadów jednorodnych i mieszanych

Przeprowadzone eksperymenty fermentacyjne wsadów jednorodnych i mieszanych metodą batch pozwoliły na wstępną ocenę efektywności procesu fermentacji następujących substratów: kiszonki z kukurydzy, kiszonek traw, wywaru gorzelnianego, obornika bydłowego oraz ślázowca pensylwańskiego. Wykonane eksperymenty umożliwiły wskazanie najbardziej optymalnych kompozycji wsadów fermentacyjnych. Badania dostarczyły wiedzy niezbędnej do prawidłowej realizacji kolejnych etapów badań, tj. fermentacji substratów w bioreaktorach.

3.1.1. Fermentacja jednorodna – metoda batch

Największe objętości biogazu (4,26 dm³) uzyskano w eksperymencie 3C' podczas fermentacji wywaru gorzelnianego inokulowanego osadem pościekowym. Blisko dwukrotnie mniejszą ilość biogazu otrzymano ze wsadów: kiszonki kukurydzy (1J), obornika bydłowego (4D) inokulowanych osadem pościekowym. W przypadku wsadów przygotowanych ze ślázowca pensylwańskiego (5A, 5B, 5C) nie uzyskano biogazu (tab. 7).

Tabela 7
Produkcja biogazu dla eksperymentów wsadów jedno-
rodnych metodą batch

Lp.	Eksperyment	Objętość powstałego biogazu [dm ³]
1	1 A	0,09
2	1 B	0,07
3	1 C	0,29
4	1 D	0,73
5	1 E	0,26
6	1 F	0,39
7	1 G	0,24
8	1 H	0,17
9	1 I	0,20
10	1 J	0,06
11	1 K	1,95
12	1 L	1,28
13	1 Ł	1,66
14	1 M	2,32
15	1 N	1,37
16	1 O	1,74
17	2 A	0,13
18	2 B	0,10
19	2 C	0,08
20	2 D	0,14
21	2 E	0,08
22	2 F	0,06
23	3 A	0,97
24	3 B	1,05
25	3 C	3,04
26	3 D	1,27
27	3 E	1,55
28	3 A'	1,02
29	3 B'	1,15
30	3 C'	4,26
31	3 D'	1,26
32	4 A	1,57
33	4 B	1,90
34	4 C	1,91
35	4 D	2,25
36	5 A	0,00
37	5 B	0,00
38	5 C	0,00

Prawdopodobną przyczyną braku produkcji biogazu w przypadku eksperymentów przygotowanych na bazie surowców roślinnych zasobnych w ligninę był brak obróbki wstępnej i inokulacji wsadów. Rezultaty badań wskazują, że zastosowanie inokulacji wsadów fermentacyjnych w istotny sposób wpływa na efektywność procesu tworzenia biogazu (Raposo i in. 2006).

3.1.2. Fermentacja wsadów jednorodnych – badania prowadzone w bioreaktorach

Realizacja eksperymentów w bioreaktorach miała na celu modyfikację parametrów fizykochemicznych procesu fermentacji. Objętościowa produkcja biogazu z wsadów: kiszonki kukurydzy (F1 K, F2 K, F3 K), obornika bydlęcego (F1 O, F2 O, F3 O), wywaru gorzelnianego (F1 W, F2 W i F3 W) była zróżnicowana. Najlepsze efekty uzyskano w przypadku wsadów obornika bydlęcego: odpowiednio 6,229 dm³ (F3 O), 4,496 dm³ (F1 O), 3,868 dm³ (F2 O). Dobre rezultaty osiągnięto podczas fermentacji wywaru gorzelnianego wraz z osadem pofermentacyjnym (F1 W), a także fermentacji wywaru gorzelnianego nieinokulowanego (F3 W). Najslabsze rezultaty osiągnięto natomiast w przypadku eksperymentów, w których zastosowano substrat roślinny – kiszonkę z kukurydzy (F1 K, F2 K, F3 K). Wsady fermentacyjne charakteryzowały się bardzo niską wartością pH w zakresie od 2,81 do 4,32, ponadto nie zostały inokulowane (tab. 8-10).

Tabela 8
Produkcja biogazu dla eksperymentów wsadów jednorodnych przygotowanych na bazie kiszonki z kukurydzy w bioreaktorach

Eksperyment	Objętość powstałego biogazu [dm ³]
F 1 K	2,212
F 2 K	2,118
F 3 K	1,265

Tabela 9
Produkcja biogazu dla eksperymentów wsadów jednorodnych przygotowanych na bazie obornika w bioreaktorach

Eksperyment	Objętość powstałego biogazu [dm ³]
F 1 O	4,496
F 2 O	3,868
F 3 O	6,229

Tabela 10
Produkcja biogazu dla eksperymentów wsadów jednorodnych prowadzonych w bioreaktorach – wywar gorzelniany

Eksperyment	Objętość powstałego biogazu [dm ³]
F 1 W	1,491
F 2 W	0,00
F 3 W	0,730

3.1.3. Fermentacja wsadów mieszanych – metoda batch

Przeprowadzono 31 eksperymentów fermentacji metanowej przygotowanych na bazie obornika bydłowego, wywaru gorzelnianego, kiszonki z kukurydzy, lucerny, kiszonki traw, ślazuwca pensylwańskiego melasy. Największą produkcją biogazu charakteryzowały się wsady w eksperymentach P31 (melasa, ślazuwiec, kiszonka z traw, Compostreat) oraz P32 (melasa, kiszonka z kukurydzy, kiszonka z lucerny, ślazuwiec). Znaczna produkcja biogazu obserwowana była także w eksperymentach: P15, P16, P17, P18 w zakresie od 1,002 dm³ do 2,135 dm³ (tab. 11).

Tabela 11
Produkcja biogazu dla eksperymentów wsadów mieszanych prowadzonych metodą batch

Eksperyment	Objętość powstałego biogazu [dm ³]	Maksymalna zawartość metanu w biogazie [%]
1	2	3
P 1	0,427	28,78
P 2	0,243	0
P 3	0,335	0
P 4	0,348	3,25
P 5	0,819	33,89
P 6	0,400	33,63
P 7	0,257	0
P 8	0,250	0
P 9	0,348	0
P 10	0,247	0
P 11	0,321	0
P 12	0,293	0
P 13	0,179	0
P 14	0,147	0

1	2	3
P 15	2,135	0
P 16	1,907	0
P 17	1,002	0
P 18	1,499	21,36
P 19	0,282	0
P 20	0,245	0
P 21	0,161	0
P 22	0	0
P 23	0,273	brak danych
P 24	0,338	brak danych
P 25	0	brak danych
P 26	0,281	brak danych
P 30	0,436	brak danych
P 31	1,737	brak danych
P 32	1,064	brak danych
P 33	0,401	brak danych
P 34	0,469	brak danych

Wsad eksperymentu P6, przygotowany na bazie obornika bydlęcego, wywaru gorzelnianego i osadu z oczyszczalni ścieków, charakteryzował się największym stężeniem metanu (33,63%). Jest to stosunkowo niewiele, jeśli odwołać się do procesów naturalnych występujących w zbiornikach słodkowodnych (Jędrysek 2005; Trojanowska i in. 2009). Ponadto dane literaturowe wskazują, że w wyniku fermentacji metanowej obornika bydlęcego można uzyskać około 280 dm³/kg s.m.o. o zawartości metanu około 55% (Głaszczka 2010).

Na podstawie wyników analiz chromatograficznych wytypowano próbki o największej zawartości metanu, które poddano analizom izotopowym.

3.2. Wyniki analiz izotopowych

3.2.1. Wyniki analiz izotopowych węgla w materii organicznej

Analizy $\delta^{13}\text{C}$ substratów (kiszonka z kukurydzy, lucerna, ślazowiec, melasa, trawa, wywar gorzelniany, obornik bydlęcy) poddawanych fermentacji metanowej umożliwiły poznanie składu izotopowego węgla w materii organicznej (tab. 12) – odpadów rolniczych oraz inokulantów.

Skład izotopowy $\delta^{13}\text{C}$ substratów charakteryzował się wartościami w zakresie od -30,00 do -21,81‰. Kiszonka z kukurydzy była wzbogacona w ciężkie izotopy ^{13}C (-14,90‰). Jest to charakterystyczne w przypadku roślin typu C4. Boutton i in. (1998) podają, że skład izotopowy węgla roślin typu C3 charakteryzuje się wartościami pomiędzy -32 a -22‰ (średnia -27‰), podczas gdy u roślin typu C4 obserwuje się wartości w zakresie od -17 do -9‰ (średnia -13‰).

Tabela 12
Skład izotopowy substratów wykorzystywanych
w eksperymentach

Substrat	$\delta^{13}\text{C}$ [‰]
Kukurydza	-14,90
Lucerna	-30,00
Ślázowiec	-27,95
Melasa	-28,65
Trawa	-28,02
Wywar gorzelniany	-26,84
Obornik	-21,81
Osad z oczyszczalni ścieków	-29,20
Pożywka Compostreat	-26,65

3.2.2. Wyniki analiz izotopowych węgla i wodoru w CH_4

W środowiskach beztlenowych produkcja metanu przebiega głównie dwiema ścieżkami: poprzez rozkład kwasu octowego oraz redukcję ditlenku węgla. Badania izotopowe umożliwiają identyfikację ścieżki metanogenezy na podstawie analizy składu izotopowego węgla i wodoru w substratach oraz produktach metanogenezy. Według Blair i Carter (1992) metan generowany na drodze redukcji CO_2 jest ubogi w ciężkie izotopy węgla ($\delta^{13}\text{C}$ wynosi od -110 do -60‰), natomiast produkowany z kwasu octowego charakteryzuje się zawartością $\delta^{13}\text{C}$ w zakresie od -60 do -33‰ (Conrad 2005; Jędrysek 2005).

Według Whiticara i in. (1986) skład izotopowy węgla w metanie powstającym w wyniku rozkładu kwasu octowego mieści się w zakresie od -60 do -33‰, natomiast w przypadku syntezy metanu z ditlenku węgla wartość $\delta^{13}\text{C}$ waha się w przedziale od -110 do -60‰. Na podstawie wyników analiz izotopowych substratów oraz produktów fermentacji metanowej uzyskano informacje o dominującej ścieżce metanogenezy, którą przebiegał proces. Wyniki analiz izotopowych węgla w metanie mieszczą się w zakresie od -89,67 (P32-4) do -27,43‰ (P31-3), co wskazuje, że produkcja metanu następowała na skutek redukcji ditlenku węgla (skrajnie ujemne wartości $\delta^{13}\text{C}$) oraz rozkładu kwasu

Tabela 13

Zestawienie zbiorcze wyników analiz izotopowych

Lp.	Data poboru próby	Nazwa próby	$\delta^{13}\text{C}(\text{CH}_4)$	$\delta^{13}\text{C}(\text{CO}_2)$	$\delta^2\text{H}(\text{CH}_4)$
1	2	3	4	5	6
1	25.11.2011	P6-1	-83,09	-7,70	-490,31
2	30.11.2011	P6-2	-53,15	-19,40	-437,98
3	12.12.2011	P6-3	-37,45	-14,38	-446,07
4	22.11.2011	P15-1	b.d.	-20,55	b.d.
5	23.11.2011	P15-2	b.d.	-20,79	b.d.
6	21.11.2011	P16-1	b.d.	-23,65	b.d.
7	23.11.2011	P16-2	b.d.	-23,96	b.d.
8	28.11.2011	P16-3	b.d.	-23,42	b.d.
9	30.11.2011	P16-4	b.d.	-23,26	b.d.
10	04.12.2011	P16-5	b.d.	-22,59	b.d.
11	06.12.2011	P16-6	b.d.	-24,00	b.d.
12	08.12.2011	P16-7	b.d.	-23,34	b.d.
13	21.11.2011	P17-1	b.d.	-22,89	b.d.
14	23.11.2011	P17-2	b.d.	-22,87	b.d.
15	28.11.2011	P17-3	b.d.	-20,41	b.d.
16	04.12.2011	P17-4	-38,97	b.d.	b.d.
17	06.12.2011	P17-5	b.d.	-22,52	b.d.
18	08.12.2011	P17-6	-60,32	-22,41	b.d.
19	21.11.2011	P18-1	b.d.	-22,89	b.d.
20	23.11.2011	P18-2	b.d.	-22,87	b.d.
21	28.11.2011	P18-3	b.d.	-20,41	b.d.
22	06.12.2011	P18-4	b.d.	-22,52	b.d.
23	08.12.2011	P18-5	b.d.	-22,41	b.d.
24	19.11.2011	P31-1	-45,86	-22,92	b.d.
25	21.11.2011	P31-2	-29,61	-22,02	b.d.
26	23.11.2011	P31-3	-27,43	-22,15	b.d.
27	25.11.2011	P31-4	-36,41	-23,48	-332,93
28	29.11.2011	P31-5	-34,29	-22,68	b.d.
29	02.12.2011	P31-6	-54,17	-13,84	b.d.
30	08.12.2011	P31-7	b.d.	-23,22	b.d.
31	21.11.2011	P32-1	-62,83	-24,29	b.d.
32	23.11.2011	P32-2	-41,57	-23,17	b.d.
33	25.11.2011	P32-3	-43,83	-23,34	b.d.
34	02.12.2011	P32-4	-89,67	b.d.	-323,49
35	05.12.2011	P32-5	b.d.	-23,02	b.d.
36	08.12.2011	P32-6	-34,24	-24,02	b.d.

b.d. – brak danych

octowego (wartości $\delta^{13}\text{C}$ zwykle powyżej -40‰). W przypadku wsadów: melasy, ślazuwca pensylwańskiego, kiszonki z traw, Compostreatu (P31) oraz melasy i kiszonki z traw (P17) obserwowano produkcję metanu w wyniku rozkładu kwasu octowego, co potwierdzają wartości $\delta^{13}\text{C}$ w zakresach od $-60,32$ (P17-6) do $-27,44\text{‰}$ (P31-3). Natomiast w przypadku wsadów: obornika bydłowego, wywaru gorzelnianego, osadu z oczyszczalni ścieków (P6) oraz melasy, kiszonki z kukurydzy, kiszonki lucerny, ślazuwca pensylwańskiego (P32) stwierdzono, że synteza metanu w początkowym etapie fermentacji metanowej następowała w wyniku redukcji ditlenku węgla: $\delta^{13}\text{C}$ w zakresie od $-89,67$ (P32-4) do $-62,83\text{‰}$ (P32-1), a następnie z kwasu octowego: $\delta^{13}\text{C}$ w zakresie od $-53,15$ (P6-2) do $-34,24\text{‰}$ (P32-6). Skład izotopowy substratu w P6 ($\delta^{13}\text{C} = -25,92\text{‰}$) był lżejszy izotopowo aniżeli poferment ($\delta^{13}\text{C} = -24,92\text{‰}$), co pozwala wnioskować, że powstający metan jest preferencyjnie syntezowany z lekkich izotopów węgla zawartych w substracie (tab. 13).

Wartość $\delta^2\text{H}$ metanu powstającego w wyniku redukcji CO_2 wynosi od -150 do -250‰ , a z fermentacji kwasu octowego od -250 do -400‰ (Whiticar i in. 1986; Szyrkiewicz i in. 2008).

Skład izotopowy wodoru z metanu waha się w przedziale od $-322,93$ (P31-4) do $-490,31\text{‰}$ (P6-1). Potwierdza to, że podczas fermentacji wsadów w eksperymentach P31 oraz P6 metan syntezowany był z kwasu octowego (tab. 13).

3.2.3. Wyniki analiz izotopowych węgla z CO_2

Wartości $\delta^{13}\text{C}$ z ditlenku węgla będącego produktem fermentacji metanowej oscylują w przedziale od $-7,70$ (P6-1) do $-24,29\text{‰}$ (P32-1) (tab. 13). Tak duże zróżnicowanie w czasie wskazuje na postępujące przemiany fizykochemiczne materii organicznej podczas fermentacji oraz stopniowe uruchamianie różnych źródeł węgla z odpadów rolniczych dostępnych mikroorganizmom, jak też świadczy o wahaniach wartości pH, a zatem o zmianach proporcji CO_2/HCO_3 .

W eksperymentach (P6, P17, P31, P32) obserwuje się wzbogacenie węgla z ditlenku węgla w cięższe izotopy w porównaniu do węgla w metanie, co wynika z natury frakcjonowania izotopowego w układzie faz zredukowanych i utlenionych energii (tab. 13).

3.3. Izotopowy bilans mas

Spośród 31 wariantów eksperymentów fermentacyjnych przygotowanych na bazie wsadów mieszanych wytypowano 4, dla których obliczono izotopowy bilans mas.

Wybrane komponenty wsadów fermentacyjnych charakteryzują się różnicowanymi wartościami $\delta^{13}\text{C}$ (od $-14,90$ do $-30,00\text{‰}$), co w efekcie finalnym wpływa na $\delta^{13}\text{C}$ w produkowanym metanie. Skład izotopowy węgla w metanie jest uzależniony m.in. od stopnia selektywnego rozkładu substratów, a także od udziału poszczególnych komponentów w całkowitej produkcji metanu.

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że skład izotopowy substratu w eksperymencie P6 był w porównaniu z pofermentatem lżejszy izotopowo: $\delta^{13}\text{C}$ (substrat) = $-25,92\text{‰}$, $\delta^{13}\text{C}$ (poferment) = $-24,92\text{‰}$, natomiast skład izotopowy produktów gazowych wynosił dla $\delta^{13}\text{C}(\text{CO}_2)$ $-13,83\text{‰}$, natomiast dla $\delta^{13}\text{C}(\text{CH}_4)$ $-57,89\text{‰}$, co oznacza, że lekkie izotopy węgla są preferencyjnie wykorzystywane do syntezy produktów gazowych fermentacji (metan, ditlenek węgla). W przypadku eksperymentu P17 skład izotopowy substratu był w porównaniu z pofermentatem cięższy izotopowo, tj. $\delta^{13}\text{C}$ (substrat) = $-28,21\text{‰}$, zaś $\delta^{13}\text{C}$ (poferment) = $-31,59\text{‰}$. Skład izotopowy produktów gazowych wynosił dla $\delta^{13}\text{C}(\text{CO}_2)$ $-22,22\text{‰}$ oraz dla $\delta^{13}\text{C}(\text{CH}_4)$ $-49,64\text{‰}$. Podobną tendencję zaobserwowano w przypadku eksperymentu P31, gdzie skład izotopowy substratów był cięższy izotopowo: $\delta^{13}\text{C}$ (substrat) = $-28,30\text{‰}$, a pozostałe produkty fermentacji, tj. $\delta^{13}\text{C}$ (poferment) = $-30,26\text{‰}$, $\delta^{13}\text{C}(\text{CO}_2)$ = $-21,47\text{‰}$ oraz $\delta^{13}\text{C}(\text{CH}_4)$ = $-37,96\text{‰}$. Substraty kolejnego eksperymentu (P 32) były wzbogacone w ciężkie izotopy węgla w porównaniu z pofermentatem ($\delta^{13}\text{C}$ (substrat) = $-26,49\text{‰}$, $\delta^{13}\text{C}$ (poferment) = $-30,95\text{‰}$). Produkty gazowe charakteryzowały się wartościami $\delta^{13}\text{C}$ w CO_2 $-23,57\text{‰}$ oraz w CH_4 $-54,43\text{‰}$. Otrzymane wyniki wskazują na wpływ selektywnego stopnia rozkładu poszczególnych komponentów wsadów fermentacyjnych na skład izotopowy produktów.

4. Podsumowanie badań

- Przeprowadzone badania wykazały konieczność zastosowania inokulacji dla prawidłowego przebiegu procesu fermentacji wsadów jednorodnych.
- Największy uzysk biogazu zaobserwowano, gdy fermentowano metodą batch wywar gorzelniany inokulowany osadem pościekowym oraz obornik inkubowany w bioreaktorach wraz z dodatkiem osadu pościekowego.
- W przypadku eksperymentów prowadzonych metodą batch, w których wsad fermentacyjny stanowił ślazowiec pensylwański, nie obserwowano produkcji biogazu.
- Stosunkowo słabe rezultaty osiągnięto, fermentując kiszonkę z kukurydzy bez inokulacji w bioreaktorach. Świadczy to o tym, że substrat ten wymaga wstępnej obróbki technologicznej.
- Czynnikiem limitującym dostępność substratów dla obecnych we wsadzie mikroorganizmów była hydroliza celulozy zawarta w głównych komponentach

Tabela 14

Izotopowy bilans mas – zestawienie danych dla eksperymentu P 6

Substraty			Produkty				
	obornik	wywar gorzelniany	osad z oczyszczalni		CO ₂	CH ₄	poferment
m [g]	25,00	75,00	50,00	m [g]	0,22	0,21	150,00
m C [g]	10,50	20,25	7,50	m C [g]	0,60	0,16	38,07
Łączna masa węgla [g]	38,30			łączna masa węgla [g]	38,29		
Udział węgla w substracie z każdego źródła	0,27	0,53	0,20	udział węgla w produkcie z każdego źródła	0,00	0,00	0,99
$\delta^{13}\text{C}$ [‰] substratu	-21,81	-26,84	-29,20	$\delta^{13}\text{C}$ [‰] produktu	-13,83	-57,89	-24,79
$\delta^{13}\text{C}$ [‰] uśredniona	-25,92			$\delta^{13}\text{C}$ [‰] uśredniona	-24,92		

Tabela 15

Izotopowy bilans mas – zestawienie danych dla eksperymentu P 17

Substraty			Produkty			
	melasa	kiszonka z kukurydzy		CO ₂	CH ₄	poferment
m [g]	50	50	m [g]	0,2	0,02	100
m C [g]	13	29,7	m C [g]	0,005	0,001	42,6
Łączna masa węgla [g]	42,70		łączna masa węgla [g]	42,606		
Udział węgla w substracie z każdego źródła	0,3	0,7	udział węgla w produkcie z każdego źródła	0,0013	0,0003	0,9984
$\delta^{13}\text{C}$ [‰] substratu	-28,65	-28,02	$\delta^{13}\text{C}$ [‰] produktu	-22,22	-49,64	-31,6
$\delta^{13}\text{C}$ [‰] uśredniona	-28,21		$\delta^{13}\text{C}$ [‰] uśredniona	-31,59		

Tabela 16

Izotopowy bilans mas – zestawienie danych dla eksperymentu P 31

Substraty				Produkty				
	melasa	ślazowiec	trawa	Compostreat		CO ₂	CH ₄	poferment
m [g]	70,00	20,00	10,00	1,50	m [g]	1,16	0,03	101,50
m C [g]	18,20	11,20	5,94	0,45	m C [g]	0,32	0,02	34,93
Łączna masa węgla [g]	35,80				łączna masa węgla [g]	35,79		
Udział węgla w substracie z każdego źródła	0,51	0,31	0,17	0,01	udział węgla w produkcie z każdego źródła	0,01	0,00	0,99
δ ¹³ C [‰] substratu	-28,65	-27,95	-28,02	-26,65	δ ¹³ C [‰] produktu	-21,47	-37,96	-30,33
δ ¹³ C [‰] uśredniona	-28,30				δ ¹³ C [‰] uśredniona	-30,26		

Tabela 17

Izotopowy bilans mas – zestawienie danych dla eksperymentu P 32

Substraty				Produkty				
	melasa	kukurydza	lucerna	ślazowiec		CO ₂	CH ₄	poferment
m [g]	70,00	10,00	10,00	10,00	m [g]	0,62	0,05	100,00
m C [g]	18,20	5,77	5,57	5,60	m C [g]	0,17	0,04	34,89
Łączna masa węgla [g]	35,10				łączna masa węgla [g]	35,10		
Udział węgla w substracie z każdego źródła	0,52	0,16	0,16	0,16	udział węgla w produkcie z każdego źródła	0,01	0,00	0,99
δ ¹³ C [‰] substratu	-28,65	-14,90	-30,00	-27,95	δ ¹³ C [‰] produktu	-23,57	-54,43	-30,96
δ ¹³ C [‰] uśredniona	-26,49				δ ¹³ C [‰] uśredniona	-30,95		

tach wsadów, co uniemożliwiło tworzenie produktów pośrednich metanogenezy, dalszy rozwój mikroorganizmów, a tym samym produkcję biogazu.

- Na podstawie 31 kombinacji wsadów fermentacyjnych, które poddawane były fermentacji metodą batch, uzyskano informacje o efektywności procesu.
- Izotopowy bilans mas wykonano dla eksperymentów: P6 (obornik, wywar gorzelniany, osad z oczyszczalni ścieków), P17 (melasa, kiszonka z traw), P31 (melasa, ślazowiec pensylwański, kiszonka z traw, Compostreat), P32 (melasa, kiszonka z kukurydzy, kiszonka z lucerny, ślazowiec) charakteryzujących się najwyższą efektywnością procesu (tab. 14–17).

5. Wnioski

1. Wybrane komponenty wsadów fermentacyjnych charakteryzowały się zróżnicowanymi wartościami $\delta^{13}\text{C}$, co wpływało na skład izotopowy węgla produkowanego metanu.

2. Wsady fermentacyjne w eksperymentach P17, P31, P32, skomponowane na bazie substratów roślinnych, charakteryzowały się składem izotopowym cięższym aniżeli poferment, natomiast metan powstający w wyniku fermentacji był lekki izotopowo, zaś ditlenek węgla stosunkowo ciężki izotopowo. W przypadku fermentacji wsadu P6, niezawierającego składników roślinnych, obserwowano wzbogacenie pofermentu w lekkie izotopy węgla. Syntezowany metan oraz ditlenek węgla charakteryzowały się podobną tendencją zmian składu izotopowego węgla jak eksperymenty P17, P31, P32.

3. Skład izotopowy węgla w metanie zależy od stopnia selektywnego rozkładu substratów oraz udziału poszczególnych komponentów w całkowitej produkcji metanu, co umożliwia określenie metodami izotopowymi, z których elementów wsadu produkowany jest na bieżąco metan w procesie technologicznym.

4. Na podstawie wykonanych badań izotopowych i uzyskanych wyników składu izotopowego węgla w metanie, mieszczącego się w zakresie od $-89,67\text{‰}$ (P32–4) do $-27,43\text{‰}$ (P31–3), możliwe było uzyskanie wiedzy o występowaniu dwóch dominujących ścieżek fermentacji metanowej, tj. poprzez rozkład kwasu octowego oraz redukcję ditlenku węgla.

Na podstawie przeprowadzonych badań uzyskano praktyczną wiedzę pozwalającą na optymalizację technologii produkcji biogazu w zakresie jakości i proporcji mieszanin wkładów poddawanych fermentacji oraz na wstępne dostosowanie technik fermentacji do jakości otrzymywanych wkładów.

Literatura

- Barker H. A. 1936. *On the biochemistry of methane fermentation*. Arch. Microbiol., 7: 420–438.
- Blair N. E., Carter W. D. K. 1993. *The carbon isotope biogeochemistry of acetate from methanogenic sediment*. Geochim Cosmochim Acta, 56: 1247–1248.
- Boutton T. W., Archera S. R., Midwooda A. J., Zitzera S. F., Bolb R. 1998. $\delta^{13}\text{C}$ values of soil organic carbon and their use in documenting vegetation change in a subtropical savanna ecosystem. Geoderma, 82: 5–41.
- Boutton T. W. 1991. *Stable isotope ratios of natural materials: I. Sample preparation and mass spectrometric analysis*. In: Coleman D.C., Fry B. (eds.). *Carbon isotope techniques*. Academic: 155–171.
- Conrad R. 2005. *Quantification of methanogenic pathways using stable carbon isotopic signatures a review and proposal*. Organic Geochemistry, 36: 739–752.
- Craig H. 1961a. *Isotopic variations in meteoric waters*. Science, 133: 1702–1703.
- Galuszka A., Migaszewski Z. 2007. *Podstawy geochemii środowiska*. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa.
- Głaszczka A., Warld W. J., Romaniuk W., Domasiewicz T. 2010. *Biogazownie rolnicze*. MULTICO Oficyna Wydawnicza, Warszawa.
- Hoefs J. 2009. *Stable isotope geochemistry*. 6th edition. Springer – Verlag, Berlin – Heidelberg.
- Jędrzak A. 2007. *Biologiczne przetwarzanie odpadów*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Jędrysek M. O. 2005. *The S-O-C isotopic picture of sulfate- methane-carbonate system in freshwater lakes*. Environmental Chemistry Letters, 3: 100–122.
- Jędrysek M. O. 1999. *Spatial and temporal patterns in diurnal variations of carbon isotope ratio of early-diagenetic methane from freshwater sediments*. Chemical Geology, 159: 241–262.
- Jędrysek M. O. 1990. *Course-book of Isotope Geology*. University of Wrocław.
- Keppler F., Laukenmann S., Rinne J., Heuwinkel H., Greule M., Whitaric M., Lelieveld J. 2010. *Measurements of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ methane from anaerobic digesters: Comparison of optical spectrometry with continuous-flow isotope ratio mass spectrometry*. Environ. Sci. Technol., 44(13): 5067–5073.
- Laukenmann S., Polag D., Heuwinkel H., Greule M., Gronauer A., Lelieveld J., Keppler F. 2010. *Identification of methanogenic pathways in anaerobic digesters using stable carbon isotopes*. Eng. Life Sci., 10(6): 509–514.
- Magrel L. 2004. *Prognozowanie procesu fermentacji metanowej mieszaniny osadów ściekowych i gnojowicy*. Wydawnictwo Politechniki Białostockiej, Białystok: 28
- Mysłińska E. 2010. *Laboratoryjne badania gruntów i gleb*. Wydawnictwo Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa: 183.
- Qu X., Mazeas L., Vavilin V. A., Epissard J., Lemunier M., Mouchel J. M., He P. J., Bouchez T. 2009. *Combined monitoring of changes in $\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$ and archaeal community structure during mesophilic methanization of municipal solid waste*. FEMS Microbiol. Ecol., 68 (2): 236–245.
- Raposo F., Banks C. J., Siegert I., Heaven S., Borja R. 2006. *Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests*. Process Biochemistry, 41: 1444–1450.
- Sharp Z. 2007. *Principles of stable isotope geochemistry*. Pearson/Prentice Hall.
- Szynkiewicz A., Modelska M., Kurasiewicz M., Jędrysek M.O., Mastalerz M. 2008. *Ageing of organic matter in the incubated freshwater sediments: Inferences from C and H isotopic ratios in methane*. Geological Quarterly, 52: 383–396.
- Takai Y. 1970. *The mechanism of methane fermentation in flooded paddy soil*. Sci. Plant Nutr., 6: 238–244.
- Trojanowska A., Kurasiewicz M., Pleśniak Ł., Jędrysek M. O. 2009. *Emission of methane from sediments of selected Polish dam reservoirs*. Teka Kom. Ochr. Kszt. Środ. Przyr., 6: 5–10.
- Weiland P. 2010. *Biogas production: current state and perspectives*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 85: 849–860.
- Whitaric M. J., Faber E., Schoell M. 1986. *Biogenic methane formation in marine and freshwater environments: CO_2 reduction vs. acetate fermentation – isotope evidence*. Geochim. Cosmochim. Acta, 50: 693–709.
- Witkiewicz Z., Hetper J. 2001. *Chromatografia gazowa*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa.
- Witkiewicz Z., 2005. *Podstawy chromatografii*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa.

ROZDZIAŁ 2

Ślazowiec *Sida hermaphrodita* (L.) Rusby jako substrat biogazowni rolniczej

The Virginia fanpetals *Sida hermaphrodita* (L.) Rusby used as feedstock for an agricultural biogas plant

**Jacek Kwiatkowski¹, Cezary Purwin², Stanisław Sienkiewicz³,
Józef Tworkowski¹, Pysera Barbara², Jadwiga Wierzbowska³,
Łukasz Graban¹, Waldemar Łajszner¹, Iwona Wyźlic²,
Sławomir Krzebietke³, Piotr Żarczyński³**

¹ Katedra Hodowli Roślin i Nasiennictwa

² Katedra Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa

³ Katedra Chemii Rolnej i Ochrony Środowiska
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Słowa kluczowe: ślazowiec pensylwański, plonowanie, kiszonka, pozostałość pofermentacyjna, nawożenie.

Key words: Virginia fanpetals, yield, silage, digestion residue, fertilization.

Streszczenie

W pracy przedstawiono charakterystykę ślazowca pensylwańskiego, gatunku dedykowanego biogazowni rolniczej. Oceniano plonowanie ślazowca z plantacji rozmnażanej generatywnie oraz jakość pozyskiwanej biomasy w zależności od ilości wysiewu, nawożenia NPK czy sposobu pozyskiwania biomasy. Sprawdzone możliwości konserwowania biomasy z zastosowaniem dodatków konserwujących o różnych mechanizmach działania (kwas mrówkowy, inokulant bakteryjny oraz preparat enzymatyczny). Dokonano oceny przydatności pozostałości pofermentacyjnych z produkcji biogazu jako substancji nawozowej dla plantacji energetycznych ślazowca.

Uzyskany plon wyniósł przeciętnie ok. 40 t · ha⁻¹ świeżej masy zielonki ślazowca. Nawożenie plantacji dawką N₈₀P_{21,6}K₅₈ kg · ha⁻¹ spowodowało 1,6-krotny wzrost plonu ślazowca, a przy dawce N₁₆₀P_{43,2}K₁₁₆ kg · ha⁻¹ 2-krotny wzrost plonu w porównaniu do nienawożonego obiektu kontrolnego.

Summary

The use of Virginia fanpetals (*Sida hermaphrodita* (L.) Rusby) as a substrate for biogas plants is discussed in the paper. A field experiment was carried out to determine the yield of Virginia fanpetals biomass in a plantation where the species is reproduced generatively, and to evaluate biomass quality as dependent on selected agronomic factors including seeding rate, NPK fertilization and production system. Biomass was preserved using different ensiling agents. The potential use of fermentation residues from the biogas production process for fertilizing Virginia fanpetals was also analyzed.

The average biomass yield of *Sida hermaphrodita*, was ca. 40 t · ha⁻¹, and it was largely determined by fertilization rates. Biomass harvested in the double crop system was difficult to ensile which was reflected in a low level of acidification, a low lactic acid content and high concentrations of acetic acid and butyric acid in the produced silage. An

Zebrana w systemie dwukośnym biomasa ślazuca okazała się surowcem trudnym do konserwowania. Stwierdzono niezadowalający stopień zakwaszenia, niski poziom kwasu mlekowego i duży udział kwasu octowego i masłowego w uzyskanej kiszonce. Zastosowanie w badaniach dodatku melasy lub współzakiszanie biomasy ślazuca z kukurydzą poprawiło parametry zakiszania. W doświadczeniu wazonowym wykazano, że pozostałości pofermentacyjne mogą być używane jako środek nawozowy. Ich zastosowanie zwiększyło wysokość i grubość pędów oraz plon świeżej i suchej masy roślin. Zwiększanie dawki pofermentu od 228 do 456 g na wazon dawało istotny wzrost zawartości N, K, Mg, Ca i Na w nawozonym nim ślazuca pensylwańskim.

effective and affordable solution to the above problem is to add molasses to the ensiled material or to ensile Virginia fanpetals biomass together with maize.

The results of a pot experiment showed that fermentation residues can be used as a fertilizer. They were found to increase the height and thickness of stems as well as the yield of green and dry matter. When applied at higher rates, fermentation residues contributed to a significant increase in N, K, Mg, Ca and Na levels in fertilized Virginia fanpetals plants.

1. Wstęp

Biogazownie rolnicze wykorzystują substraty pochodzenia rolniczego. Ich zadaniem jest racjonalne zagospodarowanie wszelkiej rolniczej biomasy odpadowej w celu obniżenia jej niekorzystnego oddziaływania na środowisko oraz konwersja tejże biomasy do „zielonej” energii i nawozu rolniczego (Ledakowicz i Krzystek 2005). Jednocześnie poprzez produkcję nadwyżek energii doskonale wpisują się w postulowany w kraju model rozproszonego układu jej produkcji (Gołaszewski 2011).

Podstawowymi substratami biogazowni rolniczych są odpady z pierwotnej produkcji rolniczej, przetwórstwa rolno-spożywczego oraz organiczne odpady pochodzenia rolniczego, zaś istotnym uzupełnieniem – biomasa surowców roślinnych z upraw dedykowanych (Gradziuk 2003), która pozwala na racjonalne zagospodarowanie pozostałości i odpadów rolniczych oraz przyczynia się do zapewnienia prawidłowego procesu fermentacji metanowej i znacznego zwiększenia uzysku metanu (Podkówka i Podkówka 2010).

Dedykowane uprawy energetyczne obejmują grupę roślin wprowadzaną celowo do struktury zasiewów, na ugory i grunty marginalne w celu wytworzenia plonu użytkowego zabezpieczającego określony poziom produkcji bioenergii lub biopaliw (Gołaszewski 2011). Głównym kryterium wyboru gatunku uprawy do produkcji biogazu jest wydajność energii netto na hektar, która wynika z produktywności biomasy, nakładów na nią poniesionych oraz stopnia konwersji biomasy do metanu (Lehtomäki, 2006). Skład gatunkowy dodatkowo determinują warunki klimatyczno-siedliskowe oraz możliwość konserwacji biomasy, pozwalająca zapewnić ciągłą dostawę substratu do biogazowni. Lehtomäki i in. (2008) oraz Seppälä i in. (2008) podają, że w warunkach północnej Europy

plon suchej masy roślin przydatnych do produkcji biogazu waha się od 2 do 16–18 t · ha⁻¹, a zawarta w biomasie energia brutto szacowana jest na 4–80 MWh · ha⁻¹. Potencjalny uzysk metanu autorzy wyliczają na 400–8000 m³ CH₄ · ha⁻¹. Najpowszechniej wykorzystuje się biomasę kukurydzy ze względu na wysoką produktywność tej rośliny, wynoszącą w warunkach Polski przeciętnie ok. 24 t · ha⁻¹ s.m., opanowaną technologię uprawy i konserwacji pozyskanej biomasy (Matyka i Książak 2012; Szempliński i Dubis 2011). Poza nią zastosowanie w tej roli znajdują trawy, w tym zboża oraz rośliny bobowate w uprawach czystych i mieszankach z trawami (Gołaszewski 2010; Lehtomäki i in. 2008; Seppälä i in. 2008).

Wykorzystywane w uprawach dedykowanych biogazowni gatunki, takie jak kukurydza czy zboża kłosowe, należą jednakże do tzw. żywnościowych surowców strategicznych, a ich przeznaczenie do celów energetycznych narusza bilans produkcji żywności (Gołaszewski 2011; Sałek i in. 2011). Zwróciła na to w ostatnim czasie Komisja Europejska, która zaproponowała zmiany w dyrektywie o energii odnawialnej (Płomecka 2012). Stąd większą rolę w uprawach dedykowanych powinny odgrywać nieżywnościowe rośliny alternatywne, o małych wymaganiach siedliskowych, które można uprawiać na gruntach nienadających się do produkcji żywności. Istotne, by była to zróżnicowana grupa gatunków dostosowana do zmiennych warunków glebowo-klimatycznych oraz możliwości technicznych rolników. Bioróżnorodność gatunków stanowi jednocześnie najlepszą metodę ograniczającą niebezpieczeństwo rozprzestrzeniania się chorób i szkodników (Majtkowski 2006).

Jedną z takich roślin jest ślázowiec pensylwański (*Sida hermaphrodita* (L.) Rusby) (rys. 1), wieloletnia roślina z rodziny ślázowatych (*Malvaceae*), w naturalnych warunkach występująca w Ameryce Północnej. Ślázowiec został sprowadzony do Polski przez Styka w latach 50. ubiegłego wieku z Ukrainy. Tam już od lat 30. próbowano wprowadzać go do uprawy, początkowo jako roślinę włóknistą, później paszową i miododajną (Kwiatkowski 2012). Powszechne zainteresowanie tym gatunkiem w Polsce nastąpiło wraz z propozycją wykorzystania biomasy ślázowca jako surowca energetycznego. Aktualnie tylko na Ukrainie dostępne są uprawne odmiany ślázowca: „Virdžiniâ” zarejestrowana w 2001 r. i „Fitoenergîâ” włączona do rejestru w 2009 r. (*Deržavnij reêstr sortiv rošlin* 2012). Obie zarejestrowano w grupie roślin paszowych, nazwa drugiej z odmian sugeruje energetyczne przeznaczenie.

Ślázowiec pensylwański uprawiany jest przede wszystkim w celu pozyskania suchych łodyg zbieranych zimą i przeznaczonych do spalania w postaci zrębków lub przetworzonych do postaci peletu. Zielona biomasa poddawana jest procesowi fermentacji metanowej i dzięki dużej produktywności tej rośliny – dochodzącej do 20 t · ha⁻¹ s.m. oraz zdolności do odrastania po skoszeniu w ciągu wegetacji może stanowić doskonałe uzupełnienie wsadu do biogazowni (Kwiatkowski i in. 2012).



Rys. 1. Doświadczenie polowe ze ślázowcem pensylwańskim (fot. Jacek Kwiatkowski)

Ślázowiec należy do grupy najbardziej obiecujących gatunków energetycznych, które mogą rosnąć na terenach niewykorzystywanych do produkcji żywności. Oprócz wysokiego plonowania, charakteryzuje się odpornością na wyleganie i wymarzanie, umiarkowaną podatnością na porażenie przez choroby i szkodniki oraz niewielkimi wymaganiami glebowymi i znaczną odpornością na suszę (Zavoronkova 2010).

Istotne znaczenie w rozwoju upraw energetycznych ślázowca ma jakość materiału siewnego. Na szeroką skalę opłacalne jest zakładanie plantacji jedynie z materiału generatywnego. Nasiennictwo tego gatunku jest słabo rozwinięte. Z plantacji nasiennej można uzyskać realnie ok. $1,85 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ nasion, jednakże ich wartość siewna jest niska, m.in. ze względu na spoczynek fizyczny spowodowany twardością okrywy nasiennej (Packa i in. 2014; Rahmetov 2011; Spooner i in. 1985).

Zapewnienie ciągłej podaży biomasy do biogazowni wiąże się z poszukiwaniem surowców roślinnych oraz metod ich przechowywania. Sprawdzone sposoby konserwowania i przechowywania surowców roślinnych jest kiszenie. Proces wymaga doskonalenia, a także adaptacji dla przechowywania biomasy w celach energetycznych. Z nielicznych danych wynika, że wydajność produkcji metanu z 1 kg kiszonki może być wyższa ($289 \text{ Nl} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ s.m.o.}$) aniżeli z surowca zielonego ($225 \text{ Nl} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ s.m.o.}$) (Amon i in. 2007). W wyniku kiszenia biomasy powstają straty zawartej w niej energii spowodowane oddychaniem komórkowym (<3%), fermentacją (<7%), wyciekami soków (<7%) oraz rozkładem tlenowym i zagrzewaniem (<20%) (Davies i in. 2005). Straty energii wynikające z rozkładu tlenowego substancji organicznej mogą dochodzić do

40%. Ograniczenie strat energii oraz poprawa jakości kiszzonej biomasy może być osiągana poprzez zastosowanie dodatków do zakiszania. Kryteria doboru preparatów do zakiszania surowców roślinnych na cele paszowe są dobrze poznane. Jednakże dotychczasowe opracowania dotyczące przechowywania biomasy na cele energetyczne dotyczą głównie kukurydzy (Amon i in. 2007). Niewiele jest informacji na temat wykorzystania biomasy ślázowca do produkcji biogazu, w szczególności w postaci konserwowanej, w tym również charakterystyki jego przechowywania.

W procesie produkcji biogazu pozostaje produkt uboczny w postaci pozostałości pofermentacyjnej, który ze względu na zawartość składników biogenych może być wykorzystany jako środek nawozowy (Węglarzy i in. 2011). Wytwarzany w wyniku procesu fermentacji metanowej nawóz redukuje zużycie energii oraz ogranicza emisję gazów cieplarnianych, co przyczynia się do ochrony klimatu (Janczur 2009). Skład chemiczny pofermentu zależy od substratów wprowadzanych do biogazowni. Uwodniona substancja pofermentacyjna jest w znacznym stopniu zmineralizowana w porównaniu do substratów wejściowych, co stwarza możliwość dość łatwego przyswajania pierwiastków przez rośliny (Węglarzy i Skrzyżala 2012). Pozostałości pofermentacyjne można stosować do użyźniania gleb, na których uprawia się rośliny energetyczne (Piechota 2011). Wykorzystanie pofermentu w wyżej wymienionym celu pozwala na częściowe zamknięcie obiegu pierwiastków oraz może zmniejszyć koszty produkcji biomasy. Według Bujaka (2004) dawki składników pokarmowych stosowane w nawożeniu ślázowca, w zależności od warunków glebowych, powinny wynosić: 100–200 kg · ha⁻¹ N, 50–150 kg · ha⁻¹ K₂O, 80–120 kg · ha⁻¹ P₂O₅. Nawożenie plantacji energetycznych nie tylko podnosi produktywność roślin, ale także wpływa na zawartość w nich pierwiastków (Kalem-basa i Wiśniewska 2006, 2008, 2010; Borkowska i Lipiński 2008).

Celem badań była ocena plonowania ślázowca pensylwańskiego z plantacji rozmnażanej generatywnie w zależności od gęstości siewu, nawożenia mineralnego NPK i sposobu zbioru oraz możliwości jej konserwowania z zastosowaniem różnych dodatków. Ponadto oceniono przydatność pozostałości pofermentacyjnych z produkcji biogazu jako substancji nawozowej, która może być wykorzystana do nawożenia ślázowca.

2. Metody

Potencjał plonowania oceniono w ścisłym eksperymencie polowym przeprowadzonym w latach 2010–2012 w Stacji Dydaktyczno-Badawczej w Bałdach (53°35'N 20°36'E) należącej do Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Doświadczenie zlokalizowano na glebie kompleksu 3, pszennej wadliwej, klas IVa–IVb.

W doświadczeniu polowym uwzględniono trzy czynniki:

- ilość wysiewu (a – $2,5 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, b – $5,0 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$),
- nawożenie NPK (a – $\text{N}_0\text{P}_0\text{K}_0 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, b – $\text{N}_{80}\text{P}_{21,6}\text{K}_{58} \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, c – $\text{N}_{160}\text{P}_{43,2}\text{K}_{116} \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$),
- użytkowanie plantacji (jedno- lub dwukośne).

Do siewu wykorzystano nasiona z kolekcji Katedry Hodowli Roślin i Nasiennictwa, uprzednio sakryfikowane w 95% kwasie siarkowym. Przed siewem oznaczono wartość siewną nasion (kiełkowanie, masę 1000 nasion). Nasiona wysiano w rozstawie 50 cm. W pierwszym roku wegetacji roślin w doświadczeniu uwzględniono jedynie pierwszy czynnik – ilość wysiewu. Na poletkach zastosowano startowe dawki nawozów w ilości $\text{N}_{40}\text{P}_{13,1}\text{K}_{33,2} \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$. Biomasa zebrano jednorazowo pod koniec wegetacji ślazuca. Po okresie wegetacji na poletkach szacowano zagęszczenie roślin na jednostkę powierzchni. W trakcie wegetacji przeprowadzono comiesięczne pomiary wysokości roślin. W odpowiednich terminach zebrano i zważono biomasa roślinną.

2.1. Konserwacja biomasy

Do oceny konserwacji wykorzystano biomasa ślazuca zebraną z pola doświadczalnego w latach 2011–2012, w systemie dwukośnym (odpowiednio I i II pokos). Każdy z pokosów ślazuca zebranego w 2011 r. zakonserwowano w postaci siewki (teoretyczna długość 15 mm), w mikrosilosach ze stali kwasoodpornej o pojemności 3 l. Konserwację przeprowadzono w czterech wariantach: bez dodatków oraz z dodatkami konserwantów o różnych mechanizmach działania (kwas mrówkowy – inhibitor fermentacji, inokulant bakteryjny zawierający $1 \times 10^9 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchnerii* – stymulator fermentacji oraz preparat enzymatyczny zawierający celulazy i hemicelulazy). Biomasa pozyskaną w 2012 r. zakonserwowano z dodatkiem melasy w dwóch dawkach: 20 i $40 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, dodatkowo materiał z drugiego pokosu zakiszano w mieszance z biomasa z kukurydzy zbieraną w fazie woskowej dojrzałości ziarna.

2.2. Wartość nawozowa pozostałości pofermentacyjnej

Aby ocenić przydatność nawozową pozostałości pofermentacyjnej z biogazowni, w hali wegetacyjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie przeprowadzono doświadczenie w czterech powtórzeniach w wazonach polietylenowych typu Kick-Brauckmann, które mieściły 10 kg podłoża – piasek gliniasty mocny. Poferment po fermentacji metanowej ślazuca pensylwańs-

kiego otrzymano z Katedry Biotechnologii UWM. Poferment był silnie uwodniony – zawartość suchej masy wynosiła 4,04%, a koncentracja składników mineralnych w świeżej masie: N, P, K, Mg, Ca i Na kształtowała się na poziomie odpowiednio: 0,696, 1,105, 2,193, 0,030, 0,470 i 0,092 g · kg⁻¹ (tab. 1).

Tabela 1

Skład chemiczny pozostałości po fermentacji ślazierca [g · kg⁻¹]

Sucha masa (%)	N	P	K	Mg	Ca	Na
4,04	0,696	1,105	2,193	0,030	0,470	0,092

Dawki pofermentu ustalono według zawartości potasu – z odpadem wprowadzano odpowiednio 0,5 lub 1,0 g K, czyli 228 lub 456 g pofermentu na wazon (tab. 2).

Tabela 2

Schemat nawożenia [g na wazon]

Nr	Obiekt	Poferment	K	N	P
1	kontrola	0	0	0	0
2	pozostałość po fermentacji (I)	228	0,5	0,16	0,25
3	pozostałość po fermentacji (II)	456	1,0	0,32	0,50
4	pozostałość po fermentacji (I) + N min	228	0,5	0,5	0,25
5	pozostałość po fermentacji (II) + N min	456	1,0	1,0	0,50
6	nawożenie mineralne (I)	0	0,5	0,5	0,25
7	nawożenie mineralne (II)	0	1,0	1,0	0,50

Poferment stosowano jako jedyne nawożenie lub ze względu na niewielką zawartość azotu w testowanym odpadzie dodatkowo uzupełniano ten składnik (do 0,5 i 1,0 g na wazon). Działanie nawozowe pofermentu porównywano z działaniem nawozów mineralnych. Podłoże, na którym uprawiano ślazier pensylwański, wymieszano z substancjami nawozowymi, a następnie wypełniano nim wazon i posadzono sadzonki ślazierca. Przez okres wegetacyjny utrzymywano uwilgotnienie podłoża na poziomie 70% połowej pojemności wodnej. Zbiór ślazierca dokonano po zakończeniu wegetacji.

2.3. Metody analityczne

W pobranych z doświadczenia polowego reprezentatywnych próbach przeprowadzono ocenę wilgotności zielonki metodą suszarkowo-wagową. W celu oszacowania plonu suchej masy organicznej dokonano oznaczenia całkowitej

zawartości popiołu przy pomocy analizatora termogravimetrycznego ELTRA TGA 701.

W świeżej oraz konserwowanej biomacie ślazuca oznaczono podstawowy skład chemiczny metodami standardowymi (*Official Methods of Analysis* 2005): sucha masa, popiół surowy, białko ogólne i białko właściwe, ekstrakt eterowy, włókno surowe oraz frakcje cukrów strukturalnych (NDF, ADF, ADL) i rozpuszczalnych (WSC) odpowiednio metodą Van Soesta i in. (1991) oraz Thomasa (1977). Oznaczono także ciepło spalania, wykorzystując kalorymetr IKA C 200 Basic. Dodatkowo w kiszonkach określono pH, stosując pehametr HI 8314, zawartość kwasów: octowego, masłowego, propionowego metodą chromatografii gazowej przy pomocy aparatu (typ 6890) z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID) oraz kwasu mlekowego HPLC.

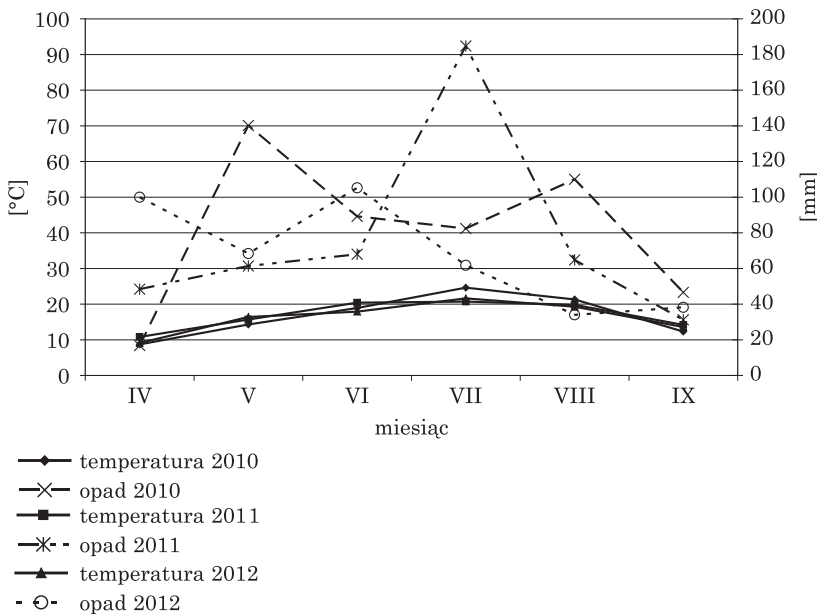
Przed założeniem doświadczenia wazonowego dokonano analizy chemicznej pozostałości pofermentacyjnej z produkcji biogazu. Zawartość składników mineralnych oznaczono po mineralizacji pofermentu: N – metodą destylacyjną, P – metodą kolorymetryczną (wanadowo-molibdenową), K, Ca i Na metodą emisyjnej spektrometrii atomowej (ESA) i Mg metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej (ASA), zawartość suchej masy metodą suszarkową w temp. 105°C. Określono plon świeżej masy roślin, dokonano pomiarów długości i średnicy pędów mierzonej u podstawy. Na podstawie oceny wilgotności zebranej biomasy wyliczono plon suchej masy. Rozdrobniony i wysuszony materiał zmielono i poddano analizom. Próby zmineralizowano w H₂SO₄ z utleniaczem H₂O₂. Po mineralizacji oznaczono: N, P, K, Ca, Na i Mg wyżej wymienionymi metodami i wyrażono w g na kilogram suchej masy (g · kg⁻¹ s.m.).

2.4. Metody obliczeniowe

Uzyskane wyniki z doświadczenia polowego opracowano statystycznie za pomocą analizy wariancji (ANOVA). W przypadku wykazania istotnego wpływu czynników lub ich interakcji zastosowano test istotności różnic między średnimi t-Studenta i obliczono na tej podstawie najmniejszą istotną różnicę (NIR/LSD – *least significant difference*) z $p < 0,05$. Obliczenia wykonano za pomocą pakietu Statistica 9 firmy StatSoft.

3. Wyniki

Warunki atmosferyczne były zróżnicowane w latach badań. Sezon wegetacyjny w roku 2010 był korzystny do kiełkowania nasion, wschodów i rozwoju roślin ślázowca przede wszystkim ze względu na bardzo dobre uwilgotnienie. Suma opadów w krytycznym dla wschodów i utrzymania się młodych siewek miesiącu maju przekroczyła 140 mm (rys. 2). Rok 2011 był ciepły, lecz o małej ilości dni z opadami. Średnia temperatura za okres wegetacyjny była najwyższa w trzyleciu, choć bez upałów w lipcu (20,7°C) oraz sierpniu (19,8°C). Jednocześnie w tym okresie dała się zauważyć zwiększona liczba dni z opadami bardzo intensywnymi. Suma opadów w lipcu wyniosła ponad 184 mm i była aż 2,2–3 razy wyższa w porównaniu do lat pozostałych. W ostatnim roku badań wystąpił deficyt wody w drugiej połowie okresu wegetacyjnego ślázowca. Od 10 lipca do 10 września spadło jedynie 40,2 mm deszczu, co stanowiło niecałe 30% opadów notowanych dla okolic prowadzenie eksperymentu w okresie długoterminowym (1960–2010) (rys. 2).



Rys. 2. Warunki pogodowe w okresie wegetacji ślázowca w 2010–2012 r. (wg Stacji Meteorologicznej w Baldach)

Uszlachetnienie nasion ślázowca poprzez odpowiednio dobrany system czyszczenia w laboratoryjnym separatorze zbożowym typ SZD (Sadkiewicz Instruments®) oraz skaryfikacji chemicznej z użyciem 95% kwasu siarkowego

pozwoili podnieść zdolność kiełkowania surowej partii nasion do 78%. Uwzględniając wartość siewną nasion ślázowca, wysiano przeciętnie odpowiednio 51 i 102 kiełkujące nasiona na 1 m². Na poletkach z mniejszą normą wysiewu liczba wzeszłych w polu roślin, które utrzymały się do końca wegetacji, stanowiła niecałe 20% wysianych nasion, natomiast przy większej masie wysiewu wzrosła do 25% (tab. 3). W kolejnych latach obserwowano samoregulację zagęszczenia roślin, szczególnie silną na poletkach z większą normą wysiewu. W trzecim roku badań przeciętna liczba roślin na obiektach ze zróżnicowaną ilością wysiewu była zbliżona i wyniosła 6 i 8 roślin na 1 m², odpowiednio dla mniejszej i większej ilości wysiewu.

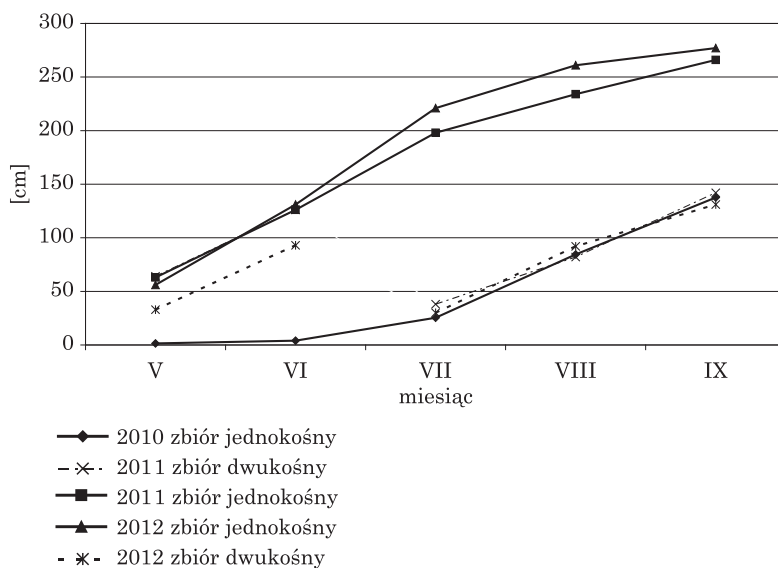
Tabela 3

Zagęszczenie roślin ślázowca na plantacji [szt · m⁻²]
Interakcja: rok × gęstość siewu

Rok (a)	Ilość wysiewu (b)		Średnia
	2,5 kg · ha ⁻¹	5 kg · ha ⁻¹	
2010	9	25	17
2011	8	13	10
2012	6	8	7
Średnia	8	15	12
NIR _{0,05}	a – 1,1; b – 0,9; a × b – 1,5		

Tempo wzrostu roślin ślázowca w początkowym okresie wschodów w pierwszym roku badań było bardzo wolne i do czerwca wynosiło przeciętnie 2,2 cm miesięcznie. Przyspieszenie dynamiki obserwowano dopiero w drugiej połowie okresu wegetacyjnego (rys. 3). Tempo wzrostu roślin było wówczas zbliżone do obserwowanego po pierwszym pokosie w kolejnych latach badań i wyniosło przeciętnie 56 cm miesięcznie. W następnych latach obserwowano dynamiczny i równomierny wzrost roślin od momentu rozpoczęcia wegetacji, a przeciętny przyrost wysokości wyniósł 54 cm miesięcznie. W trzecim roku badań, a drugim użytkowania plantacji ślázowca obserwowano słabszy odrost roślin w obiektach użytkowanych dwukośnie. Po pierwszym pokosie tempo wzrostu roślin było zbliżone do obserwowanego w 2011 r.

Przeciętny plon świeżej masy ślázowca w trzyletnim okresie badań, łącznie z rokiem założenia plantacji, przekraczał 30 t · ha⁻¹. Biorąc pod uwagę lata pełnego użytkowania, średni plon zielonej masy był o 10 t · ha⁻¹ większy (tab. 4), a na pojedynczych obiektach wahał się od 5 t · ha⁻¹ (rok założenia plantacji) do ponad 80 t · ha⁻¹ (pierwszy rok użytkowania). Plon suchej masy organicznej w latach pełnego użytkowania plantacji wyniósł przeciętnie 10,5 t · ha⁻¹ i był najbardziej zróżnicowany 2012 r.



Rys. 3. Dynamika wzrostu roślin ślaziowca

Tabela 4

Plon świeżej masy i suchej masy organicznej ślaziowca [$t \cdot ha^{-1}$]

Rok	Plon			
	świeża masa		sucha masa organiczna	
	średnia	min-max	średnia	min-max
2010	12,6	5,0–24,4	3,2	1,3–6,2
2011	49,9	18,9–80,5	11,9	5,7–18,8
2012	30,4	12,1–63,0	9,1	3,0–21,4
Średnia 2010–2012	30,9		8,1	
Średnia 2011–2012	40,1		10,5	

Nawożenie mineralne zastosowane w latach pełnego użytkowania plantacji w dawce $N_{80}P_{21,6}K_{58}$ skutkowało zwiększeniem plonu biomasy przeciętnie o 60%, a przy dawce $N_{160}P_{43,2}K_{116}$ o 100% w porównaniu do nienawożonego obiektu kontrolnego (tab. 5). Plon biomasy roślin ślaziowca z obiektów, na których zastosowano wysiew nasion w ilości $5 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, był istotnie większy, przeciętnie o 18%, od uzyskanego z mniejszej ilości wysiewu. Zanotowano wyższy o 15% plon biomasy ślaziowca z obiektów użytkowanych dwukośnie w porównaniu do użytkowania jednokośnego.

Tabela 5
Plon świeżej masy siałowca w zależności od badanych czynników (2011–2012) [t · ha⁻¹]

Zbiór biomasy (a)	Nawożenie [kg · ha ⁻¹] (b)									Średnia		
	N ₆ P ₀ K ₀			N ₈₀ P _{21,6} K ₅₈			N ₁₆₀ P _{43,2} K ₁₁₆					
	ilość wysiewu [kg · ha ⁻¹] (c)											
	2,5	5,0	średnia	2,5	5,0	średnia	2,5	5,0	średnia	2,5	5,0	średnia
Jednokościy	18,5	24,0	21,2	43,2	41,9	37,8	48,3	58,4	53,3	33,5	41,4	37,4
Dwukościy	29,6	32,9	31,3	33,7	48,8	46,0	47,5	55,1	51,3	40,1	45,6	42,9
Średnia	24,0	28,5	26,2	38,4	45,3	41,9	47,9	56,7	52,3	36,8	43,5	40,1
NIR _{0,05}	a – n.i. b – 6,68 c – 5,45											

Zielonki zbierane w 2011 r. charakteryzowały się mniejszą zawartością suchej masy w porównaniu do zbieranych w 2012 r. (tab. 6). Różnice te wynosiły w przypadku I i II pokosu odpowiednio 46 i 92 g · kg⁻¹. W obu analizowanych latach nagromadzenie suchej masy w biomase pochodzącej z II pokosu było większe w stosunku do pierwszego w 2011 r. o ok. 20%, a w 2012 r. o ok. 37%.

Tabela 6
Podstawowy skład chemiczny świeżej biomasy siałowca [g · kg⁻¹ s.m.]

Pokos	Sucha masa	Masa organiczna	Białko ogólne	Ekstrakt eterowy	Włókno surowe	Białko właściwe	MJ
I / 2011	154,2	890,0	129,4	8,3	326,6	97,7	17,4
II / 2011	182,6	901,1	131,8	8,0	369,3	96,5	17,2
I / 2012	200,4	922,4	129,7	11,2	278,5	96,4	16,7
II / 2012	274,4	916,1	94,1	18,7	370,4	81,7	17,6

W roku 2011 zawartość substancji organicznej była większa w biomase II pokosu w stosunku do I pokosu, natomiast w 2012 r. wystąpiła zależność odwrotna. Zawartość białka ogólnego w obu pokosach zbieranych w 2011 r. oraz w pierwszym pokosie 2012 była bardzo zbliżona: 129,4 i 131,8 g · kg⁻¹ s.m., jedynie drugi pokos 2012 charakteryzował się mniejszą zawartością – 94,1 g · kg⁻¹ s.m. tego składnika. W obu analizowanych latach zielonka z I pokosu charakteryzowała się znacznie niższym poziomem włókna surowego. Różnice w zawartości energii mierzonej ciepłem spalania między pokosami w 2011 r. wynosiły 0,2 MJ · kg⁻¹ s.m., natomiast w 2012 r. 0,9 MJ · kg⁻¹ s.m.

Biomasa zbierana w obu latach różniła się zawartością i składem frakcji węglowodanowych (tab. 7).

Tabela 7

Frakcje węglowodanów w świeżej biomase ślázowca [$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m.]

Pokos	NDF	ADF	ADL	Hemiceluloza	Celuloza	WSC
I / 2011	573,3	454,3	66,8	119,0	387,5	27,6
II / 2011	568,8	477,1	97,7	91,7	379,3	28,9
I / 2012	404,3	324,7	54,9	79,6	269,8	59,2
II / 2012	468,1	409,5	75,8	58,7	333,7	44,7

Zielonka z 2011 r. w porównaniu z surowcem zbieranym w 2012 r. zawierała w I i II pokosie odpowiednio więcej o 42 i 22% włókna neutralnodetergentowego (NDF), 40 i 16% włókna kwaśnodetergentowego (ADF) oraz 22 i 29% kwaśnej ligniny (ADL) oraz 114 i 54% mniej cukrów rozpuszczalnych w wodzie (WSC). W obu analizowanych latach zielonki z I pokosu charakteryzowały się odpowiednio o 32 i 36% niższym stopniem lignifikacji oraz mniejszą zawartością wszystkich węglowodanów strukturalnych.

4. Wpływ zakiszania na skład chemiczny biomasy

Proces zakiszania ślázowca bez dodatków spowodował zmiany składu chemicznego biomasy niezależnie od roku zbioru oraz pokosu (tab. 8 i 9). Stwierdzono zmniejszenie zawartości suchej masy i substancji organicznej oraz ciepła spalania (poza kiszonką z I pokosu 2012). We wszystkich rodzajach kiszonek stwierdzono wzrost zawartości NDF, ADF, ADL, wyjątek stanowiła kiszonka z I pokosu 2011 r., w której poziom NDF w porównaniu z zielonką był niższy. Wzrost frakcji NDF i ADF wiązał się przede wszystkim ze zwiększaniem udziału celulozy w porównaniu z surowcem. Inaczej niż celuloza kształtował się w czasie zakiszania biomasy ślázowca poziom hemicelulozy. W odniesieniu do świeżej biomasy zbieranej w 2011 r. zawartość hemicelulozy malała w czasie zakiszania o ok. 50% (I pokos) oraz nie ulegała zmianie podczas konserwowania II pokosu. Natomiast w 2012 r. zawartość tego składnika węglowodanowego wzrastała w czasie zakiszania biomasy, szczególnie pochodzącej z II pokosu (73,1 vs 58,7 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m.). Największe zmiany dotyczyły zawartości cukrów rozpuszczalnych w wodzie. Proces zakiszania spowodował 2- i 2,5-krotne zmniejszenie w kiszonkach z I i II pokosu 2011 oraz 4,4- i 2,7-krotne zmniejszenie poziomu tej frakcji w kiszonkach I i II pokosu w 2012 r. W warunkach konserwowania bez dodatków, niezależnie od roku i pokosu, biomasa ślázowca osiągnęła niewystarczające zakwaszenie: 5,36–5,80 pH (tab. 8–9). Łączna zawartość produktów fermentacji (kwas mlekowy, octowy, masłowy) w kiszonkach z biomasy 2011 była większa w porównaniu

z rokiem 2012. Dotyczy to przede wszystkim zwiększonej ilości kwasów karboksylowych w kiszonkach produkowanych w 2011. Wszystkie rodzaje kiszonek bez dodatków charakteryzowały się niskim udziałem kwasu mlekowego przy wysokim udziale lotnych kwasów (octowy, masłowy).

Biomasę ślázowca zbieraną w roku 2011 zakonserwowano z dodatkiem inhibitora fermentacji (kwas mrówkowy), inokulantu bakteryjnego oraz preparatu enzymatycznego (tab. 8).

Tabela 8
Skład chemiczny konserwowanej z różnymi dodatkami biomasy ślázowca z I i II pokosu w 2011 r.
[g · kg⁻¹ s.m.]

Wyszczególnienie	Bez dodatków		Kwas mrówkowy		Inokulant		Enzym	
	pokos		pokos		pokos		pokos	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Sucha masa	115,9	166,9	113,9	160,9	126,2	163,3	124,1	174,8
Masa organiczna	829,7	861	810,5	855,1	828,7	868	830,3	872,1
Ciepło spalania [MJ]	17,2	16,9	16,2	17	16,4	16,8	16,6	16,9
NDF	556,6	648,2	575,6	648,9	524,3	632,1	491,5	645,8
ADF	498,6	556,5	491	542,5	457,8	545,6	422,8	527,9
ADL	83,1	119,2	83,7	119,2	74,1	111,9	68,9	107,6
Hemiceluloza	58	91,7	84,6	106,4	66,5	104,2	68,7	117,9
Celuloza	415,5	437,3	407,3	423,3	383,7	433,7	353,9	420,3
WSC	13,3	11,7	14	10	11,7	9,4	13,5	16,5
pH	5,66	5,43	4,67	5,13	4,91	5,29	4,55	5,03
Kwas mlekowy	34,6	22,6	43,8	16,8	21,6	21,5	45,8	33,7
Kwas octowy	43,2	23,7	21,1	22,8	12,7	18,9	19,8	21,9
Kwas masłowy	23,8	32,9	18,9	5,6	23,1	12,9	2,7	11,8

W odniesieniu do podstawowego składu chemicznego I pokosu dodatek kwasu mrówkowego do zakiszanej biomasy ślázowca nie miał wpływu na zawartość suchej masy, natomiast w porównaniu do biomasy zakiszanej bez dodatku stwierdzono zmniejszenie zawartości substancji organicznej oraz ciepła spalania. Podobnego działania kwasu mrówkowego nie stwierdzono podczas zakiszania biomasy II pokosu ślázowca. Zastosowanie dodatku nie wpływało na skład frakcji węglowodanów strukturalnych. Kiszonki z dodatkiem kwasu mrówkowego charakteryzowały się niższym pH w stosunku do kiszonek bez dodatku (4,67 vs. 5,66 i 5,13 vs. 5,43 odpowiednio dla I i II pokosu). Ponadto kwas mrówkowy nie wpłynął na zawartość cukrów rozpuszczalnych w wodzie, jedynie w przypadku biomasy z II pokosu ograniczył fermentację masłową. Kiszonki z dodatkiem inokulantu bakteryjnego charakteryzowały się zbliżoną zawartością suchej masy i substancji organicznej do

kiszonek kontrolnych (tab. 8). W kiszonkach z I pokosu inokulacja bakteryjna wpłynęła na niższe pH oraz obniżyła zawartość kwasu mlekowego o 38%. W kiszonkach z II pokosu ślazowca, charakteryzujących się większą zawartością suchej masy, nie odnotowano takiego wpływu. Zastosowanie dodatku enzymatycznego zwiększyło zakwaszenie i poprawiło profil fermentacji (wzrost zawartości kwasu mlekowego oraz obniżenie kwasu octowego i masłowego) w zakiszanej biomasy z I i II pokosu. Wyższa zawartość kwasu mlekowego w kiszonce może świadczyć o większej podaży heksoz i pentoz pochodzących z hydrolizy enzymatycznej cukrów strukturalnych. Potwierdziła to mniejsza o 62,6 i 17,0 g · kg⁻¹ s.m. zawartość celulozy w kiszonkach z dodatkiem preparatu enzymatycznego w stosunku do kiszonki bez dodatków. Ze względu na brak efektów stosowania dodatków przy konserwowaniu biomasy ślazowca w 2011 r., w następnym roku biomasę zakiszano z dodatkiem 2% i 4% melasy jako źródła substratu (sacharozy) do fermentacji (tab. 9).

Tabela 9
Skład chemiczny konserwowanej z różnymi dodatkami biomasy ślazowca z I i II pokosu w 2012 r.
[g · kg⁻¹ s.m.]

Wyszczególnienie	Bez dodatków		2% melasy		4% melasy		Kukurydza 1:1
	pokos		pokos		pokos		pokos
	I	II	I	II	I	II	II
Sucha masa	144,2	247,2	173,5	255,1	163,8	265,1	290,5
Masa organiczna	897,3	893,2	918,2	924,8	914,5	923,6	943,6
Ciepło spalania [MJ]	17,1	16,9	17,3	17,6	17,5	17,4	17,2
NDF	499,5	519,8	375,1	498	416,9	435,8	585,8
ADF	415,2	446,7	335,5	443,4	383,8	389	382,1
ADL	70,6	84	46,8	76,7	57,6	67,4	47,1
Hemiceluloza	84,4	73,1	39,6	54,6	33	46,8	203,7
Celuloza	344,5	362,7	288,7	366,8	326,2	321,6	335,1
WSC	13,5	16,6	31,8	23,1	26	43	16,9
pH	5,36	5,8	4,78	5,59	4,13	4,84	4,47
Kwas mlekowy	17,8	27,6	28,9	29,1	75,3	35,7	25,4
Kwas octowy	13,8	11,2	15,1	65,9	3,2	29,5	9,7
Kwas masłowy	15,5	12,6	9,7	4,4	8,8	1,9	3,1

Dodatek melasy w odniesieniu do biomasy z I i II pokosu wpłynął na wzrost zawartości suchej masy (29,3 i 17,9 g · kg⁻¹), substancji organicznej (20,9 i 31,6 g · kg⁻¹ s.m.) i wartości energetycznej (0,4 i 0,7 MJ · kg⁻¹ s.m.) w stosunku do biomasy ślazowca zakiszanej bez dodatków. Stwierdzono pozytywny wpływ dodatku melasy na skład frakcji cukrowców strukturalnych. W uzyskanych kiszonkach odnotowano o 25, 19 i 34% niższy poziom NDF, ADF i ADL oraz o 53 i 16% niższy poziom hemicelulozy i celulozy w porównaniu z kiszon-

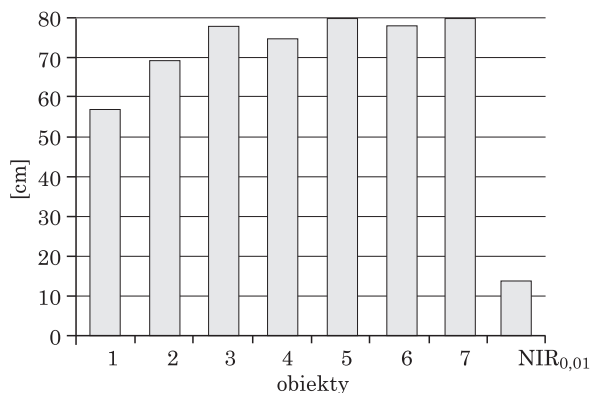
kami bez dodatków (tab. 9). Analizując zawartość produktów fermentacji w kiszonkach z 2 i 4% dodatkiem melasy (tab. 9), stwierdzono obniżenie pH w stosunku do biomasy zakiszanej bez dodatków odpowiednio z 5,36 do 4,78 i 4,13 w przypadku I pokosu oraz z 5,84 do 5,59 i 4,84 dla II pokosu. Zmiany odczynu wiązały się ze wzrostem koncentracji kwasu mlekowego (z 17,8 do 28,9 i 75,3 g · kg⁻¹ s.m.) i zmniejszeniem poziomu kwasu masłowego (z 15,5 do 9,7 i 8,8 g · kg⁻¹ s.m.) w stosunku do kiszonek bez dodatków. Korzystniejszy profil fermentacji stwierdzono w kiszonkach zawierających większy dodatek (4%) melasy.

Pokos II biomasy ślazu z 2012 r. zakiszano z zieloną z całych roślin kukurydzy (dojrzałość woskowa ziarna) w proporcji 1:1 (tab. 9). Uzyskana kiszka charakteryzowała się w porównaniu z pozostałymi wariantami największą zawartością suchej masy (290,5 g · kg⁻¹) i substancji organicznej (943,6 g · kg⁻¹ s.m.). Przy najwyższej zawartości NDF (585,5 g · kg⁻¹ s.m.) odnotowano najniższy stopień lignifikacji biomasy (47,1 g · kg⁻¹ s.m.) oraz najwyższą zawartość hemicelulozy (203,7 g · kg⁻¹ s.m.). Kiszka z mieszanej biomasy charakteryzowała się właściwym zakwaszeniem (pH 4,47) oraz najkorzystniejszymi proporcjami między kwasami karboksylowymi (25,4 : 9,7: 3,1). Zdecydowała o tym większa zawartość suchej masy oraz korzystniejszy skład węglowodanów.

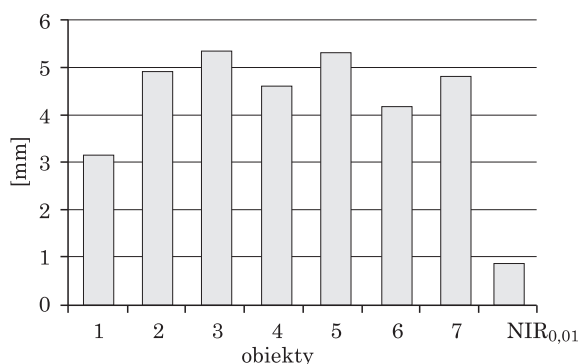
5. Ocena przydatności pofermentu z biogazowni rolniczej do nawożenia ślazu

Rośliny ślazu pozytywnie reagowały na nawożenie pofermentem. Wysokość roślin w doświadczeniu była istotnie zróżnicowana (rys. 4). Rośliny, które rosły na podłożu z pozostałością pofermentacyjną, wykształciły pędy istotnie dłuższe w porównaniu do roślin z obiektu kontrolnego, których wysokość nie przekraczała 57 cm. Mniejsza dawka pofermentu (228 g na wazon) spowodowała wydłużenie roślin o ponad 12 cm, a podwojona – o dalsze prawie 9 cm. Podobny dodatni wpływ na długość pędów roślin ślazu wywarł azot zastosowany łącznie z pofermentem. Nawożenie mineralne, które skomponowano w taki sposób, aby równoważyło ilości składników, jakie zastosowano w pofermentacji łącznie z azotem, dawało podobne efekty jak pozostałość pofermentacyjna z azotem. Najwyższe rośliny zebrane z obiektu nawożonego mineralnie zwiększonymi dawkami NPK – 81,7 cm.

Wpływ pozostałości pofermentacyjnej na grubość łodyg ślazu pensylwańskiego był podobnie korzystny jak w odniesieniu do ich długości (rys. 5). Najgrubsze łodygi wykształcił ślazowiec nawożony podwojoną dawką pofermentu – 5,3 mm. Były one ponad 1,7-krotnie grubsze od roślin z obiektu kontrolnego. Istotny jest fakt, że dodatkowo zastosowany azot nie spowodował grubienia łodyg.



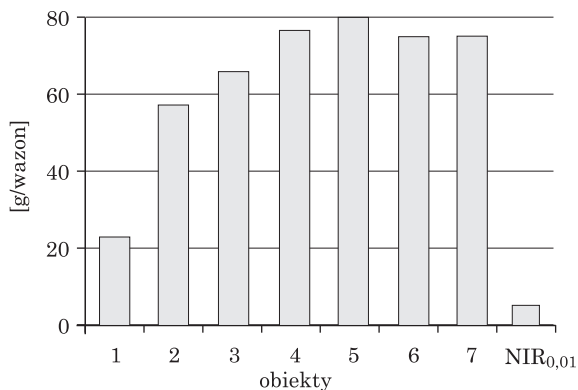
Rys. 4. Długość pędów ślazierca



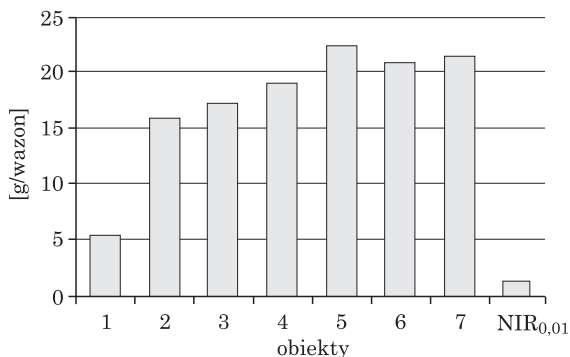
Rys. 5. Średnica pędów ślazierca

Dodatni wpływ zastosowanej do nawożenia roślin pozostałości pofermentacyjnej na długość i grubość łodyg ślazierca pensylwańskiego znalazł swoje odzwierciedlenie w ilości świeżej i suchej masy badanej w doświadczeniu rośliny uzyskanej z jednego wazonu (rys. 6 i 7). Mniejsza dawka testowanego odpadu (228 g na wazon) zwiększyła masę roślin z wazonu ponad 2,5-krotnie w stosunku do biomasy wyprodukowanej w warunkach kontrolnych (bez nawożenia). Podwojenie dawki pofermentu nie było już tak efektywne, ale istotnie zwiększyło ilość biomasy ślazierca: od 56,9 g na wazon do 66,5 g na wazon świeżej masy (rys. 6). Azot mineralny zastosowany łącznie z pofermentem, ze względu na niezbyt dużą zawartość tego składnika w testowanym odpadzie, działał silnie plonotwórczo. W stosunku do wyłącznego nawożenia pofermentem nawożenie mineralne azotem zwiększyło plon od 25 do 34%. Wzrost ilości wytworzonej przez ślazierca biomasy był istotnie uzależniony od dawki pofermentu. Stwierdzono istotnie większą ilość świeżej i suchej masy roślin ślazierca z wazonów nawożonych podwójną dawką pozostałości pofermentacyjnej zastosowanej łącznie z azotem w porównaniu do równoważnej

dawki składników zastosowanych w nawozach mineralnych (obiekty 5 i 7). Może to wynikać z faktu, że z pofermentem wnoszono do gleby (podłoża) nie tylko NPK, ale również pozostałe makroelementy i mikroelementy, których nie дано w nawozach mineralnych. Ponadto zawarta w pofermencie substancja organiczna stwarza lepsze warunki do rozwoju mikroorganizmów glebowych i roślin wyższych.



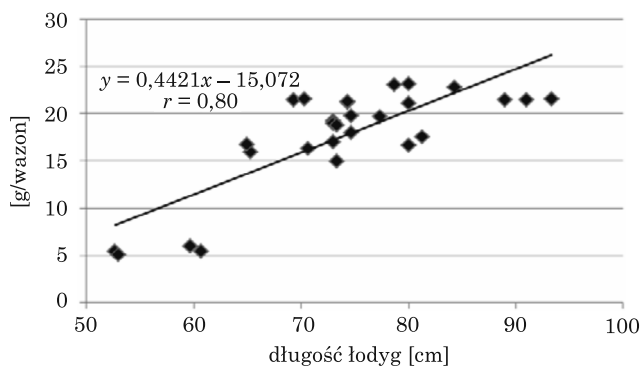
Rys. 6. Świeża masa śluzowca



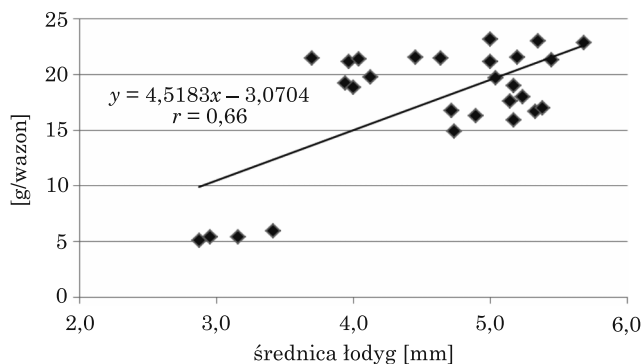
Rys. 7. Sucha masa śluzowca

Ilość suchej masy śluzowca pensylwańskiego zależała od długości łodyg i ich grubości (rys. 8 i 9). Wynikające z zastosowania pofermentu wydłużenie łodyg o 1 cm dawało zwiększenie masy śluzowca z jednego wazonu o 0,44 g (rys. 8).

Z kolei zwiększenie grubości mierzonej u podstawy łodygi śluzowca o 1 mm odpowiadało zwiększeniem masy roślin z wazonu o 4,52 g (rys. 9). Zależności takie otrzymano w odniesieniu do roślin uprawianych w wazonach, jednakże na podstawie takich pomiarów można szacować ilość plonu w warunkach polowych.



Rys. 8. Zależność plonu suchej masy ślázowca pensylwańskiego od długości łodyg



Rys. 9. Zależność plonu suchej masy ślázowca pensylwańskiego od grubości łodyg

Zawartość N, P, K, Ca, Mg i Na w ślázowcu pensylwańskim istotnie zależała od ilości zastosowanego pofermentu oraz nawożenia mineralnego. Koncentracja N w roślinach uprawianych bez nawożenia wynosiła $6,29 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m. Zastosowanie pozostałości pofermentacyjnej w pierwszej dawce zwiększało istotnie zawartość azotu w ślázowcu pensylwańskim do $8,22 \text{ g} \cdot \text{ka}^{-1}$ s.m., a przy dawce podwójnej do $10,47 \text{ g} \cdot \text{ka}^{-1}$ s.m. (tab. 10). Wraz ze wzrostem dawki pofermentu wprowadzano więcej azotu, a składnik ten jest dobrze pobierany przez rośliny. Dodatkowo zastosowany azot również zwiększał nagromadzenie N w tkankach testowanej rośliny. Zawartość fosforu w roślinach zmieniała się w o wiele mniejszym zakresie niż azotu – od $4,14$ do $4,51 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m. (tab. 10). Zawartość potasu, podobnie jak azotu, wzrastała liniowo wraz ze zwiększaniem dawki pozostałości pofermentacyjnej, z którą wnoszono ten składnik (tab. 11). Zakres zawartości K w ślázowcu kształtował się w granicach $14,72$ – $23,70 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m. Dodatkowe nawożenie azotem nie skutkowało dalszym zwiększaniem ilości zakumulowanego w roślinach potasu.

Tabela 10

Zawartość azotu, fosforu, potasu, wapnia, magnezu i sodu w ślázowcu [$\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m.]

Nr	Obiekt	N	P	K	Ca	Mg	Na
1	kontrola	6,29	4,37	14,72	16,76	1,26	1,09
2	pozostałość po fermentacji (I)	8,22	4,14	17,08	20,92	1,39	1,22
3	pozostałość po fermentacji (II)	10,47	4,21	23,43	22,24	1,52	1,24
4	pozostałość po fermentacji (I)+N min	9,85	4,24	15,65	21,71	1,23	1,19
5	pozostałość po fermentacji (II)+N min	11,22	4,48	23,47	27,75	1,92	1,22
6	nawożenie mineralne (I)	8,57	4,30	15,98	15,90	1,13	1,11
7	nawożenie mineralne (II)	12,18	4,51	23,70	18,00	1,65	1,15
	$\text{NIR}_{0,05}$	0,41	0,28	0,57	1,66	0,047	0,068

Koncentracja wapnia w suchej masie testowanej rośliny także zmieniała się w szerokim zakresie – od 15,90 do 27,75 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m. i zależała od dawki pofermentu (tab. 10). Warto zaznaczyć, że dodatkowo podany azot wpływał dodatnio na nagromadzenie Ca w roślinach. Azot nie jest pierwiastkiem konkurencyjnym w stosunku do wapnia, szczególnie forma NO_3^- , która może stymulować pobieranie kationów Ca^{2+} . Najmniej Mg i Na stwierdzono w roślinach zebranych z wazonów z podłożem kontrolnym (bez nawożenia) – odpowiednio 1,26 i 1,09 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m. Wraz z pozostałością pofermentacyjną wnoszono także magnez i sód, których koncentracja w testowanej roślinie zmieniała się istotnie, ale w mniejszym zakresie w porównaniu do pozostałych makroelementów (tab. 10).

6. Dyskusja

Uprawa ślázowca pensylwańskiego w celach energetycznych na dużych arealach jest uzasadniona ekonomicznie, gdy do założenia plantacji użyty będzie materiał generatywny. Jakość siewna świeżo pozyskanych nasion jest mała ze względu na niską zdolność kiełkowania. To problem znany od lat i charakterystyczny dla gatunków z rodziny *Malvaceae* (Dmitraško 1972; Baskin i Baskin 1984). Przyczynia się do tego nieprzepuszczalność okryw nasiennych dla wody, nazywana twardością i klasyfikowana jako spoczynek fizyczny nasion (Baskin i Baskin 2004). Osiągnięta w badaniach własnych zdolność kiełkowania świeżych nasion ślázowca po skaryfikacji chemicznej można uznać za satysfakcjonującą. Była ona nieco wyższa od uzyskanej przez Dolińskiego (2009), który dodatkowo wykazał wzrost zdolności kiełkowania uszlachetnionych nasion ślázowca po rocznym przechowywaniu.

Oceniana w doświadczeniu intensywność wzrostu roślin ślázowca była największa w pierwszej połowie sezonu wegetacyjnego, szczególnie w okresie pąkowania i kwitnienia (czerwiec–lipiec), gdy przeciętne dzienne przyrosty sięgały od 2,4 do 3 cm, poza rokiem założenia plantacji, kiedy najwyższe tempo przyrostu roślin przypadło w drugiej połowie wegetacji. Potwierdzają to obserwacje Ust'ak'a (2008), wskazujące, że wzrost staje się szczególnie dynamiczny od momentu rozpoczęcia przez rośliny rozwoju generatywnego. Użytkowanie plantacji ślázowca rozpoczyna się od drugiego roku wegetacji. Borkowska i Styk (2006) podają, że przy wykorzystaniu zielonkowym biomasy już od drugiego roku można uzyskać plon w wysokości od 8–14 t · ha⁻¹ s.m. przy zbiorze jednokrotnym do 15–20 t · ha⁻¹ s.m. przy zbiorze w dwóch pokosach. Uzyskiwany w doświadczeniu plon był istotnie zróżnicowany w latach, a mało między sposobem pozyskiwania biomasy (jedno- lub dwukośnym) i przeciętnie odpowiadał niższym granicom podanym przez cytowanych autorów. Osiągane w eksperymencie plony z pojedynczych obiektów użytkowanych dwukośnie i nawożonych pełną dawką NPK sugerują, że możliwe jest osiągnięcie w warunkach siedliskowych pola doświadczalnego w Białdach górnego pułapu przytaczanych wartości. O wysokim potencjale plonowania ślázowca świadczą wyniki uzyskiwane w korzystnych warunkach Ukrainy. Rachmietov i in. (2008) oceniają go na 80–120 t · ha⁻¹ ś.m., a Zavoronkova (2010) uzyskała od ponad 39 t · ha⁻¹ ś.m. pozyskanej w fazie pąkowania do prawie 110 t · ha⁻¹ ś.m. osiągniętych przy zbiorze roślin w fazie owocowania. Doświadczenia Borkowskiej i Styka (2006) zebrane w okresie wieloletnich badań nad ślázowcem wskazują jednak, że intensywne użytkowanie kośne zmniejsza produktywność plantacji w kolejnych latach i skraca jej żywotność. Trwałość takich plantacji szacowana jest na 4–5 lat.

Największe różnice w składzie chemicznym zielonek ze ślázowca dotyczyły frakcji węglowodanowych, w tym szczególnie frakcji węglowodanów rozpuszczalnych (WSC). Generalnie zawartość WSC w świeżej biomacie ślázowca należy uznać za bardzo niską pod względem przydatności do zakiszania. Mimo że zielonka ślázowca w 2012 r. w porównaniu z 2011 charakteryzowała się o 1,5–2-krotnie wyższą zawartością WSC, był to poziom zbliżony do wartości oznaczanych w zielonkach z lucerny, a więc surowca uznawanego za niezakiszający w warunkach naturalnej wilgotności.

Stwierdzone w prezentowanych badaniach zmniejszenie zawartości suchej masy i substancji organicznej w kiszonkach jest zjawiskiem typowym i wiąże się z ubytkiem węglowodanów oraz wytwarzaniem z nich wody w procesach oddychania mikroflory (McDonald i in. 1991). Silny wpływ na ubytek wymienionych składników może mieć także dostęp tlenu w czasie zakiszania i przechowywania biomasy. Zmniejszeniu zawartości substancji organicznej w czasie zakiszania towarzyszył spadek udziału cukrów rozpuszczalnych (WSC) oraz

wzrost zawartości składników, które nie stanowią substratu energetycznego dla bakterii. Składniki frakcji WSC to bezpośredni substrat do wszystkich zachodzących fermentacji, w tym fermentacji mlekowej (O'Kiely i in. 2005). Ubytek cukrów rozpuszczalnych wiąże się z intensywnością fermentacji w czasie zakiszania biomasy. Kiszonki z biomasy ślazu charakteryzowały się stosunkowo małym zakwaszeniem, które wynikało z niskiej zawartości kwasu mlekowego i wysokiej kwasu octowego i masłowego. Niedostateczna zawartość cukrów rozpuszczalnych uznawana jest za bezpośrednią przyczynę wtórnej fermentacji powodowanej przez *Clostridia*, której wskaźnikiem jest obecność kwasu masłowego (Muck i in. 2005). W analizowanych kiszonkach ze ślazu stwierdzono zawartość kwasu masłowego ($2,7\text{--}32,9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ s.m.}$) i octowego ($3,2\text{--}65,9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ s.m.}$), czyli kwasów o niskim potencjale zakwaszającym, oraz stosunkowo niski poziom kwasu mlekowego ($16,8\text{--}75,3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ s.m.}$), uznawanego za główny czynnik zakwaszający zakiszaną biomasę.

Każdy z zastosowanych dodatków do zakiszania reprezentował inny mechanizm działania. Kwas mrówkowy wprowadzono jako czynnik hamujący rozwój mikroflory niepożądaną i ograniczający fermentację poprzez szybkie zakwaszenie środowiska. Zawartość cukrów rozpuszczalnych w wodzie oraz kwasu mlekowego i octowego nie potwierdziła w odniesieniu do ślazu skuteczności kwasu mrówkowego jako czynnika ograniczającego negatywne procesy mikrobiologiczne (Davies i in. 2005). Inokulant bakteryjny jako stymulator fermentacji działający poprzez bardziej efektywne wykorzystanie cukrów rozpuszczalnych okazał się nieskuteczny z powodu zbyt niskiej zawartości cukrów rozpuszczalnych w biomase ślazu. Zastosowanie dodatku enzymatycznego poprzez zwiększenie podaży substratów do fermentacji w wyniku hydrolizy cukrowców strukturalnych, głównie celulozy, dało pozytywny efekt, czyli poprawiło profil fermentacji i zakwaszenie, co stwierdzili również Muck i in. (2005). Zaobserwowane pozytywne skutki wprowadzenia dodatkowego substratu (sacharozy) w formie dodatku melasy potwierdzają tezę, że głównym czynnikiem limitującym prawidłowy proces konserwacji biomasy ślazu jest niedobór cukrów rozpuszczalnych. Na podstawie zawartości wapnia i magnezu oraz poziomu białka ogólnego w biomase ślazu można sądzić, że roślina ta charakteryzuje się dużą pojemnością buforową, co zwiększa jej minimum cukrowe (Tarkowski 2006). Tezę tę potwierdzają dobre efekty zakiszania biomasy ślazu razem z kukurydzą. Kacprzak i in. (2010), którzy zajmowali się rozkładem beztlenowym kiszonki ze ślazu, wyliczyli, że wydajność produkcji biogazu z 1 kilograma suchej masy organicznej tego substratu wynosi 700 Nm^3 o 73% zawartości w nim metanu. Sałek i in. (2011) podają, że przeciętna wydajność biogazu z kiszonki ślazu w trzyletnim okresie doświadczeń wyniosła $1201 \text{ Nm}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$ przy zawartości metanu na poziomie niecałych 53%. Wojnowska-Baryła i Bernat (2012) oceniają potencjał uzysku

biogazu z zielonki ślázowca na $356,3 \text{ dm}^3 \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m.o., co biorąc pod uwagę uzyskane w doświadczeniu własnym wyniki, wskazywałoby na przeciętnie 3-krotnie, a w przypadku plonów maksymalnych ponad 6-krotnie wyższą wydajność biogazu z 1 ha powierzchni plantacji ślázowca w porównaniu do uzyskanej przez zespół Sałka (2011).

Otrzymane w badaniach własnych wyniki wskazują, że pozostałość pofermentacyjna – odpad po produkcji biogazu – może być stosowana do nawożenia ślázowca pensylwańskiego. Niekorzystną cechą substancji pofermentacyjnej jest wysokie uwodnienie. Węglarzy i Skrzyżala (2012) podają, że w zależności od zadawanego do biogazowni substratu zawartość wody w pofermencie waha się od 90 do 97%. Testowany poferment charakteryzował się niekorzystnym stosunkiem N:K. Borkowska i Styk (2003) zwracają uwagę na duże znaczenie azotu w kształtowaniu wysokości roślin i plonu ślázowca pensylwańskiego. Na podstawie innych badań Borkowska i in. (2009) twierdzą, że azot nie wpływa na zagęszczenie łądyg, ale wydatnie zwiększa ich wysokość, z kolej lepiej wykształcone i dłuższe łądygi otrzymano po nawożeniu większymi dawkami fosforu.

Nawożenie oddziałuje nie tylko na ilość otrzymywanej biomasy, ale także modyfikuje zawartość pierwiastków. Borkowska i Lipiński (2008) oraz Kalebasa i Wiśniewska (2008, 2010) otrzymali zróżnicowane zawartości makroelementów w roślinach ślázowca pensylwańskiego: azotu od $3,20$ do $8,98 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m., fosforu od $0,50$ do $0,69 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m., potasu od $4,24$ do $15,35 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m. i magnezu od $0,56$ do $1,18 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m. Podobnie wyniki badań własnych wskazują, że w zależności od zasobności podłoża nagromadzenie N, P, K, Ca, Mg i Na w ślázowcu pensylwańskim może zmieniać się w dość szerokim zakresie. Koncentracja poszczególnych pierwiastków zależy również od stadium rozwojowego rośliny. Stąd mogą wynikać różne zawartości składników mineralnych w biomacie ślázowca podawane przez różnych autorów.

7. Wnioski

1. Średni plon świeżej masy zielonki ślázowca w latach pełnego użytkowania plantacji wyniósł $40,1 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$. Plony notowane w pojedynczych obiektach wskazują jednakże na duży potencjał tej rośliny, możliwy do wykorzystania.

2. Spośród ocenianych czynników agrotechnicznych największy wpływ na plonowania biomasy ślázowca wywarło nawożenie mineralne.

3. Pozyskana biomasa ślázowca okazała się surowcem trudnym do konserwowania. We wszystkich rodzajach konserwowanej biomasy stwierdzono niezadowalający stopień zakwaszenia, niski poziom kwasu mlekowego, duży

udział kwasu octowego i masłowego, co wskazuje na ograniczony przebieg fermentacji.

4. W kiszoncek ze ślazuca stwierdzono obniżenie zawartości suchej masy i substancji organicznej w stosunku do wszystkich rodzajów zakiszanej biomasy świeżej.

5. Skuteczną i taną metodą poprawy konserwowania biomasy ślazuca może być dodanie do niej melasy lub współzakiszanie z kukurydzą.

6. Pozostałość po fermentacji metanowej ślazuca, po zbilansowaniu składników, może być wykorzystana do nawożenia tej rośliny. W badaniach potwierdzono korzystne działanie pofermentu na wysokość i grubość pędów oraz plon świeżej i suchej masy ślazuca pensylwańskiego.

Literatura

- Amon T., Amon B., Kryvoruchko V., Zollitsch W., Mayer K., Gruber L. 2007. *Biogas production from maize and dairy cattle manure – Influence of biomass composition on the methane yield.* Agriculture, Ecosystems and Environment, 118: 173–182.
- Baskin J.M., Baskin C.C. 1984. *Environmental conditions required for germination of prickly sida (Sida spinosa).* Weed Sci., 32: 786–791.
- Baskin J.M., Baskin C.C. 2004. *A classification system for seed dormancy.* Seed Science Research, 14: 1–16.
- Borkowska H., Lipiński W. 2008. *Porównanie zawartości wybranych pierwiastków w biomacie ślazuca pensylwańskiego uprawianego w różnych warunkach glebowych.* Acta Agrophysica, 11(3): 589–595.
- Borkowska H., Molas R., Kupczyk A. 2009. *Virginia fanpetals (Sida hermaphrodita Rusby) cultivated on light soil; height and yield and biomass productivity.* Pol. J. Environ. Stud., 18(4): 563–568.
- Borkowska H., Styk B. 2003. *Ślazuca pensylwański – cenny gatunek energetyczny.* Czysta Energia, 9: 12–13.
- Borkowska H., Styk B. 2006. *Ślazuca pensylwański (Sida hermaphrodita Rusby). Uprawa i wykorzystanie.* AR, Lublin.
- Bujak T. 2004. *Ślazuca pensylwański na nieużytki.* Aeroenergetyka, 3(9): 16–17.
- Davies D.R., Theodorou M.K., Kingston-Smith A.H., Merry R.J. 2005. *Advances in silage quality in the 21st century.* Proc. XIV Inter. Silage Conf., Belfast, Northern Ireland: 121–131.
- Deržavnij reestr sortov roślin pridatnih dla poširennâ v Ukraïni u 2012 roci.* 2012. Minagropolitiki Ukraïni. Derž. Služba z ohoroni prav na sorti roślin.; redkol.: C.I. Mel'nik (golov. red.) ta in. TOV „Alefa”. Kiiiev: 164.
- Dmitraško P.I. 1972. *Deâki pitannâ âkocti našinnâ sidi (Sida hermaphrodita Rusby).* Ukraïns'kij Botaničnij Žurnal, 29: 235–236.
- Doliński R. 2009. *Wpływ działania gorącej wody, chemicznej skaryfikacji i czasu przechowywania na kiełkowanie nasion ślazuca pensylwańskiego (Sida hermaphrodita (L.) Rusby).* Biul. IHAR, 251: 293–303.
- Gołaszewski J. 2010. *Biogazownia rolnicza.* W: Cenian A., Noch T. (red.), *Ekonoenergetyka – zagadnienia technologii, ochrony środowiska i ekonomiki.* GWSA, Gdańsk.
- Gołaszewski J. 2011. *Wykorzystanie substratów pochodzenia rolniczego w biogazowniach w Polsce.* Post. Nauk Roln., 2: 69–94.
- Gradziuk P. 2003. *Biogaz.* W: *Biopaliwa.* Gradziuk P. (red.). Wyd. Wieś Jutra: 138–145.
- Janczur K. 2009. *Biogazownia rolnicza – inwestycja chroniąca klimat.* Czysta Energia 1(87): 25–27.
- Kacprzak A., Krzystek L., Ledakowicz S. 2010. *Badania biochemicznego potencjału metanogenego wybranych roślin energetycznych.* Inż. Ap. Chem., 49(4): 32–33.

- Kalembasa S., Wiśniewska B. 2006. Wpływ dawek azotu na plon biomasy ślázowca pensylwańskiego (*Sida hermaphrodita*) oraz zawartość w niej makroelementów. *Acta Agrophysica*, 8(1): 127–138.
- Kalembasa S., Wiśniewska B. 2008. Wpływ dawek azotu na zawartość Ca, Mg, S i Na w biomacie ślázowca pensylwańskiego (*Sida hermaphrodita* Rusby). *Acta Agrophysica*, 11(3): 667–675.
- Kalembasa S., Wiśniewska B. 2010. Wpływ dawek azotu na zawartość i pobranie wybranych metali ciężkich przez ślázowca pensylwańskiego. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych*, 42: 205–210.
- Kwiatkowski J. 2012. *Ślázowiec pensylwański*. W: *Wieloletnie rośliny energetyczne*. MULTICO Oficyna Wydawnicza, Warszawa: 106–122.
- Kwiatkowski J., Graban Ł., Lajszner W., Tworowski J. 2012. *Production of Sida hermaphrodita Rusby – based biomass as co-substrate for agricultural biogas plant*. In: *Eco-energetics – biogas. Research, technologies, law and economics in Baltic Sea Region*. Cenian J., Gołaszewski J., Noch T. (eds.). GSW Gdańsk: 137–146.
- Lehtomäki A. 2006. *Biogas production from energy crops and crop residues*. Jyväskylä Studies in Biological and Environmental Science, 163: 91.
- Lehtomäki A., Viinikainen T.A., Rintala J.A. 2008. *Screening boreal energy crops and crop residues for methane biofuel production*. *Biomass and Bioenergy*, 32: 541–550.
- Ledakowicz S., Krzystek L. 2005. *Wykorzystanie fermentacji metanowej w utylizacji odpadów przemysłu rolno-spożywczego*. *Biotechnologia*, 3(70): 165–183.
- Majtkowski W. 2006. *Bioróżnorodność upraw energetycznych podstawą zrównoważonego rozwoju*. *Prob. Inż. Roln.*, 2: 25–36.
- Matyka M., Księżak J. 2012. *Plonowanie wybranych gatunków roślin wykorzystywanych do produkcji biogazu*. *Prob. Inż. Roln.*, 1(75): 69–75.
- McDonald P., Henderson A.R., Heron S.J.E. 1991. *The biochemistry of silage*. 2nd edition. Chalcombe Publications, Aberystwyth, UK: 81–151.
- Muck R.E., Filya I., Contreras-Govea F.A. 2005. *Inoculant effect on ensiling and in vitro gas production in Lucerne silage*. *Proc. XIV Inter. Silage Conf.*, Belfast, Northern Ireland: 204.
- Official Methods of Analysis*, 18 th ed. 2005. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- O’Kiely P., Howard H., Pahlow, R. Merry, T. Pauly and O’Mara. 2005. *Perennial ryegrasses bred for contrasting sugar contents: manipulating fermentation and aerobic stability using wilting and additives*. *Proc. XIV Inter. Silage Conf.*, Belfast, Northern Ireland: 227.
- Packa D., Kwiatkowski J., Graban Ł., Lajszner W. 2014. *Germination and dormancy of Sida hermaphrodita seeds*. *Seed Science and Technology*, 42(1): 1–15.
- Piechota T. 2011. *Rolnicze wykorzystanie pulpy pofermentacyjnej*. III Krajowe Targi Energii Odnawialnej w Rolnictwie „agroENERGIA”, Streszczenia wykładów. Poznań: 42–43.
- Plómecka B. 2012. *Propozycja KE ws. biopaliw skrytykowana przez przemysł i Zielonych*. Online: <<http://biznes.pl/magazyny/energetyka/paliwa/nowe-przepisy-dotyczace-bio-paliw,5279622,audio-magazyn-detal.html>> (dostęp: 17.10.2012).
- Podkówa Z., Podkówa W. 2010. *Substraty dla biogazowni rolniczych*. Agroserwis, Warszawa.
- Rahmetov D. 2011. *Mal’va energetičeskaâ, ili Sida oboepolaâ* (*Sida hermaphrodita* Rusby). *Zerno*, 6: 36–39.
- Rahmetov D.B., Rahmetova S.O., Stadničuk N.O. 2008. *Resursi novih vicokobilkovih kormovih kul’tur Ukraïny*. *Kormi i kormovirobnictvo*, 62: 103–112.
- Salek T., Budzyński W., Truszkowski W. 2011. *Yield of biomass and biogas profitability of raw material from special purpose energetic crops cultivation*. In: Cenian A., Gołaszewski J., Noch T. (eds.) *Eco-energetics – biogas and syngas. Technologies, legal framework, policy and economics in Baltic Sea Region*. GWSA, Gdańsk.
- Seppälä M., Paavola T., Lehtomäki A., Pakarinen O., Rintala J. 2008. *Biogas from energy crops – optimal pre-treatments and storage, co-digestion and energy balance in boreal condition*. *Water Science and Technology*, 58(9): 1857–1863.
- Spooner D.M., Cusick A.W., Hall G.F., Baskin J.M. 1985. *Observations on the distribution and ecology of Sida hermaphrodita (L.) Rusby (Malvaceae)*. *Sida*, 11(2): 215–225.
- Szempliński W., Dubis B. 2011. *Wstępne badania nad plonowaniem i wydajnością energetyczną wybranych roślin uprawianych na cele biogazowe*. *Fragm. Agron.*, 28(1): 77–86.

- Tarkowski A. 2006. Wpływ terminu zbioru na zawartość wybranych składników mineralnych w zielon-
ce sidy (*Sida hermaphrodita* Rusby). *Acta Agrophysica*, 8(2): 509–514.
- Thomas A.T. 1977. *An automated procedure for the determination of soluble carbohydrates in herbage*.
J. Sci. Food Agri., 28: 639–642.
- Ust'ak S. 2008. *Pěstování a využití vlákně oboupohlavné v podmínkách České republiky. Metodika pro
praxi*. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha: 20
- Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A. 1991. *Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and
nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition*. *J. Dairy Sci.*, 74: 3583–3591.
- Węglarzy K., Skrzyżala I. 2012. *Ekologiczne i ekonomiczne aspekty produkcji energii elektrycznej
z biomasy na przykładzie agrobiogazowni w Zakładzie Doświadczalnym Instytutu Zootechniki PIB
Grodziec Śląski*. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 57(4):
177–182.
- Węglarzy K., Skrzyżala I., Pellar A. 2011. *Agrobiogazownia w Kostkowicach. Pierwsze doświadczenia*.
Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering, 56(4): 189–192.
- Wojnowska-Baryła I., Bernat K. 2012. *Produkcja biogazu w procesach fermentacji i ko-fermentacji*.
Bałtyckie Forum Biogazu, Gdańsk, 17–8.09.2012. Online: <www.imp.gda.pl/BF2012/prezentacje/p111.pdf> (dostęp: 14.11.2012).
- Žavoronkova T.Û. 2010. *Ocinka perspektivnosti deãkih bagatorënih trav dlã virobnictva biopaliva*.
Promyšlennaã botanika, 10: 197–201.

ROZDZIAŁ 3

Wpływ biologicznej obróbki wstępnej surowców lignocelulozowych na wydajność produkcji biogazu

Effect of biological pre-treatment of lignocellulose raw material on the biogas production efficiency

Roman Marecik¹, Paweł Cyplik¹, Lidia Błaszczuk², Andrzej Lewicki³, Jacek Dach³

¹ Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

² Pracownia Metabolomiki
Instytut Genetyki Roślin PAN w Poznaniu

³ Instytut Inżynierii Biosystemów
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Słowa kluczowe: *Trichoderma*, aktywność celulozowa i hemicelulozowa, fermentacja metanowa, biogaz.

Key words: *Trichoderma*, cellulase and hemicellulase activity, methane fermentation, biogas.

Streszczenie

Wydajna biokonwersja surowców lignocelulozowych do biopaliw płynnych czy biogazu wymaga najczęściej wcześniejszego ich przygotowania. Działania te mają przede wszystkim na celu uwolnienie jak największej ilości związków łatwo przyswajalnych przez mikroorganizmy fermentacji etanolowej lub metanowej. Jedną z metod wstępnego przygotowania surowca jest biologiczna hydroliza. W pracy określono zdolność grzybów z rodzaju *Trichoderma* do syntezy enzymów celulozowych i hemicelulozowych. Na podstawie uzyskanych wyników badań wyselekcjonowano grzyby o najwyższej aktywności enzymatycznej. Do grzybów o najwyższej aktywności celulozowej i hemicelulozowej zakwalifikowano 6 szczepów należących do gatunku *T. harzianum* – AN 94, AN 108, AN 133, AN 136, AN 181, AN 360; 4 szczepy *T. virens* – AN 69, AN 73, AN 187, AN 268 oraz po jednym szczepie *T. longibrachiatum* – AN 213 i *T. citrinoviride* – AN 262. Biomasa wyselekcjonowanych szczepów grzybów wykorzystano do hydrolizy

Summary

The use of lignocellulose substrate for efficient biofuels production is commonly associated with the incorporation of pretreatment processes. These will increase the bioavailability of substrate for microbial uptake. Among pretreatment methods biohydrolysis is worth mentioning. In this study the ability of *Trichoderma* fungus for the synthesis of cellulolytic and hemicellulolytic enzymes was examined. 6 of *T. harzianum* strains – AN 94, AN 108, AN 133, AN 136, AN 181, AN 360; 4 strains of *T. virens* – AN 69, AN 73, AN 187, AN 268 1 strain from *T. longibrachiatum* – AN 213 and *T. citrinoviride* – AN 262) proved to be the most effective cellulose and hemicellulose degraders. Biomass from selected fungi was used for the hydrolysis of lignocellulose substrate. The effect of 14 days hydrolysis on the efficiency of methane fermentation was studied. Additionally the effect of post cultivation broth selected from highly enzymatic active fungi, introduced directly to methane biofermentor on biogas production was analyzed.

surowca lignocelulozowego. Określono wpływ 14-dniowej hydrolizy prowadzonej przez grzyby na wydajność fermentacji metanowej, jak też wpływ płynów pozyskanych po hodowli grzybów, dodawanych bezpośrednio do fermentacji metanowej, na wydajność produkcji biogazu. W efekcie dodawania bezpośrednio do fermentora płynów pochodzących o wysokiej aktywności enzymatycznej wydajność produkcji biogazu wzrastała o 16% w stosunku do próby kontrolnej. Fermentacja metanowa, poprzedzona 14-dniową hydrolizą lignocelulozy przez wyselekcjonowane szczepy grzybów, nie przyniosła spodziewanych efektów, a uzyskana objętość biogazu była mniejsza niż w próbie nie poprzedzonej hydrolizą.

zed. It was observed that the introduction of post cultivation broth to biomass fermentor resulted in 16% increase in biogas production. No positive effect was observed in case of 14 days *Trichoderma* lignocellulitic substrate hydrolysis accompanied by subsequent methane fermentation. Resulting biogas volume was even lower compared to control.

1. Wstęp

Lignoceluloza jest jednym z najważniejszych komponentów biomasy roślinnej. Stanowi ponad połowę światowej produkcji materii organicznej powstającej w procesie fotosyntezy (Sanchez 2009). Związki lignocelulozowe są podstawowym składnikiem budulcowym ścian komórkowych roślin wyższych – nadają im odpowiednią wytrzymałość mechaniczną. Ze względu na dużą zawartość węgla pełnią także istotną funkcję w obiegu tego pierwiastka w przyrodzie, a rozłożone użyźniają glebę, zwiększając bioróżnorodność tego środowiska. Mimo tak dużych zasobów i ogromnego potencjału, surowiec ten nie został jak dotąd w pełni wykorzystany. Tylko stosunkowo niewielkie ilości biomasy lignocelulozowej wykorzystywane są do produkcji papieru, tworzyw sztucznych, w przemyśle włókienniczym i chemicznym. Ze względu na swą wartość energetyczną bywa także źródłem energii uwalnianej bezpośrednio w procesie spalania. Znaczna jednak część łatwo dostępnej celulozy i hemicelulozy powstaje jako produkt uboczny produkcji rolniczej i leśnej, a część gromadzona jest jako frakcja odpadów komunalnych. Brak odpowiednich metod zagospodarowania biomasy lignocelulozowej będącej produktem ubocznym działalności rolniczej czy przemysłowej prowadzi do utraty jej potencjalnej wartości jako źródła energii odnawialnej, a w niektórych przypadkach stanowi także zagrożenie dla środowiska naturalnego (np. odpady przemysłu celulozowo-papierniczego). Powodem tak słabego wykorzystania materiału lignocelulozowego jest jego złożona budowa (Taherzadeh, Karimi 2008). Składa się on głównie z trzech wzajemnie ze sobą powiązanych rodzajów polimerów: celulozy, hemicelulozy i ligniny.

Celuloza jest polimerem liniowym zbudowanym z podjednostek D-glukozy połączonych wiązaniami β -1,4 glikozydowymi. W zależności od stopnia konden-

sacji, który wynosi średnio od 2000 do 4000, celuloza występuje w formie krystalicznej, słabo zorganizowanej lub amorficznej (Sanchez 2009). Częsteczki celulozy ułożone równolegle tworzą wiązki – tzw. mikrofibryle, a następnie makrofibryle, które nadają odporność mechaniczną tkankom roślinnym. Celuloza ulega hydrolizie pod wpływem stężonego kwasu siarkowego. Jest praktycznie nierozpuszczalna w wodzie i rozpuszczalnikach organicznych.

Hemiceluloza jest kompleksem różnych polisacharydów zbudowanych z cukrów pięcio- (ksyloza, arabinoza) lub sześciowęglowych (mannoza, glukoza, galaktoza) połączonych wiązaniami β -glikozydowymi (Sanchez 2009). Stopień kondensacji cukrów jest mniejszy niż w przypadku celulozy i wynosi 30–300. Hemiceluloza jest polimerem tworzącym rozgałęzione łańcuchy ściśle połączone wiązaniami kowalencyjnymi i wodorowymi z celulozą i ligniną w efekcie czego powstaje sieć zwiększająca sztywność ścian komórkowych (Sanchez 2009; Sarkar i in. 2012). Ze względu na amorficzny charakter hemicelulozy łatwiej ulegają rozkładowi w obecności kwasów i zasad niż celuloza. Rozpuszczalność w wodzie zależy od temperatury i wzrasta powyżej 180°C (Hendrix, Zeeman 2009).

Lignina jest amorficznym heteropolimerem złożonym z jednostek aromatycznych o charakterze fenylopropanowym: alkoholu koniferylowego, synapinowego i kumarylowego połączonych różnego rodzaju wiązaniami (Hendrix, Zeeman 2009). Stopień polimeryzacji jednostek tworzących ligninę wynosi 60–70. Rozpuszczalność ligniny w środowisku kwaśnym i alkalicznym zależy od zawartości poszczególnych komponentów wchodzących w jej skład. Rozpuszczalność w wodzie wzrasta (podobnie jak w przypadku hemicelulozy) dopiero po przekroczeniu temperatury 180°C (Taherzadeh, Karimi 2008; Hendrix, Zeeman 2009). Obecność ligniny zmniejsza przepuszczalność i zwiększa twardość ścian komórkowych. Lignina stanowi także naturalną obronę roślin przeciwko atakowi mikroorganizmów i jej obecność w hydrolizacie biomasy roślinnej działa inhibująco na aktywność mikroorganizmów fermentujących.

Wydajne wykorzystanie surowca ligninocelulozowego jako źródła energii odnawialnej wymaga zastosowania procesów prowadzących do uwolnienia cukrów prostych. W ten sposób uzyskuje się substraty łatwo przyswajane przez mikroorganizmy i przetwarzane w procesach biokonwersji na paliwa ciekłe lub gazowe, takie jak etanol, metanol, wodór, metan i inne (Saxena i in. 2009). Stosowanych jest szereg metod prowadzących do degradacji poszczególnych elementów kompleksu ligninocelulozowego. Po wstępnym, mechanicznym rozdrobnieniu materiał roślinny poddaje się najczęściej fizycznej, chemicznej lub biochemicznej obróbce. Spośród metod fizykochemicznych wykorzystuje się najczęściej wysoką temperaturę hydrolizy, procesy ciśnieniowe, działanie stężonych kwasów mineralnych lub ługów (Hendrix, Zeeman 2009; Park, Kim

2012). Metody te pozwalają na szybką i wydajną depolimeryzację lignocelulozy, jednakże wymagają znacznych nakładów energii, a stosowane chemiczne katalizatory są przyczyną korozji urządzeń i nie pozostają bez wpływu na środowisko. Ponadto w procesie hydrolizy metodami fizykochemicznymi uwalniane są związki ograniczające wydajność biokonwersji produktów hydrolizy do biopaliw przez mikroorganizmy (Kumar i in. 2008).

Duże nadzieje związane są z rozwojem biochemicznych metod hydrolizy kompleksu ligninocelulozowego. Zastosowanie tych metod polega na wprowadzeniu do hydrolizowanego surowca określonych szczepów mikroorganizmów zdolnych do degradacji materiału lignocelulozowego lub komercyjnie dostępnych preparatów enzymatycznych. Preparaty enzymatyczne wykorzystywane do rozkładu celulozy lub hemiceluloz pozyskuje się z hodowli wyselekcjonowanych szczepów mikroorganizmów (Aehle 2007). W pełnym rozkładzie celulozy udział biorą enzymy należące do trzech klas: endo- i egzoglukanazy oraz β -glukozydazy. Endoglukanazy (E.C. 3.2.1.4) hydrolizują wiązania β -1,4-glikozydowe w środku łańcuchów celulozy, w regionach o mniejszej krystalizacji, uwalniając oligosacharydy, a tym samym zwiększając możliwość efektywnego działania egzoglukanazy. Egzoglukanazy (celobiohydrolazy) (E.C. 3.2.1.91) uwalniają celobiozę od wolnych końców łańcucha celulozy. Ostatecznie celobioza hydrolizowana jest za pośrednictwem β -glukozydazy (E.C. 3.2.1.21) do cząsteczek glukozy (Clarke 1996; Banerjee i in. 2010). Kompleks hydrolizujący hemicelulozę należy do bardziej złożonych, ponieważ zawiera najczęściej mieszaninę aż ośmiu enzymów, takich jak: endo-1,4- β -D-ksylanaza, egzo-1,4- β -D-ksylanaza, α -L-arabinofuranazydaza, endo-1,4- β -D-mannaza, β -mannozydaza, acetyloksylanoesteraza, α -glukoronazydaza, α -galaktozydaza (Jorgensen i in. 2003). Do mikroorganizmów zdolnych do syntezy enzymów hemicelulolitycznych zalicza się m.in. bakterie należące do rodzajów *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Thermonospora*, *Bacillus*, *Bacteriodes*, *Ruminococcus*, *Erwinia*, *Acetovibrio*, *Microbispora*, *Streptomyces* oraz grzyby z rodzajów *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Phenerochaete*, *Humicola* czy *Schizophillum* (Rabinovich i in. 2002; Sun, Cheng 2002).

Spośród mikroorganizmów zdolnych do produkcji enzymów hemicelulolitycznych na szczególną uwagę zasługują szczepy grzybów strzępkowych z rodzaju *Trichoderma* (Xu i in. 1998). Grzyby te na skutek indukcji substratowej produkują oraz wydzielają pozakomórkowo znaczne ilości enzymów należących zarówno do grupy celulaz, jak i hemicelulaz, dzięki czemu zdolne są do szybkiego wzrostu nawet w niekorzystnych warunkach środowiska (Sangren i in. 2005). Jest to ważna cecha adaptacyjna tych mikroorganizmów, dzięki której mogą wykorzystywać różne źródła pokarmu, wzrastać w różnych warunkach temperaturowych niezależnie od obecności światła. Grzyby z rodzaju *Trichoderma* należą do podgromady *Deuteromycotina*, klasy *Hypomycetes* i rzę-

du *Moniliale* (Rifai 1969; Samuels 2006). Klasyfikacja gatunkowa *Trichoderma* spp. została oparta na różnicach w systemach rozgałęzień konidioforów, sposobie rozmieszczenia fialid i cechach fialospor (zarodników). Większość gatunków podczas wzrostu tworzy okrągłe kolonie zbudowane z pęczków konidioforów o charakterystycznej watowatej powierzchni. W zależności od gatunku kolonie *Trichoderma* mogą być pozbawione koloru lub przyjmują kolor od białozielonej, poprzez żółtą, żółtozieloną do ciemnozielonej (Gams, Bissett 1998; Wojtkowiak-Gębarowska 2006).

Ze względu na różnorodną aktywność metaboliczną grzyby z rodzaju *Trichoderma* znalazły praktyczne zastosowanie w wielu dziedzinach gospodarki. Ich aktywność mykopasożytnicza, antagonistyczna oraz kontrolna w stosunku do innych mikroorganizmów spowodowały, że *Trichoderma* znalazły zastosowanie jako biofungicydy stosowane w ochronie roślin (Vinale 2006). Grzyby te wytwarzają ponad 100 różnych, aktywnych związków o charakterze enzymów, aminokwasów, mykotoksyn, peptydów i pochodnych aminokwasów (Sivasithamparam, Ghisalberti 1998). Celulazy, ksylanazy, pektynazy, β -1,3-glukanazy, chitynazy i proteazy produkowane przez *Trichoderma* wykorzystywane są także w przemyśle spożywczym, m.in. w browarnictwie, gorzelnictwie, piekarnictwie, owocowo-warzywnym. Stosowane jako dodatki do pasz zwiększają ich przyswajalność i zwiększają wydajność produkcji zwierzęcej (Galante i in. 1998).

W prezentowanej pracy przedstawiono wyniki badań wpływu wyselekcjonowanych grzybów z rodzaju *Trichoderma* na przebieg hydrolizy oraz wydajność fermentacji metanowej.

2. Materiały i metody

Badania obejmowały trzy etapy:

- selekcję mikroorganizmów o wysokiej aktywności celulolitycznej i hemicelulolitycznej,
- hydrolizę materiału lignocelulozowego,
- fermentację metanową zhydrolizowanego materiału.

2.1. Szczepy grzybów z rodzaju *Trichoderma*

W badaniach wykorzystano szczepy grzybów należące do rodzajów *Trichoderma* i *Mucor*. Spośród grzybów z rodzaju *Trichoderma* badaniom poddano 15 szczepów należących do gatunku *T. viridescens*, 13 szczepów gatunku *T. viride*, 15 szczepów gatunku *T. virens*, 2 szczepy gatunku *T. longibrachiatum*,

15 szczepów gatunku *T. atroviride*, 6 szczepów gatunku *T. koningi*, 9 szczepów gatunku *T. citrinoviride*, 9 szczepów gatunku *T. hamatum*, 1 szczep *T. pseudokoningi* i 39 szczepów należących do *T. harzianum*. W obrębie rodzaju *Mucor* zbadano 4 szczepy należące do *M. hiemalis f. luteus*. Analizowane szczepy pochodziły z kolekcji Instytutu Genetyki Roślin PAN w Poznaniu. Wszystkie wyizolowano z naturalnego środowiska ich bytowania, a następnie metodami biologii molekularnej określono przynależność gatunkową.

2.1.1. Identyfikacja gatunkowa izolatów *Trichoderma*

Identyfikacji molekularnej izolatów *Trichoderma* dokonano na podstawie analizy sekwencji markerów filogenetycznych ITS1 i ITS2 (ang. *internal transcribed spacer*) rDNA oraz sekwencji 4 i 5 intronu genu *tef1* (ang. *translation elongation factor 1-alpha*). Genomowe DNA wyizolowano przy użyciu metody CTAB (Doohan i in. 1998) z 6-dniowej hodowli prowadzonej na podłożu płynnym – Czapek-Dox broth (Sigma) z dodatkiem Yeast Extract (Oxoid) i streptomycyny (AppliChem). W reakcji amplifikacji metodą PCR wykorzystano następujące pary starterów: ITS4 i ITS5 (White i in. 1990) – w celu amplifikacji regionu ITS rDNA oraz Ef728M (Carbone, Kohn 1999) i *tef1R* (Kullnig-Gradiner i in. 2002) lub TEF1LLErev (Jaclitsch i in. 2005) – w celu amplifikacji fragmentu genu *tef1*. Zamplifikowane fragmenty DNA rozdzielano w 1,5% żelu agarozowym, a następnie oczyszczano enzymatycznie. Sekwencjonowanie produktów PCR wykonano metodą terminacji syntezy DNA w obecności trójfosforanów di-dezoksynukleozydów. Do reakcji znakowania DNA zastosowano ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit, wchodzący w skład zestawu do fluorescencyjnego znakowania syntetyzowanego DNA [Applied Biosystems]. Rozdział oczyszczonych produktów znakowania prowadzono na automatycznym, kapilarnym aparacie do sekwencjonowania ABI PRISM 310 [Applied Biosystems] (Chelkowski i in. 2003). Do analizy uzyskanych sekwencji DNA wykorzystano program Chromas v. 1.43 [Applied Biosystems]. Analizę porównawczą przeprowadzono z zastosowaniem algorytmu CLUSTAL W (Thompson i in. 1994). W celu identyfikacji sekwencji wykorzystano program BLASTn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) oraz *TrichO-KEY* i *TrichoBLAST* (www.isth.info; Druzhinina i in. 2005; Kopchinsky i in. 2005).

Część z uzyskanych sekwencji nukleotydowych regionu ITS1 i ITS2 rDNA oraz genu *tef1* zdeponowano w bazie danych NCBI GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov).

2.1.2. Hodowla *Trichoderma* i indukcja syntezy enzymów

Namnażanie poszczególnych gatunków grzybów prowadzono dwuetapowo. Najpierw mikroorganizmy hodowano na podłożu namnażającym (Potato dextrose broth firmy Conda pronadisa S.A.). Hodowlę prowadzono na wytrząsarce rotacyjnej przez 5 dni w temperaturze 25°C i 100 obrotach mieszadła na minutę (rpm). Następnie uzyskaną biomasę pasażowano na podłoża indukujące syntezę enzymów celulolitycznych (jako jedyne źródło węgla zastosowano 1% roztwór soli sodowej karboksymetylcelulozy – CMC (Akzo Nobel Chemicals) i ksylanolitycznych (jako jedyne źródło węgla zastosowano 1% roztwór ksylanu (Sigma-Aldrich)). Hodowlę indukcyjną prowadzono przez okres 5 dni w warunkach analogicznych do pierwszego etapu namnażania. Uzyskaną biomasę z hodowli indukcyjnej wykorzystywano do hydrolizy surowców lignocelulozowych. Obydwie hodowle prowadzono przy pH podłoża wynoszącym 4,5.

2.2. Surowce ligninocelulozowe poddawane hydrolizie

Jako surowce do hydrolizy i fermentacji wybrano: przyzmowany obornik bydlęcy, kiszonkę z kukurydzy i słomę rzepakową. W pozyskanym materiale określono zawartość suchej masy. Była ona zróżnicowana w zależności od rodzaju surowca i wyniosła odpowiednio: 31,5% dla kiszonki z kukurydzy, 30,3% dla obornika bydlęcego oraz 83,7% dla słomy rzepakowej. Surowce poddano także analizie elementarnej celem określenia zawartości węgla i azotu (Elementar, model Vario EL III). Stwierdzono, że zawartość węgla kształtowała się na poziomie 34,37% dla obornika, 45,83% dla kiszonki z kukurydzy i 41,68% dla słomy rzepakowej. Zawartość azotu była znacznie mniejsza i wyniosła odpowiednio 2,3%, 1,37% i 0,71%. Surowce przeznaczone do doświadczeń wysuszono i rozdrobniono w celu zwiększenia powierzchni kontaktu z czynnikami biologicznymi i poprawy właściwości reologicznych. Bezpośredniej hydrolizie biologicznej poddano mieszaninę surowców składającą się z 40% obornika, 40% kiszonki z kukurydzy oraz 20% słomy rzepakowej.

2.3. Analiza aktywności celulolitycznej i hemicelulitycznej grzybów z rodzaju *Trichoderma*

Ocenę aktywności enzymów celulolitycznych i hemicelulolitycznych wytworzonych w czasie 5-dniowej hodowli indukcyjnej prowadzono metodą płytkową (Hadkin, Anagnostakis 1977). Metoda ta polega na obserwacji zmian

(określeniu wielkości stref przejaśnień) zachodzących w zestalonym podłożu na skutek działania enzymów. Dla określania aktywności celuloリティcznej wykorzystano medium zawierające 2% roztwór agaru wzbogaconego, 0,1 g/l chloramfenikolu oraz 1% CMC. Aktywność ksylanolityczną określano, zastępując CMC 1% roztworem ksylanu. Podłoże wprowadzono na płytki Petriego, a po zestaleniu, centralnie, za pomocą korkobora wycinano zagłębienie (studzienkę). Do tak przygotowanych studzienek wprowadzono 200 μ l supernatantu otrzymanego po zwirowaniu (20 min przy 4500 obr./min) hodowli indukcyjnej grzybów. Płytki z wypełnionymi studzienkami inkubowano w temperaturze 37°C przez 48 godz., po czym zalewano je ok. 2 ml płynu Lugola. Po 15 min nadmiar płynu Lugola spłukiwano 0,1% roztworem NaCl. W efekcie obszary zawierające niezhydrolizowaną CMC lub ksylozę zabarwiały się na kolor ciemnobrązowy, natomiast powstała w wyniku działania enzymów strefa wokół studzienki odznaczała się wyraźnym przejaśnieniem. Wielkość strefy przejaśnienia w poszczególnych doświadczeniach odzwierciedlała aktywność enzymów celuloリティcznych lub hemiceluloリティcznych. Wielkość strefy przejaśnienia powstała w wyniku aktywności enzymów danego szczepu porównywano z wielkością przejaśnienia szczepu referencyjnego (*T. reesei*).

2.4. Hydroliza surowca lignocelulozowego

Doświadczenie prowadzono w kolbach o objętości 300 ml. Do kolbek wprowadzono mieszaninę surowców składającą się z 40% obornika, 40% kiszonki z kukurydzy oraz 20% słomy rzepakowej, a następnie dodawano inokulum zawierające wyselekcjonowane szczepy grzybów wyhodowanych wcześniej na pożywce indukującej syntezę enzymów hemi- i celuloリティcznych. W skład inokulum wchodziło 12 najefektywniejszych szczepów: 6 szczepów należących do gatunku *Trichoderma harzianum* (AN 94, AN 108, AN 133, AN 136, AN 181, AN 360), 4 szczepy z gatunku *Trichoderma virens* (AN 69, AN 73, AN 187, AN 268) oraz po jednym szczepie z gatunku *Trichoderma longibrachiatum* (AN 213) i *Trichoderma citrinoviride* (AN 262). Zainokulowany materiał lignocelulozowy uzupełniano wodą destylowaną, uzyskując ostatecznie zawartość suchej masy na poziomie 10%. Po skorygowaniu pH do 5,6–5,8 kolby umieszczano na wytrząsarce rotacyjnej i inkubowano przez 14 dni w temperaturze 25°C. Równocześnie prowadzono inkubację prób kontrolnych (nieinokulowanych szczepami *Trichoderma*).

2.5. Fermentacja metanowa surowców lignocelulozowych

Doświadczenia nad wpływem wstępnej hydrolizy surowców lignocelulozowych prowadzonej przez grzyby z rodzaju *Trichoderma* na efektywność fermentacji metanowej realizowano w dwóch wariantach. W wariancie 1 fermentacji metanowej poddano surowiec (40% obornika, 40% kiszonki z kukurydzy oraz 20% słomy rzepakowej) hydrolizowany mieszaną wyselekcjonowanych grzybów. W wariancie 2 zastosowano 5% dodatek płynów pochodowlanych pozyskanych z hodowli 12 szczepów grzybów z rodzaju *Trichoderma* hodowanych na pożywce indukującej syntezę enzymów celulolitycznych, wprowadzanych bezpośrednio do zbiorników fermentacyjnych (fermentacja jednostopniowa bez wydzielonej hydrolizy). Przeprowadzono także fermentację surowców nie poddawanych hydrolizie i bez dodatku płynów pochodowlanych (kontrola).

Fermentację prowadzono metodą „mokrą”, w której zawartość suchej masy oscylowała na poziomie 8–10%. Jako inokulum mikroorganizmów metanogennych zastosowano pulę pofermentacyjną z pracującego fermentora wykorzystującego surowce rolnicze. Inokulum bakteryjne warunkujące prawidłowy przebieg fermentacji stanowiło 20% całkowitej objętości wsadu. Proces fermentacji metanowej prowadzono w bioreaktorach o objętości 1,8 l w temperaturze 37°C. Utrzymywanie pH na poziomie 7 prowadzono za pomocą 2M NaOH. Podczas fermentacji na bieżąco analizowano objętość uzyskiwanego biogazu oraz jego skład jakościowy. Objętość biogazu określano metodą wypornościową w cylindrach wypełnionych wodą, natomiast stężenie metanu, dwutlenku węgla, tlenu, amoniaku i siarkowodoru analizowano online za pomocą Mikroprocesorowego Systemu Monitorująco-Rejestrującego MSMR-4.

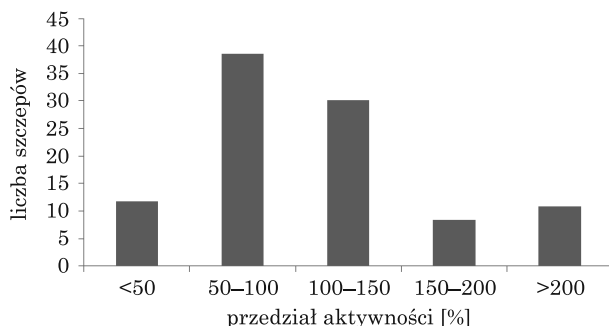
2.6. Statystyczna analiza wyników

W celu przeprowadzenia statystycznej weryfikacji wyników wykorzystano test Levene'a (test jednorodności wariancji) oraz test Tukeya. Obliczeń dokonano przy pomocy programu Statistica 6.0.

3. Wyniki

W efekcie przeprowadzonych doświadczeń stwierdzono, że duża liczba badanych szczepów grzybów z rodzaju *Trichoderma* charakteryzuje się wysoką aktywnością celulolityczną i hemicelulolityczną.

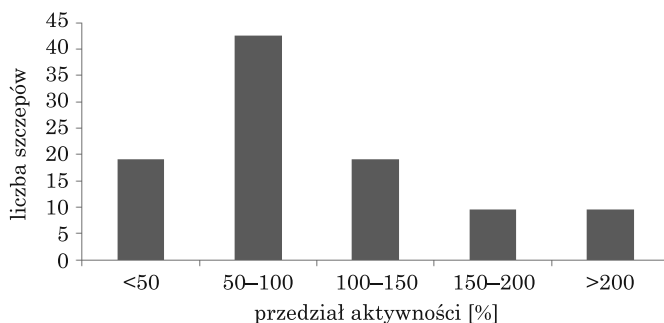
W badaniach nad aktywnością celulolityczną wykazano, że spośród 127 szczepów *Trichoderma* i *Mucur* aż 38% odznaczało się istotnie ($p < 0,05$) większą aktywnością celulolityczną aniżeli szczep referencyjny *T. reesei* (rys. 1). Do gatunków o wysokiej aktywności celulolitycznej zaliczyć można *T. harzianum*. W obrębie tego gatunku aż 22 szczepy spośród 39 badanych odznaczało się wyższą aktywnością od *T. reesei*. Najbardziej aktywny okazał się szczep AN 108 – prawie 3-krotnie przewyższał aktywność szczepu referencyjnego. Ponad 2-krotnie wyższą aktywność nad szczepem referencyjnym miały także inne szczepy *T. harzianum*: AN 133, AN 136 i AN 360. Ponad 50% większą aktywność zaobserwowano dla szczepów: AN 101, AN 137, AN 181, AN 203, AN 207 i AN 367. Kolejnym gatunkiem o szczepach bardzo aktywnych w degradacji celulozy był *T. virens*. W przypadku tego gatunku 13 z 15 szczepów aktywniej degradowało celulozę aniżeli szczep referencyjny. Ponad 2,5-krotnie większą aktywność zaobserwowano dla szczepów AN 73, AN 187 oraz AN 268, zaś 2-krotnie aktywniej degradowały celulozę szczepy AN 68, AN 70 i AN 188. Wyższą aktywność celulolityczną aniżeli *T. reesei* obserwowano także w trzech przypadkach szczepów z gatunków *T. viride* i *T. citrinoviride* oraz po jednym przypadku wśród gatunków *T. koningi* i *T. pseudokoningi*. Pośród tych gatunków szczególnie wysoką aktywnością odznaczał się szczep AN 393 należący do *T. citrinoviride* oraz szczep AN 142 z gatunku *T. viride*. Wśród pozostałych badanych gatunków, tj. *T. viridescens*, *T. hamatum*, *T. atroviride*, aktywność celulolityczna występowała najczęściej na znacznie niższym poziomie niż w przypadku aktywności szczepu referencyjnego.



Rys. 1. Histogram aktywności celulolitycznej badanych grzybów strzępkowych z rodzaju *Trichoderma*. Poszczególne słupki odpowiadają liczbie szczepów o określonej aktywności celulolitycznej w porównaniu do aktywności szczepu referencyjnego

Przeprowadzone badania aktywności ksydanolitycznej wybranych szczepów grzybów z rodzaju *Trichoderma* wykazały, że blisko 50% szczepów charakteryzowało się statystycznie większą ($p < 0,05$) aktywnością aniżeli szczep refe-

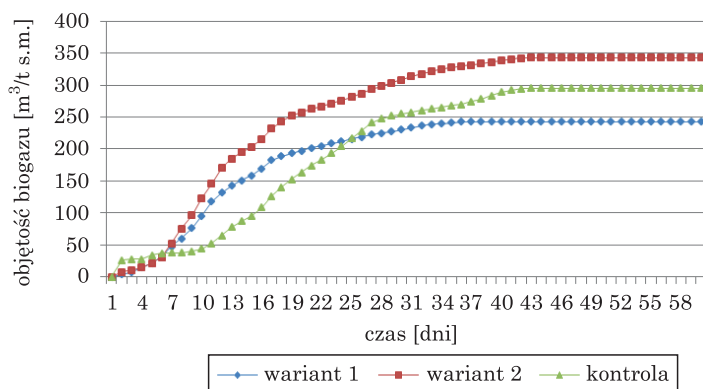
rencyjny *T. reesei* (rys. 2). Gatunkiem, którego szczepy najczęściej odznaczały się wysoką aktywnością, był także i w tym przypadku *T. harzianum*. 27 szczepów tego gatunku przewyższało aktywnością szczep referencyjny, a największą odznaczały się AN 94 i AN 181, które rozkładały ksylian ponad 3,5-krotnie efektywniej niż szczep referencyjny. Do szczepów o wysokiej aktywności zaliczyć też można AN 134 i AN 177, których aktywność była wyższa od *T. reesei* ponad 2-krotnie. Gatunkiem z dużym odsetkiem szczepów o wysokiej aktywności ksylianolitycznej był *T. virens*. Wyodrębniono 10 szczepów aktywniejszych niż *T. reesei*, wśród których najlepiej rozkładał ksylian szczep AN 69. Jego aktywność była aż 3-krotnie wyższa aniżeli aktywność szczepu referencyjnego. Ponad 2-krotnie większą aktywność odnotowano także dla szczepu AN 187. Kolejnym gatunkiem, którego szczepy odznaczały się dużą aktywnością ksylianolityczną, był *T. citrinoviride*. Szczep AN 262 tego gatunku rozkładał ksylian 3-krotnie, a szczepy AN 199 i AN 201 ponad 2-krotnie efektywniej niż *T. reesei*. Wysoką aktywność zaobserwowano także dla szczepów AN 213 i AN 197 gatunku *T. longibrachiatum*.



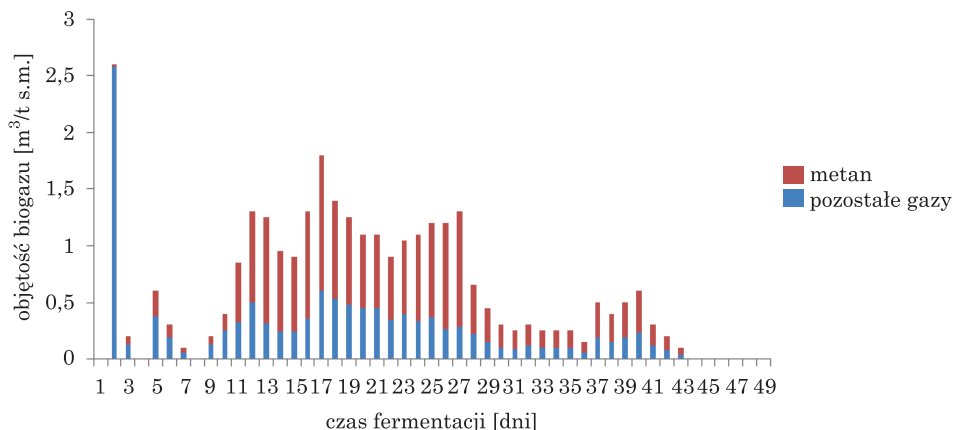
Rys. 2. Histogram aktywności ksylianolitycznej badanych grzybów strzępkowych z rodzaju *Trichoderma*. Poszczególne słupki odpowiadają liczbie szczepów o określonej aktywności ksylianolitycznej w porównaniu do aktywności szczepu referencyjnego

W badaniach dotyczących fermentacji metanowej zastosowano surowce w składzie: obornik, kiszonka z kukurydzy i słoma rzepakowa w proporcjach 40/40/20. Zarówno w pierwszym wariantcie fermentacji, gdy surowce poddawano najpierw hydrolizie biologicznej, wykorzystując do tego celu wyselekcjonowane szczepy grzybów o wysokiej aktywności enzymatycznej, jak i w drugim wariantcie, kiedy substrat uwodniony płynem pochodzonym z hodowli wybranych grzybów wprowadzano bezpośrednio do fermentorów, zaobserwowano produkcję biogazu (rys. 3). Analiza statystyczna potwierdziła istotną różnicę pomiędzy produkcją biogazu w wariantcie 2 a fermentacją kontrolną ($p < 0,05$). Wydajność produkcji biogazu, jaką odnotowano dla tego

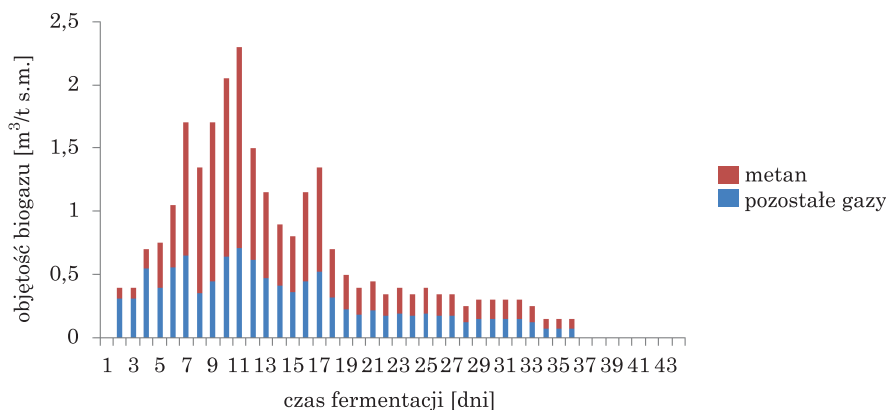
wariantu, wyniosła 343 m³/t s.m. i była o 16% wyższa aniżeli w próbie kontrolnej. W wariancie tym odnotowano także najwyższą zawartość metanu – ponad 61%, podczas gdy w próbie kontrolnej 59%, a w 1 wariancie doświadczenia tylko 57%. Stwierdzono statystycznie istotne obniżenie wydajności produkcji biogazu dla wariantu z hydrolizą surowca roślinnego prowadzonego przez grzyby z rodzaju *Trichoderma* ($p < 0,05$). Ostatecznie objętość wyprodukowanego biogazu w tym wariancie była niższa od objętości uzyskanej w próbie kontrolnej. Dobową produkcję metanu i pozostałych gazów dla poszczególnych wariantów doświadczeń oraz próby kontrolnej zilustrowano na wykresach (rys. 4–6).



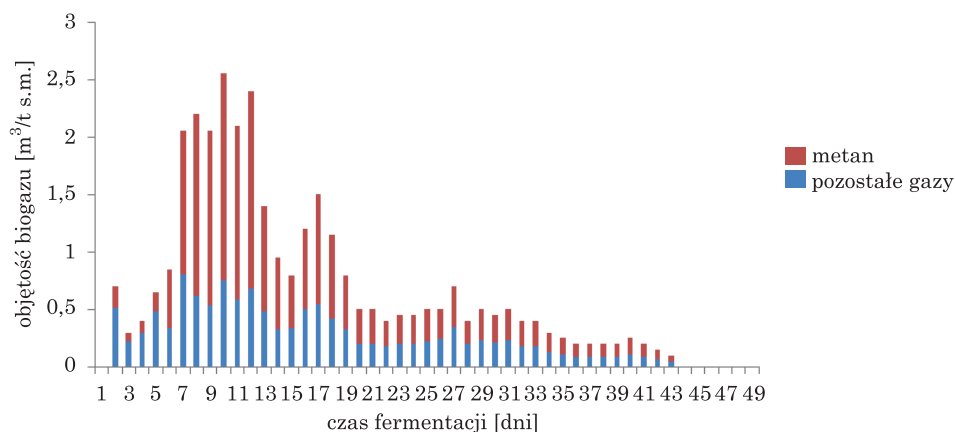
Rys. 3. Skumulowana produkcja biogazu dla fermentacji metanowej surowców lignocelulozowych. Wariant 1 – fermentacja poprzedzona 14-dniową hydrolizą surowca przez wybrane szczepy o najwyższej aktywności celulolitycznej i ksylanolitycznej (6 szczepów *T. harzianum* – AN 94, AN 108, AN 133, AN 136, AN 181, AN 360, 4 szczepy *T. virens* – AN 69, AN 73, AN 187, AN 268, *T. longibrachiatum* – AN 213, *T. citrinoviride* – AN 262). Wariant 2 – bezpośrednia fermentacja surowca lignocelulozowego z dodatkiem płynów pochodzących



Rys 4. Dzienna produkcja biogazu podczas fermentacji mieszanki obornika, kisonki z kukurydzy oraz słomy rzepakowej w proporcjach 40/40/20% nie poddawanej działaniu grzybów (kontrola)



Rys. 5. Dzienna produkcja biogazu podczas fermentacji mieszanki obornika, kizzonki z kukurydzy i słomy rzepakowej w proporcjach 40/40/20% poprzedzonej 14 dniową hydrolizą substratu za pomocą wyselekcjonowanych grzybów z rodzaju *Trichoderma*



Rys. 6. Dzienna produkcja biogazu podczas fermentacji mieszanki obornika, kizzonki z kukurydzy i słomy rzepakowej w proporcjach 40/40/20%. Fermentacja z dodatkiem 5% (v/v) płynu pochodzącego z hodowli grzybów z rodzaju *Trichoderma*

4. Podsumowanie

Uzyskane wyniki badań potwierdzają, że szereg szczepów grzybów z rodzaju *Trichoderma* charakteryzuje się wysoką i bardzo wysoką skutecznością w degradacji celulozy i ksylanu. Produkcja enzymów celulolitycznych i hemicelulolitycznych przy stosunkowo dobrym tempie wzrostu, charakterystycznym dla tych mikroorganizmów, sprawia, że grzyby te mogłyby być pomocne w degradacji surowca lignocelulozowego z przeznaczeniem na biopaliwa. Jednakże uzyskane w trakcie badań wyniki dotyczące wpływu aktywności *Tricho-*

derma na wydajność fermentacji metanowej wskazują, że grzyby nie zawsze korzystnie oddziałują na ostateczny proces biokonwersji prowadzonej przez inne mikroorganizmy. Prawdopodobną tego przyczyną jest „agresywny” charakter rodzaju *Trichoderma* w stosunku do innych mikroorganizmów oraz produkcja dużej ilości substancji o charakterze antybiotyków, aktywnych peptydów i innych, które działają hamująco na aktywność mikroflory uczestniczącej w produkcji biopaliw. Doświadczenie, w którym zdecydowano się dodawać bezpośrednio do fermentora płyn pochodzący z hodowli grzybów, wskazuje, że należy poszukiwać technicznych rozwiązań pozwalających na wykorzystanie potencjalnych możliwości tych mikroorganizmów.

Literatura

- Aehle W. 2007. *Enzymes in Industry*. Third edition, Wiley-VCH InterScience.
- Banerjee S., Mudliar S., Sen R., Giri B., Satpute D., Chakrabarti T. 2010. *Commercializing lignocellulosic bioethanol: technology bottlenecks and possible remedies*. *Biofuels Bioproducts and Biorefining*, 4: 77–93.
- Carbone I., Kohn L.M. 1999. *A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes*. *Mycologia* 91: 553–556.
- Chelkowski J., Golka L., Stępień Ł., 2003. *Application of STS markers for leaf rust resistance genes in near-isogenic lines of spring wheat cv. Thatcher*. *J. App. Genet*, 44: 323–338.
- Clarke A. 1996. *Biodegradation of cellulose: enzymology and biotechnology*. CRC Press.
- Doohan F.M., Parry D.W., Jenkinson P., Nicholson P. 1998. *The use of species-specific PCR-based assays to analyse Fusarium ear blight of wheat*. *Plant Pathol*, 47: 197–205.
- Druzhinina I.S., Kopchinskiy A.G., Komon M., Bissett J., Szakacs G., Kubicek C.P. (2005). *An oligonucleotide barcode for species identification in Trichoderma and Hypocrea*. *Fungal. Genet. Biol.*, 42: 813–828.
- Galante Y., De Conti A., Monteverdi R. 1998. *Application of Trichoderma enzymes in the food and feed industries*. In: Harman G.E., Kubicek C.P. (eds.). *Trichoderma and Gliocladium*. Taylor and Francis. London: 327–342.
- Gams W., Bissett J. 1998. *Morphology and identification of Trichoderma*. In: Harman G.E., Kubicek C.P. (eds.). *Trichoderma and Gliocladium*. Taylor and Francis. London: 3–34.
- Hadkin L., Anagnostakis S. 1977. *Solid media containing carboxyl methyl cellulose to detect CM cellulase activity of microorganisms*. *Journal of General Microbiology*, 98: 109–115.
- Hendriks A., Zeeman G. 2009. *Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass*. *Bioresource Technology*, 100: 10–18.
- Jaklitsch W.M., Komon M., Kubicek C.P., Druzhinina I.S. 2005. *Hypocrea voglmayrii sp. nov. from the Austrian Alps represents a new phylogenetic clade in Hypocrea/Trichoderma*. *Mycologia*, 97: 1365–1378.
- Jorgensen H., Kutter J., Olsson L. 2003. *Separation and quantification of cellulases and hemicellulases by capillary electrophoresis*. *Analytical Biochemistry*, 317(1): 85–93.
- Kopchinskiy A., Komon M., Kubicek C.P., Druzhinina I.S. 2005. *TrichoBLAST: a multilocus database for Trichoderma and Hypocrea identifications*. *Mycol. Res.*, 109: 657–660.
- Kullnig-Gradinger C., Szakacs G., Kubicek C.P. 2002. *Phylogeny and evolution of the genus Trichoderma: a multigene approach*. *Mycol. Res.*, 106: 757–767.
- Park Y.C., Kim J.S. 2012. *Comparison of various alkaline pretreatment methods of lignocellulosic biomass*. *Energy*, 47(1): 31–35.
- Rifai M. 1969. *A revision of the genus Trichoderma*. *Mycol. Pap.*, 116: 1–56.

- Samuels G. 2006. *Trichoderma: systematics, the sexual state, and ecology*. Phytopathology, 96: 195–206.
- Sanchez C. 2009. *Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi*. Biotechnology Advances, 27: 185–194.
- Sandgren M., Sthhlberg J., Mitchinson C. 2005. *Structural and biochemical studies of GH family 12 cellulases: improved thermal stability, and ligand complexes*. Progress in Biophysics and Molecular Biology, 89: 246–291.
- Sarkar N., Kumar S., Bannerjee S., Aikat K. 2012. *Bioethanol production from agricultural wastes: An overview*. Renewable Energy, 37: 19–27.
- Saxena R., Adhikari D., Goyal H. 2009. *Biomass-based energy fuel through biochemical routes: A review*. Renew. Sust. Energ. Rev., 13: 168–178.
- Sivasithamparam K., Ghisalberti E. 1998. *Secondary metabolism in Trichoderma and Gliocladium*. In: Harman G.E., Kubicek C.P. (eds.). *Trichoderma and Gliocladium*. Taylor and Francis, London: 139–192.
- Sun Y., Cheng J. 2002. *Hydrolysis of lignocellulosic material for ethanol production: a review*. Bioresource Technology, 96: 673–686.
- Taherzadeh M., Karimi K. 2008. *Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review*. International Journal of Molecular Sciences: 1–31.
- Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. 1994. *CLUSTALW: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice*. Nucleic. Acids. Res., 22: 4673–4680.
- Vinale F., Marra R., Scala F., Ghisalberti E., Lorito M., Sivasithamparam K. 2006. *Major secondary metabolites produced by two commercial Trichoderma strains active against different phytopathogens*. Lett. Appl. Microbiol., 43: 143–148.
- White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J.W. 1990. *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*. In: Innis M.A., Gelfand D.H., Shinsky J.J., White T.J. (eds.). *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press. San Diego: 315–322.
- Wojtkowiak-Gębarowska E. 2006. *Mechanizmy zwalczania fitopatogenów glebowych przez grzyby z rodzaju Trichoderma*. Post.Mikrobiol., 45(4): 261–273.
- Xu J., Takakuwa N., Nogawa M., Okada H., Morikawa Y. 1998. *A third xylanase from Trichoderma reesei PC-3-7*. Applied Microbiology and Biotechnology, 49: 718–724.

ROZDZIAŁ 4

Przygotowanie surowców do fermentacji kofermentacji

Preparation of raw materials for fermentation and co-fermentation

Katarzyna Bernat, Irena Wojnowska-Baryła

Katedra Biotechnologii w Ochronie Środowiska
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Słowa kluczowe: biomasa lignocelulozowa, fermentacja, kofermentacja, produkcja biogazu, wstępna obróbka.

Key words: lignocellulosic biomass, fermentation, co-fermentation, biogas production, pretreatment techniques.

Streszczenie

Rośliny uprawne, biomasa poźniwna, odpady z produkcji rolniczej bogate w substancje lignocelulozowe to obiecujący surowiec do produkcji biogazu. Ograniczona podatność masy lignocelulozowej na biodegradację wymaga działań zwiększających biodostępność. Stosowane są różne techniki wstępnej obróbki, w tym metody: mechaniczne, tj. mielenie i cięcie; chemiczne, tj. działanie zasadami, kwasami, rozpuszczalnikami organicznym; termiczne, tj. działanie parą i gorącą wodą; biologiczne, tj. kiszenie czy inokulacja. W prezentowanych badaniach, obok rezultatów chemicznotermicznego, wstępnego przygotowania biomasy lignocelulozowej do fermentacji metanowej, zaprezentowano wyniki produktywności gazowej mieszaniny trójskładnikowej, składającej się z kukurydzy zwyczajnej lub buraka pastewnego (różne proporcje) oraz produktów odpadowych przemysłu rolno-spożywczego, tj. obornika bydlęcego i wywaru gorzelnianego. Potencjał gazotwórczy określano na podstawie testu GP₂₁. Wyróżniono dwie fazy produkcji biogazu z mieszanin trójskładnikowych. Wzrost udziału biomasy lignocelulozowej w mieszaninie fermentacyjnej powodował wydłużenie pierwszej fazy produk-

Summary

Although feedstocks such as crops, stubble biomass, and wastes from agricultural production are rich in lignocellulosic materials, they may be promising feedstocks for biogas production. The high content of lignocellulosic materials in these feedstocks means that they should be pretreated to increase their bioavailability. Various pretreatment techniques are used: mechanical, such as grinding and cutting; chemical, with alkali, acids or organic solvents; thermal, with steam or hot water; or biological, such as ensiling or inoculation. The present study presents the results of thermochemical pretreatment and the biogas productivity of three-component mixtures with various proportions of manure and spent wash with either maize or beet silage. Biogas production was determined with the GP₂₁ respirometric test. The three-component mixtures produced biogas in two phases; the greater the share of lignocellulosic biomass in the feedstock, the longer the first phase lasted. For the mixtures that used maize silage, changes in the proportion of maize silage did not affect the final biogas production (all mixtures produced about 230 dm³/kg VSS). However, although all mixtures of manure, spent wash and beet silage

cji biogazu. W przypadku mieszanin z kiszonką kukurydzy zwyczajnej, bez względu na jej udział, nie notowano różnic w całkowitej ilości produkowanego biogazu (ok. 230 dm³/kg s.m.o.). Maksymalna produkcja biogazu mieszaniny obornika, wywaru gorzelnianego oraz kiszonki buraka po pierwszej fazie wynosiła ok. 150 dm³/kg s.m.o., a wraz ze wzrostem udziału buraka pastewnego w mieszaninie całkowita produktywność gazowa malała.

ge produced about 150 dm³/kg VSS in the first phase, mixtures with a higher content of beet silage produced finally less biogas.

1. Wstęp

W technologiach wytwarzania energii wykorzystywana jest głównie biomasa pochodzenia roślinnego powstająca w procesie fotosyntezy. Według dyrektywy UE 2009/28/EC biomasa to ulegająca biodegradacji część odpadów lub pozostałości pochodzenia biologicznego z rolnictwa (łącznie z substancjami roślinnymi i zwierzęcymi), leśnictwa i związanych działów przemysłu, w tym rybołówstwa i akwakultury, a także ulegającą biodegradacji część odpadów przemysłowych i miejskich. Dyrektywa 2009/28/EC w swojej definicji odnosi się do odpadów lub pozostałości pochodzenia biologicznego z rolnictwa. Obfitość występowania – 220 miliardów ton na rok (Yoshida i in. 2009) i niski koszt pozyskiwania biomasy powoduje, że jest to obiecujący surowiec do produkcji biopaliw, w tym biogazu (Ladicsh i in. 1983; Lechner, Papinutti 2006).

Sposób konwersji biomasy w energię determinuje udział hemicelulozy, celulozy i lignin. Strukturę hemiceluloz tworzą polimery cukrów prostych lub ich pochodnych połączonych wiązaniami β -glikozydowymi, tworzącymi rozgałęzione łańcuchy. Celuloza, składnik ścian komórkowych roślin, to nierozgałęziony biopolimer o cząsteczkach złożonych z kilkunastu do kilkuset tysięcy jednostek glukozy połączonych wiązaniami β -1,4-glikozydowymi. Ligniny są polimerem tworzonym przez monomery związków organicznych, będących pochodnymi aromatycznych alkoholi fenolowych. Produktami końcowymi przetwarzania biomasy w energię są paliwa ciekłe i gazowe, a ponadto produkt o wartościach nawozowych.

Wstępne przygotowanie substratu ma poprawić dostępność związków organicznych w fazie hydrolizy, a tym samym produkcję biogazu. Hydroliza lignocelulozowych substratów i konwersja produktów pośrednich do metanu zachodzi najczęściej w jednym reaktorze. Biodegradacja lignocelulozy przez konsorcjum mikroorganizmów powoduje, że furfural i rozpuszczalne ligniny, jeśli nie występują w zbyt wysokim stężeniu, mogą być wykorzystane do produkcji metanu (Benjamin i in. 1984; Fox i in. 2003).

Techniki mielenia i cięcia przygotowujące substraty do fermentacji metanowej polegają na zmniejszeniu wielkości cząstek i ograniczeniu krystalizacji celulozy. Stopień rozdrobienia surowca waha się w przedziale od 10–30 mm po procesie cięcia i od 0,2 do 2 mm po procesie mielenia (Delgenes i in. 2002). Mechaniczna degradacja włókien lignocelulozy z 100 mm do 2 mm poprawia efektywność hydrolizy lignocelulozy o 5–25%. Rozdrobienie substratu lignocelulozowego skraca czas fermentacji o 23–59% w stosunku do biomasy nierozdrobnionej. Podczas rozdrabniania nie powstają substancje inhibujące aktywność mikroorganizmów, w tym furfural i hydroksymetylfurfuran (HMF) (Ramos 2003). Procesem, który może wspomóc mechaniczne rozdrabnianie, jest maceracja (rozmaczanie). Maceracja obornika połączona z mechanicznym rozdrabnianiem włókien roślinnych do cząstek o wielkości do 2 mm oraz ok. 0,35 mm zwiększa potencjał produkcji biogazu odpowiednio o 16% i 20%. Energochłonność mielenia lub cięcia ogranicza stosowanie mechanicznego rozdrabniania substratu. Zapotrzebowanie na energię podczas mechanicznego rozdrabniania pozostałości drewna twardego do 1,6 mm wynosi ok. 130 kWh/t, natomiast zmniejszenie rozmiarów słomy kukurydzianej do 1,6 mm wymaga jedynie 14 kWh/t.

Celem traktowania biomasy lignocelulozowej parą lub eksplozją parową jest rozpuszczenie hemicelulozy, zwiększenie enzymatycznej dostępności celulozy oraz ograniczenie tworzenia się inhibitorów. Różnica pomiędzy metodami polega na szybkości zmniejszenia ciśnienia oraz oziębienia biomasy. W procesie z eksplozją parową szybkość wytworzenia podciśnienia w reaktorze powoduje, że woda komórkowa rozrywa strukturę surowca lignocelulozowego (Alizadeh i in. 2005). Podczas reakcji pary z surowcem lignocelulozowym hemiceluloza hydrolizuje do kwasów, które katalizują hydrolizę rozpuszczalnych oligomerów hemicelulozy. Im większa wilgotność masy lignocelulozowej, tym dłuższy czas kontaktu substratu z parą. Lawther i in. (1996) wykazali, że ciśnienie pary na poziomie 2 bar i temperatura 120°C przy czasie kontaktu 300 min nie wpływają na efektywność hydrolizy fermentacji metanowej. Fox i in. (2003) uważają, że stosowanie pary jako metody wstępnego traktowania biomasy lignocelulozowej powoduje tworzenie się zbyt dużej ilości furfuralu, HMF, rozpuszczalnych fenoli. Aby uniemożliwić powstawanie inhibitorów bakterii metanowych, odczyn powinien być utrzymywany w przedziale od 4,0 do 7,0 pH. W tym zakresie odczynu ograniczone jest tworzenie monosacharydów, ale również produktów degradacji, które mogą katalizować hydrolizę celulozy (Mosier i in. 2005).

Pozytywnym efektem traktowania masy lignocelulozowej parą jest usunięcie dużej części hemicelulozy i wzrost dostępności włókien celulozy. Ryzyko stanowi natomiast kondensacja i precypitacja rozpuszczalnych lignin, gdyż wówczas biomasa staje się mniej dostępna dla mikroorganizmów. Traktowanie biomasy lignocelulozowej gorącą wodą prowadzi do rozpuszczenia głównie

hemicelulozy, co zwiększa dostępność celulozy i ogranicza tworzenie się inhibitorów aktywności mikroorganizmów.

Wstępne traktowanie biomasy lignocelulozowej zarówno silnie stężonymi, jak i rozcieńczonymi kwasami w temperaturze otoczenia jest wykorzystywane do upłynnienia hemicelulozy i zwiększenia dostępności celulozy do fermentacji. Upłynnienie hemicelulozy (oligomerów) jest połączone z reakcją hydrolizy do monomerów furfuralu i HMF oraz innych lotnych produktów. Podczas działania kwasem ligniny szybko się kondensują i wytrącają. Upłynnianie hemicelulozy i precypitacja upłynnionych lignin jest bardziej efektywna, gdy działa się stężonymi kwasami. Mikroorganizmy mogą wykorzystać upłynnione składniki lignin, ale istnieje ryzyko, że substancje te będą ograniczały aktywność mikroorganizmów. Stosowanie kwasu siarkowego lub azotowego (V) powoduje, że podczas fermentacji nastąpi ograniczenie produkcji metanu ze względu na redukcje siarczanów i azotanów do H_2S i N_2 . Wstępne traktowanie biomasy lignocelulozowej zasadami prowadzi do uwodnienia i saponifikacji biomasy. Następuje pęcznienie biomasy, co pozwala na łatwą penetrację mikroorganizmom. Stosowanie stężonych zasad powoduje powstawanie niskocząsteczkowych związków, które są łatwo degradowane do CO_2 , ale obniża to ilość dostępnego węgla (Fengel, Wegner 1984). Problemem jest nasycanie biomasy zasadami. Stopień nasycenia zasadą wynosi 3 g NaOH/100 g s.m. Pod wpływem zasad następuje zmiana struktury celulozy do formy bardziej stabilnej niż natywna celuloza. Traktowanie lignin zasadą o stężeniu 1 g/l powoduje inhibicję czasową metanogenezy (Gossett i in. 1982).

Popularnym rozwiązaniem przygotowującym substrat do fermentacji metanowej jest wstępne traktowanie biomasy parą, a następnie dodanie wodorotlenku wapnia (Chang i in. 2001). Proces prowadzono w temperaturze 100–150°C, a dodatek wodorotlenku wapnia wynosił 0,1 g $Ca(OH)_2$ /g substratu. Uzyskano wzrost biodostępności substratu lignocelulozowego, ułatwioną hydrolizę podczas fermentacji. Jak twierdzą Kaar i Holtzaple (2000), wstępne traktowanie wapnem przynosi lepsze efekty w przypadku biomasy o mniejszym udziale lignin. Wynikiem działania nadtlenku wodoru na lignocelulozę jest usunięcie hemicelulozy, lignin oraz zwiększenie dostępności celulozy. Działanie utleniacza nie jest selektywne, powoduje utratę hemicelulozy i celulozy. Istnieje duże prawdopodobieństwo tworzenia się inhibitorów utleniania lignin i rozpuszczalnych substancji aromatycznych (Gould 1984).

Technologia utleniania mokrego to metoda chemicznego tlenowego utleniania biomasy lignocelulozowej. W jej wyniku następuje upłynnianie cukrów do polimerów, w przeciwieństwie do monomerów powstających podczas działania pary lub traktowania lignocelulozy kwasem. Mokre utlenianie prowadzi do tworzenia się kwasów karboksylowych, a nie monomerów fenolowych. Podczas

mokrego utleniania powstają niewielkie ilości furfuralu i HMF. Część hemi-celulozy jest utleniana do ditlenku węgla i wody (Klinke i in. 2002). Traktowanie biomasy lignocelulozowej wysoką temperaturą oraz zasadą wapniową nie zapewnia wystarczającego stopnia usunięcia lignin, stąd dodatkowo wprowadza się tlen (Chang i in. 2001).

Aby zapewnić całoroczną dostępność surowca lignocelulozowego do produkcji biogazu, wymagana jest konserwacja. W tym celu najczęściej stosuje się kiszenie lub suszenie substratu. Pierwsza metoda polega na zakwaszaniu biomasy kwasem mlekowym, produkowanym przez bakterie w procesie fermentacji mlekowej, w celu szybkiego obniżenia odczynu kiszzonego surowca. Przy odpowiednim stężeniu kwasu mlekowego kiszonka nie psuje się i można ją przechowywać, utrzymując warunki beztlenowe. Jednocześnie zahamowany zostaje rozwój bakterii i grzybów powodujących rozpad białek lub wytwarzających inhibitory produkcji biogazu.

W warunkach technicznych, by zwiększyć efektywność upłynniania materiałów włóknistych, stosuje się różnego typu inokula: mikroorganizmy żwacza, wody nadosadowe, odcieki ze składowisk, obornik, kompost, osady ściekowe, czyste bakterie izolowane z reaktorów fermentacyjnych lub środowiska (Zhang, Lynd 2002; Tammali i in. 2003). Kontrolowanie i stymulowanie aktywności konsorcjum mikroorganizmów biorących udział w przemianach beztlenowych wpływa na efektywność stabilizacji i produkcję metanu. Technika, której zastosowanie może zwiększyć wydajność fermentacji metanowej, jest bioaugmentacja polegająca na wprowadzeniu autochtonicznych lub allochtonicznych, dzikich lub zmutowanych szczepów bakterii do reaktora lub środowiska w celu zwiększenia efektywności biodegradacji (Limbergen i in. 1998).

Song i in. (2005) porównali stopień upłynnienia celulozy inokulowanej mikroorganizmami żwacza oraz występującymi w odciekach. Inokulacja mikroorganizmami żwacza przyspieszyła upłynnianie celulozy, szczególnie w przeliczeniu na objętość reaktora. Doświadczenia wskazują, że stopień upłynnienia celulozy zależy od udziału inokulum w fermentowanej masie. Murino i in. (2001) wykazali, że wzrost inokulum powyżej 15% objętości masy fermentowanej nie wpływa na stopień upłynnienia celulozy. W przypadku inokulacji mikroorganizmami odcieków objętość odcieków w stosunku do objętości fermentowanej masy wynosiła 30%. Zatem istotnym parametrem inokulacji jest stosunek objętościowy inokulum do objętości fermentowanej masy.

Jensen i in. (2009) badali wpływ substratu, inokulacji mikroorganizmami żwacza oraz odcieków na stopień upłynnienia celulozy. Obserwowali, że stopień upłynnienia zależy od zdolności mikroorganizmów do tworzenia biofilmu na powierzchni cząsteczek celulozy. Autorzy wykazali, że istnieje korelacja między mikroorganizmami osiadłymi na cząsteczkach celulozy a stopniem

hydrolizy. Również lag faza fermentacji zależała od stopnia adhezji mikroorganizmów do cząsteczek substratu. W tabeli 1 przedstawiono wyniki hydrolizy celulozy w zależności od rodzaju inokulumu.

Tabela 1
Stałe szybkości upłynniania celulozy w zależności od rodzaju i ilości inokulumu (Jensen i in. 2009)

Rodzaj inokulumu	Procentowy udział inokulumu [%]	Stała hydrolizy [1/d]	Lag faza [d]
Odcieki	10	0,32	7,81
	20	0,40	4,22
	100	0,47	1,44
Mikroorganizmy zwacza	1	0,28	1,62
	5	0,32	0,82
	10	0,65	0,62
	20	0,95	0,25

Grupą mikroorganizmów stosowanych jako inokulanty w warunkach fermentacji 2-stopniowej z wydzieloną fazą metanogenną są archeony metanogene. Jest to grupa fizjologiczna beztlenowych chemolitotrofów, produkujących metan jako produkt końcowy beztlenowej degradacji materii organicznej.

Zróżnicowanie substratów sprzyja efektywności fermentacji metanowej i zwiększa bezpieczeństwo dostaw surowca. Wsad do fermentacji powinien zapewnić maksymalną produkcję biogazu, stabilność procesu oraz wykorzystanie masy pozostałej po fermentacji.

Zasadą jest sporządzanie mieszaniny substratów w taki sposób, aby uzyskać konieczne uwodnienie masy fermentacyjnej (w technologii mokrej) oraz wzbogacenie procesu substratami o wyższej wydajności produkcji biogazu niż szeroko dostępne odpady pochodzące z hodowli zwierząt inwentarskich. By proces produkcji biogazu z substratów odpadowych (produkcji rolniczej, spożywczej) był bardziej wydajny, gnojowicę, obornik, wywary przemysłu spożywczego wzbogaca się roślinami energetycznymi lub odpadami zawierającymi tłuszcze (odpady poubojowe). Chociaż odchody z produkcji zwierzęcej są powszechnie wykorzystywane do produkcji energii, to nie zapewniają efektywnej produkcji biogazu ze względu na niedobór węgla (niski stosunek węgla do azotu). C/N gnojowicy świńskiej wynosi 6–8 i zależy od wieku zwierząt. Stosunek ten jest zbyt niski, by fermentacja metanowa była efektywna. Hashimoto (1983) wykazał zalety współfermentacji gnojowicy z odpadami z produkcji roślinnej. Gnojowica ma właściwości buforujące i zawiera substancje mineralne niezbędne mikroorganizmom do przeprowadzenia fermentacji, natomiast biomasa roślinna jest bogata w węgiel, co pozwala na poprawę stosunku C/N i obniża ryzyko inhibicji amoniakiem. Mata-Alvarez i in. (2000) uznali, że działanie synergistyczne substratów

wpływa na potencjał produkcji biogazu. Somayaji, Khanna (1994) prowadzili badania nad sprawnością kofermentacji przy zastosowaniu różnych proporcji gnojowicy bydłowej i słomy pszennej – uzyskali wzrost specyficznej produkcji przy 40% udziale słomy. Callaghan i in. (1999, 2002) w warunkach laboratoryjnych prowadzili wieloskładnikową fermentację obornika bydłowego z odpadami warzywnymi i wykazali, że wzrost udziału odpadów warzywnych nie spowodował wzrostu produkcji metanu. Wu i in. (2010) do kofermentacji wykorzystywali gnojowicę, którą uzupełniali słomą pszeniczną, owsianą lub kolbami kukurydzy, aby założony stosunek C/N wynosił odpowiednio 16:1, 20:1, 25:1. Wprowadzając biomasę roślinną do gnojowicy, uzyskali wyższą produktywność biogazu.

Niejednoznaczne dane literaturowe skłoniły do podjęcia badań nad doborem mieszanin substratów do kofermentacji oraz wyznaczeniem ich produktywności gazowej. W prezentowanej pracy określono produktywności biogazu biomasy lignocelulozowej oraz surowców odpadowych przemysłu rolno-spożywczego. Zaprezentowano wyniki testowania metod wstępnego przygotowania biomasy roślinnej do fermentacji metanowej.

2. Metodyka badań

Badania przeprowadzono w dwóch etapach. W etapie I określono potencjał gazotwórczy biomasy lignocelulozowej oraz surowców odpadowych pochodzących z przemysłu rolno-spożywczego. Analizowano wpływ wstępnego przygotowania biomasy lignocelulozowej na stopień biodostępności związków organicznych w fermentacji metanowej.

W etapie II wyznaczono produktywność gazową mieszanin wybranych substratów odpadowych i roślinnych.

2.1. Organizacja badań w etapie I

Do określenia potencjału gazotwórczego (GP_{21} – ang. *gas production*) wytypowano następujące surowce roślinne: ślazier pensylwański (S), lucerna (L), kukurydza zwyczajna (K) odmiana kiszonkowa LG 3252 – średniowczesna (FAO 250), burak pastewny (B) oraz produkty odpadowe przemysłu rolno-spożywczego, tj. obornik bydłowy (O) oraz wywar gorzelniany (W). Biomasa roślinna pochodziła z gospodarstwa rolnego w Komorowie. W tabeli 2 przedstawiono charakterystykę biomasy lignocelulozowej oraz produktów odpadowych przemysłu rolno-spożywczego, w tym zawartość węgla organicznego (TOC), azotu ogólnego w suchej masie.

Zgodnie z metodyką pomiarów potencjału gazotwórczego, substraty powinny być rozdrobnione do średnicy co najwyżej 10 mm. W celu wyznaczenia produktywności gazowej GP₂₁ próbki biomasy lignocelulozowej zmielono w młynie tnącym SM 100 firmy Retsch do średnicy ziaren poniżej 1 mm. Obornik bydlęcy rozdrobniono w urządzeniu tnącym do średnicy ziaren poniżej 5 mm.

Tabela 2

Charakterystyka biomasy roślinnej oraz produktów odpadowych wykorzystywanych w eksperymencie

Parametr	Jednostka	K	S	L	B	O	W
Zawartość wody	%	60,0	bd	71,8	77,8	84,0	93,3
Straty po prażeniu	% s.m.	91,1	92	83,3	83,4	51,8	74,0
TOC	g/kg m.m.	–	–	–	–	35,4	23,4
	g/kg s.m.	442,4	399,3	435,2	357,8	221,0	349,3
	g/kg s.m.o.	485,7	443,6	522,4	434,2	426,6	472,0
N	g/kg m.m.	–	–	–	–	5,5	4,0
	g/kg s.m.	12,1	36,2	28,9	10,9	34,2	59,1
	g/kg s.m.o.	13,2	39,4	34,7	13,0	65,9	79,9
C/N	g/g	36,6	11,0	15,1	32,8	6,4	5,9
Materiały włókniste							
Celuloza	% s.m.o.	32,5	43	36,5	24,3	–	–
Hemiceluloza	% s.m.o.	14,5	12,5	6,7	9,1	–	–
Ligniny	% s.m.o.	3	8,1	11,1	1,5	–	–
Białko ogólne	% s.m.o.	15,2	7,6	22,3	6,6	–	–
Cukry	% s.m.o.	2,5	3,7	2	28,4	–	–
Inne	% s.m.o.	32,3	25,1	21,4	30,1	–	–

Objaśnienia: K – kiszonka kukurydzy zwyczajnej, S – ślaziowiec pensylwański, L – lucerna, B – kiszonka buraka pastewnego, O – obornik bydlęcy, W – wywar gorzelniany

Pomiar produktywności gazowej testowanych substratów roślinnych i odpadowych – obornika bydlęcego i wywaru gorzelnianego – prowadzono w temperaturze 37°C w warunkach beztlenowych w naczynkach pomiarowym systemie OxiTop. Inokulum stanowił przefermentowany osad ściekowy pochodzący z zamkniętych komór fermentacji. W tabeli 3 zestawiono warunki pomiaru produktywności gazowej. W systemie OxiTop pomiary wykonywano w trzech powtórzeniach w przypadku każdej próbki.

W etapie I badano również efektywność upłynniania substratu roślinnego w wyniku wstępnego mechanicznego lub chemicznego oddziaływania na biomase roślinną. Testowano wpływ mechanicznego rozdrabniania biomasy lignocelulozowej w zakresie od 1 do 10 mm oraz zasady sodowej i kwasu fosforowego na ilość węgla organicznego w fazie ciekłej (tab. 4).

Tabela 3
Warunki pomiaru produkcji gazowej substratów lignocelulozowych, surowców odpadowych pochodzących z przemysłu rolno-spożywczego oraz mieszanin wybranych substratów

Parametr	Warunki pomiaru
Temperatura [°C]	37
Czas pomiaru [d]	21
Obciążenie w reaktorze [mg s.m.o./ml · d]	2
Objętość naczynka pomiarowego OxiTop [ml]	ok. 600
Objętość inokulum [ml]	25

Tabela 4
Organizacja wstępnego przygotowania biomasy roślinnej do fermentacji

Rodzaj biomasy roślinnej	K	L	S	B
Rozdrobnienie surowca [mm]	10 / 4 / 1			
Roztwory hydrolizujące	0,01 M NaOH / 5% H ₃ PO ₄			
Czas inkubacji [h]	0,5 / 1 / 2 / 3 / 4 / 6			
Ilość biomasy [g]	10			
Objętość roztworu hydrolizującego [ml]	90			
Temperatura inkubacji [°C]	37			

Objaśnienia: K – kiszonka kukurydzy zwyczajnej, L – lucerna, S – ślazowiec pensylwański, B – kiszonka buraka pastewnego

Uplynnianie ślazuwca pensylwańskiego, lucerny, kukurydzy zwyczajnej, odmiana kiszonkowa LG 3252 – średniowczesna (FAO 250), buraka pastewnego prowadzono w naczynkach szklanych o pojemności 250 cm³. Hydrolizę przeprowadzono zgodnie z założeniami fermentacji mokrej. Uwodnienie wsadu wynosiło 90%. Zmieszano 10 g s.m. analizowanej biomasy oraz 90 cm³ roztworu hydrolizującego. Do upłynniania biomasy lignocelulozowej zastosowano roztwór 0,01 M NaOH oraz 5% H₃PO₄. Próbki biomasy w roztworze hydrolizującym inkubowano w łaźni wodnej w temperaturze 37°C. Po upływie 0,5, 1, 2, 3, 4 oraz 6 godz. hydrolizy próbki sączono. Próbkę kontrolną stanowił przesącz uzyskany po 1 min wymieszania roślin z roztworem hydrolizującym.

2.2. Organizacja badań w etapie II

Przygotowując mieszaniny substratów, wzięto pod uwagę dane z działalności rolniczej gospodarstwa rolnego w Komorowie (woj. kujawsko-pomorskie) oraz potrzeby gospodarstwa związane z zagospodarowaniem odpadów. Ilości wytwarzanych odpadów w tym gospodarstwie (stan na rok 2012) wynosiły odpowiednio:

- wywar z gorzelnii melasowej – ilość wywaru gorzelnianego po przefermentowaniu 16 t melasy i 5 t kukurydzy wyniosła ok. 67 m³/d;
- obornik bydlęcy – 19,1 t/d;
- kiszonka kukurydzy zwyczajnej – 2000 t/rok (5,5 t/d).

Ilości kiszonki buraka pastewnego wykorzystywane do przygotowania mieszanin przyjęto na tym samym poziomie, co kiszonki kukurydzy zwyczajnej. W tabeli 5 zestawiono skład mieszanin testowanych substratów do współfermentacji metanowej.

Oprócz mieszanin zawierających ilości kiszonek na podstawie ich dobowej produkcji, przetestowano produktywność gazową, zwiększając udział kiszonek w mieszaninie 2-krotnie oraz 4-krotnie. Proporcje pozostałych substratów mieszaniny trójskładnikowej (obornik bydlęcy i wywar gorzelniany) pozostawiono na poziomie dobowej produkcji w gospodarstwie rolnym, jednak ze względu na zwiększenie udziału biomasy roślinnej ich procentowy udział obniżył się.

Tabela 5

Skład mieszanin wykorzystywanych do określenia produktywności biogazowej

Substrat*	K _{6%} /B _{6%}		K _{11,3%} /B _{11,3%}		K _{18,8%} /B _{18,8%}	
	ilość [t/d]	%	ilość [t/d]	%	ilość [t/d]	%
O	19,1	20,9	19,1	19,7	19,1	18,0
W	67,0	73,1	67,0	69,0	67,0	63,2
K/B	5,5	6,0	11,0	11,3	20,0	18,8
Razem	91,6	100	97,1	100	106,1	100

Objaśnienia: K – kiszonka kukurydzy zwyczajnej, B – kiszonka buraka pastewnego, O – obornik bydlęcy, W – wywar gorzelniany

2.3. Metody analityczne

Do określenia potencjału gazowego (GP₂₁) testowanych surowców (etap I) oraz mieszanin surowców (etap II) wykorzystano system OxiTop (WTW, Niemcy). Warunki pomiaru specyficznej produkcji biogazu (test GP₂₁) przyjęto za Heerenklage i Stegmann (2005).

W biomacie roślinnej, oborniku bydlęcym oraz wywarze gorzelnianym oznaczano:

- suchą masę (PN-EN 12880:2004),
- suchą masę organiczną jako straty przy prażeniu (PN-EN 12880:2004).

W wysuszonych próbkach biomasy roślinnej oznaczano:

- cukry proste, metodą antronową (Daniels i in. 1994),
- ligniny metodą van Soest'a (PN-EN ISO 13906:2009),

- TOC analizatorem TOC/SSM-VCSH firmy SHIMADZU,
- azot ogólny Kjeldahla (PN-ISO 11261:2002).

W przesączu uzyskanym podczas upłynnianiu substancji lignocelulozowych oznaczano ilość węgla całkowitego (TC), równoznaczną ilości węgla organicznego (TOC). TOC oznaczano analizatorem TOC-VCSH firmy SHIMADZU.

2.4. Metody obliczeniowe

Szybkość upłynniania substancji lignocelulozowych (r_H , mg TOC/dm³ · h) w roztworze hydrolizującym obliczono z równania:

$$r_H = (C_{K,TOC} - C_{P,TOC}) \cdot k_H$$

którego rozwiązanie analityczne ma postać:

$$C_{t,TOC} = C_{k,TOC} \cdot (1 - e^{k_H t}) + C_{p,TOC}$$

$C_{k,TOC}$ – stężenie końcowe TOC, po czasie inkubacji	[mg TOC/dm ³]
$C_{p,TOC}$ – stężenie początkowe TOC w roztworze	[mg TOC/dm ³]
k_H – stała szybkości upłynniania	[h ⁻¹]
$C_{t,TOC}$ – stężenie TOC po inkubacji, po czasie t	[mg TOC/dm ³]
T – czas	[h]

Do określenia maksymalnej potencjalnej ilości biogazu, wytwarzanej przez mikroorganizmy zastosowano równanie 1. rzędu.

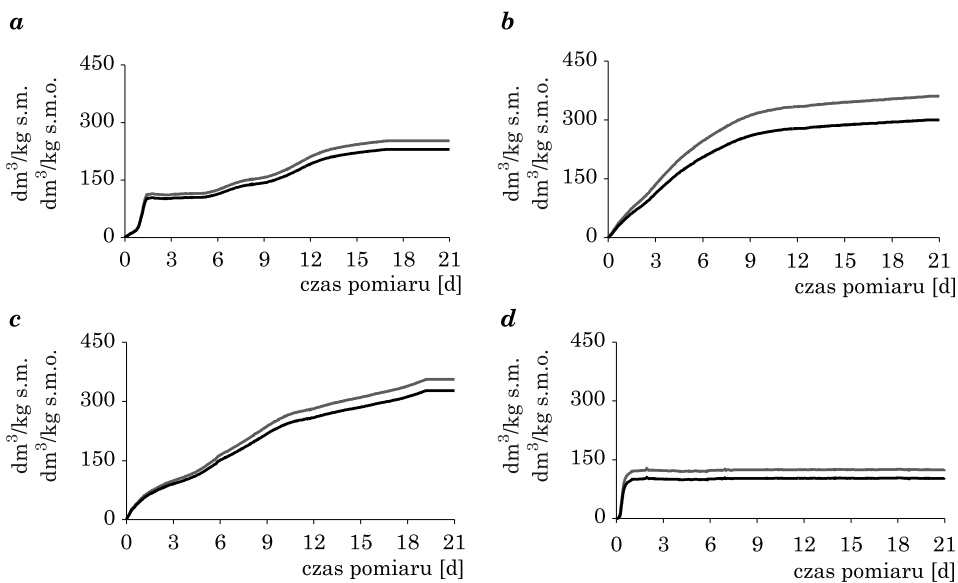
$$C_t = C_0 \cdot (1 - e^{-k \cdot t})$$

C_t – ilość biogazu wyprodukowana z jednostki masy substratów po czasie t	dm ³ /kg s.m. dm ³ /kg s.m.o.
C_0 – potencjalna produkcja biogazu z jednostki masy substratów	dm ³ /kg s.m. dm ³ /kg s.m.o.
k – stała szybkości produkcji biogazu	d ⁻¹
t – czas	d

3. Wyniki

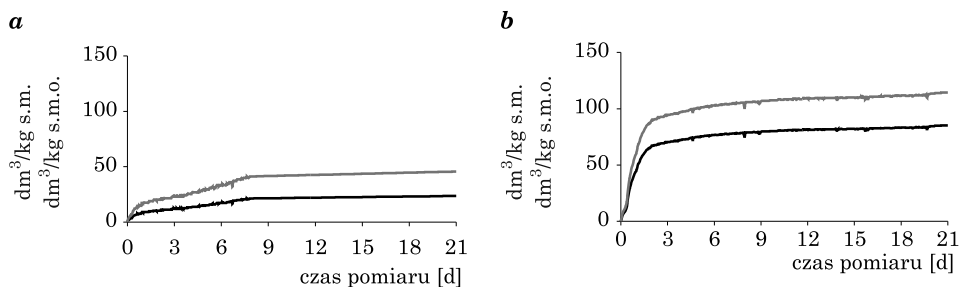
3.1. Produktywność gazowa substratów

W etapie I na podstawie średnich zmian ciśnienia gazu następujących w wyniku beztlenowej biodegradacji biomasy roślinnej wyznaczono potencjalną produkcję biogazu biomasy lignocelulozowej oraz surowców odpadowych pochodzących z przemysłu rolno-spożywczego w przeliczeniu na kg suchej masy oraz masy organicznej. Produktywność gazową ($\text{dm}^3/\text{kg s.m.o.}$) biomasy lignocelulozowej podczas 21 dni stabilizacji beztlenowej przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Przebieg produkcji biogazu podczas 21 dniowej stabilizacji beztlenowej (GP_{21}) – $\text{dm}^3/\text{kg s.m.o.}$, – $\text{dm}^3/\text{kg s.m.}$ a – kukurydza zwyczajna, b – lucerna, c – ślázowiec pensylwański, d – burak pastewny

Najwyższym potencjałem gazotwórczym charakteryzował się ślázowiec pensylwański, natomiast najniższym burak pastewny. Potencjalna produkcja biogazu z kilograma suchej masy ślázowca pensylwańskiego i buraka pastewnego wynosiła odpowiednio ok. 330 dm^3 i 100 dm^3 biogazu/kg s.m. (387 $\text{dm}^3/\text{kg s.m.o.}$, 125 $\text{dm}^3/\text{kg s.m.o.}$). Wyniki wskazują na nieznaczną produktywność gazową obornika bydlęcego ze słomą rzepaczną oraz melasowego wywaru gorzelnianego (rys. 2). Ilość powstającego biogazu z wywaru gorzelnianego wynosiła 85 $\text{dm}^3/\text{kg s.m.}$ Z obornika bydlęcego uzyskano ponad 3,5-krotnie niższą produktywnością gazową niż z wywaru gorzelnianego.



Rys. 2. Przebieg produkcji biogazu podczas 21-dniowej stabilizacji beztlenowej (GP₂₁) – dm³/kg s.m.o.,
– dm³/kg s.m. a – obornik bydlęcy, b – wywar gorzelniany

3.2. Wstępne przygotowanie biomasy lignocelulozowej do stabilizacji beztlenowej

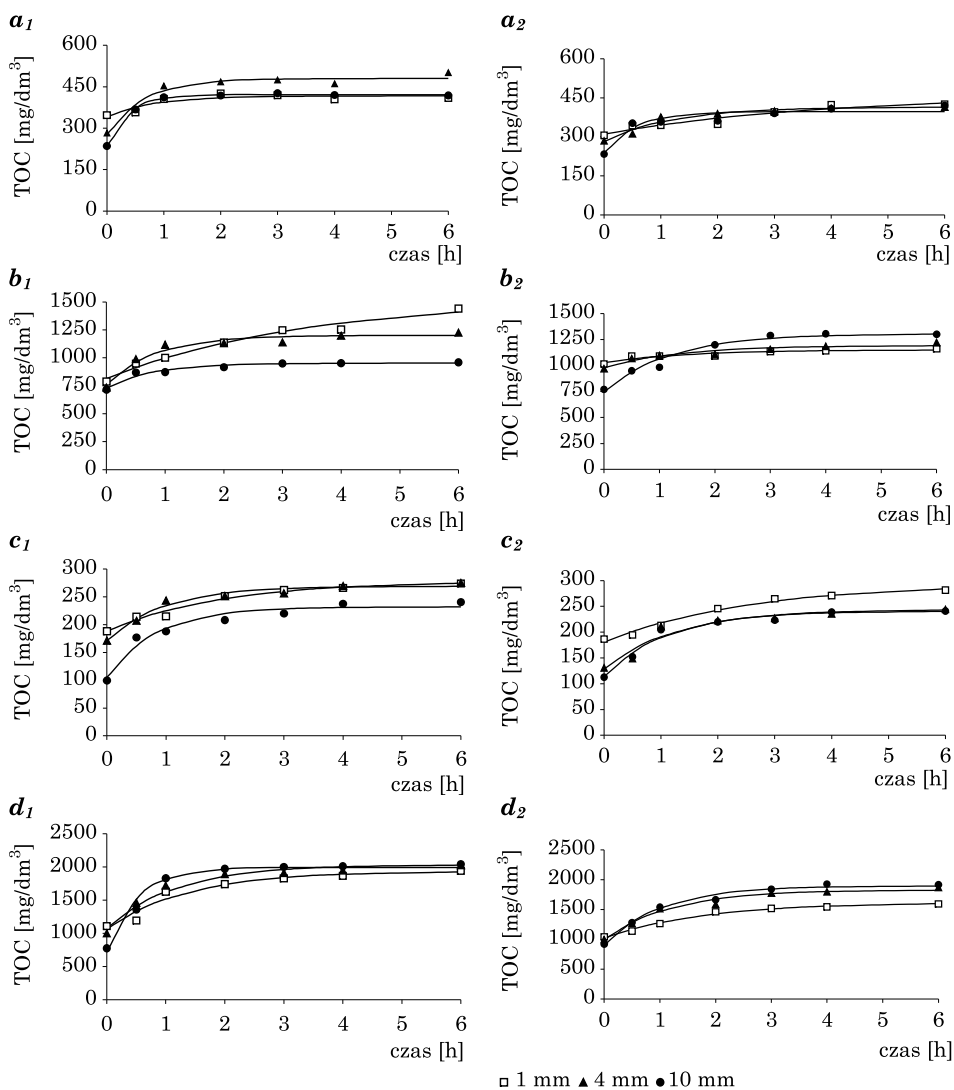
Początkowe stężenie węgla organicznego w cieczy po zmieszaniu próbek biomasy roślinnej z roztworami hydrolizującymi 0,01 M NaOH oraz 5% H₃PO₄ (t=0 h) zależało od rodzaju roślin (rys. 3). Najwyższe stężenia TOC w czasie t=0 h uzyskano w hydrolizacie lucerny oraz buraka w granicach od 720 do 900 mg TOC/dm³. Najniższe stężenie początkowe na poziomie 90–200 mg TOC/dm³ oznaczono w hydrolizacie ślazuwca pensylwańskiego. Końcowe stężenie TOC w hydrolizacie zależało również od rodzaju biomasy lignocelulozowej. Najwyższe stężenia TOC po 6 godz. inkubacji odnotowano w hydrolizacie buraka pastewnego z 0,01 M NaOH na poziomie ok. 1940–2070 mg TOC/dm³, natomiast najniższe – 235–280 mg TOC/dm³ w przypadku ślazuwca pensylwańskiego bez względu na zastosowany roztwór hydrolizujący.

Po wstępnym traktowaniu biomasy roślinnej metodami mechaniczno-chemicznymi najefektywniej upłynnianie, określane na podstawie wzrostu stężenia TOC w hydrolizacie, następowało w pierwszych 2 godz. inkubacji biomasy roślinnej z roztworami hydrolizującymi. W kolejnych godzinach nie odnotowano znaczącego wzrostu stężenia węgla organicznego. Przyjęto, że 2-godzinny czas inkubacji, jako etap wstępnego przygotowania testowanej biomasy roślinnej, powinien być wystarczający do zwiększenia ilości węgla organicznego rozpuszczonego dostępnego do fermentacji.

Obserwowano, że im bardziej rozdrabniano biomasę lignocelulozową, tym wyższe było początkowe stężenie węgla organicznego w hydrolizacie. Rozdrobnienie biomasy roślinnej w zakresie od 1 mm do 10 mm nie wpływało na ilość dostępnego węgla organicznego po 6 godz. inkubacji (rys. 3).

Jedynie w próbkach lucerny upłynnianej 0,01 M NaOH oraz ślazuwca pensylwańskiego hydrolizowanego 5% H₃PO₄ obserwowano wzrost ilości

dostępnego węgla organicznego odpowiednio z 950 do 1440 mg TOC/dm³ oraz z 240 do 320 mg TOC/dm³ ze stopniem rozdrobnienia z 10 do 1 mm. Niezależnie od czynnika hydrolizującego 0,01 M NaOH lub 5% H₃PO₄ nie uzyskano znaczących różnic w efektywności upłynnienia biomasy roślinnej.



Rys. 3. Zmiany stężenia węgla organicznego (TOC) podczas upłynnienia biomasy roślinnej w zależności od stopnia rozdrobnienia oraz roztworu hydrolizującego (*a*₁-*d*₁ - NaOH, *a*₂-*d*₂ - H₃PO₄) *a*₁-*a*₂ - kukurydza zwyczajna, *b*₁-*b*₂ - lucerna, *c*₁-*c*₂ - ślazioiec pensylwański, *d*₁-*d*₂ - burak pastewny

Trudno jednoznacznie wskazać, który z testowanych roztworów hydrolizujących należałoby zastosować podczas wstępnego przygotowania biomasy lignocelulozowej. W przypadku kukurydzy zwyczajnej oraz buraka pastewnego końcowe stężenia TOC w hydrolizacie z NaOH po 6 godz. hydrolizy było wyższe, niż gdy stosowano H_3PO_4 . Końcowe stężenie TOC po wstępnym przygotowaniu ślazuwca pensylwańskiego oraz lucerny było na zbliżonym poziomie bez względu na stosowany roztwór hydrolizujący (rys. 3).

Stałe szybkości upłynniania (k_H) oraz szybkości upłynniania biomasy roślinnej (r_H) uzyskane w zależności od stopnia rozdrobnienia oraz rodzaju roztworu hydrolizującego zestawiono w tabeli 6.

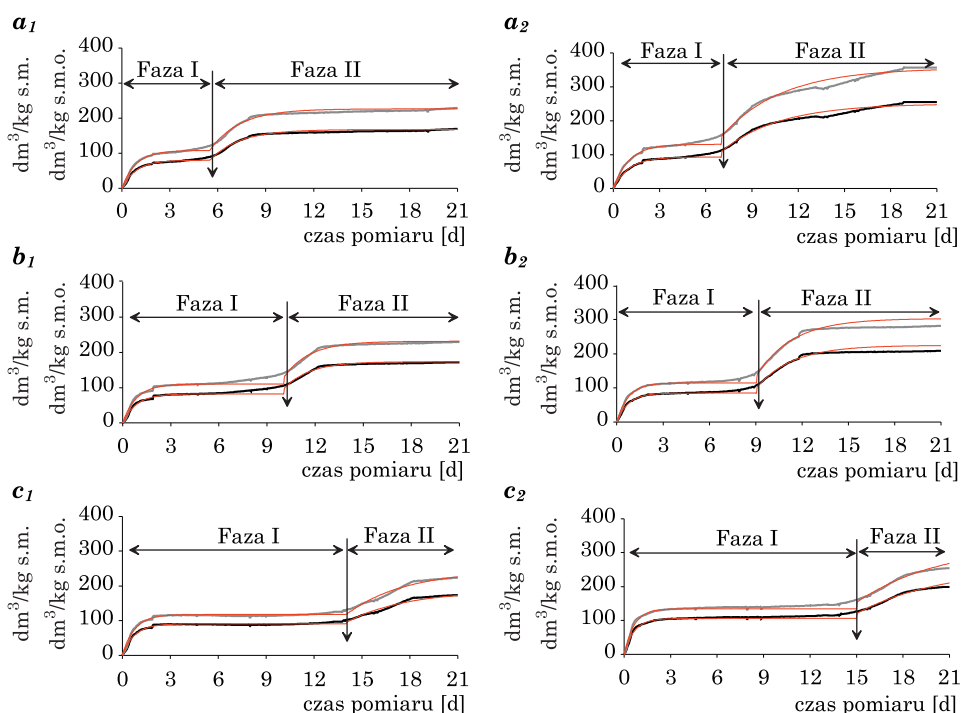
Niezależnie od stosowanego roztworu hydrolizującego stałe szybkości reakcji oraz szybkości upłynniania wzrastały wraz ze zwiększaniem się średnicy cząstek biomasy roślinnej. Stałe szybkości upłynniania zmieniały się w granicach 0,26 do 2,58 h^{-1} , natomiast szybkość upłynniania biomasy pozostała w zakresie od 46 $mg\ TOC/dm^3 \cdot h$ w przypadku kukurydzy rozdrobnionej do wielkości 1 mm i hydrolizowanej 5% H_3PO_4 do 2746 $mg\ TOC/dm^3 \cdot h$ w przypadku buraka rozdrobnionego do 10 mm i hydrolizowanego 0,01 M NaOH.

Tabela 6
Stałe szybkości reakcji (k_H) oraz szybkości reakcji upłynniania substancji lignocelulozowych (r_H) w zależności od stopnia rozdrobnienia oraz roztworu hydrolizującego

Substrat	Średnica [mm]	Roztwór hydrolizujący	k_H [h^{-1}]	r_H [$mg\ TOC/dm^3 \cdot h$]
Kukurydza	1	0,01 M NaOH	1,18	98
		5% H_3PO_4	0,26	46
	4	0,01 M NaOH	1,52	342
		5% H_3PO_4	0,83	123
	10	0,01 M NaOH	2,58	536
		5% H_3PO_4	1,79	315
Lucerna	1	0,01 M NaOH	0,29	232
		5% H_3PO_4	0,67	91
	4	0,01 M NaOH	1,17	567
		5% H_3PO_4	0,75	179
	10	0,01 M NaOH	1,27	536
		5% H_3PO_4	0,83	518
Ślazuwec pensylwański	1	0,01 M NaOH	0,52	52
		5% H_3PO_4	0,39	50
	4	0,01 M NaOH	1,02	111
		5% H_3PO_4	0,78	112
	10	0,01 M NaOH	1,18	166
		5% H_3PO_4	0,90	113
Burak	1	0,01 M NaOH	0,72	702
		5% H_3PO_4	0,56	371
	4	0,01 M NaOH	0,85	907
		5% H_3PO_4	0,84	762
	10	0,01 M NaOH	1,94	2746
		5% H_3PO_4	0,97	1068

3.3. Produktywność gazowa podczas kofermentacji

W etapie II wyznaczono produktywność gazową (GP_{21}) mieszaniny substratów, tj. obornika bydlęcego, wywaru gorzelnianego oraz kiszonki kukurydzy lub buraka. Udział biomasy roślinnej w mieszaninie odpadów zwiększono z ok. 6% do ok. 19%, zachowując proporcje dobowej produkcji wywaru gorzelnianego i obornika w gospodarstwie. Podczas 21 dni stabilizacji beztlenowej mieszaniny substratów wyróżniono dwie fazy produkcji biogazu (rys. 4).



Rys. 4. Przebieg produkcji biogazu podczas 21-dniowej stabilizacji beztlenowej (GP_{21}) mieszaniny obornika, wywaru gorzelnianego oraz kiszonki kukurydzy/buraka – $\text{dm}^3/\text{kg s.m.o.}$, – $\text{dm}^3/\text{kg s.m.}$, model 1. rzędu, a_1 – $K_{6\%}$, a_2 – $B_{6\%}$, b_1 – $K_{11,3\%}$, b_2 – $B_{11,3\%}$, c_1 – $K_{18,8\%}$, b_2 – $B_{18,8\%}$

Wzrost udziału kiszonek kukurydzy lub buraka pastewnego w mieszaninie fermentacyjnej powodował wydłużenie I fazy produkcji biogazu. Przy najniższym udziale kiszonki kukurydzy ($K_{6\%}$, $B_{6\%}$) w mieszaninie fermentacyjnej faza I trwała 5,5 d, w przypadku kiszonki buraka – 7 d. Wzrost udziału biomasy roślinnej w mieszaninie fermentacyjnej do ok. 19% ($K_{18,8\%}$, $B_{18,8\%}$) spowodował wydłużenie I fazy produkcji biogazu do 14 d i 15 d od-

powiednio w mieszaninach z udziałem kiszonki kukurydzy i buraka pastewnego (tab. 7). W I fazie produkcji biogazu, kiszonki kukurydzy i buraka ulegały hydrolizie i kwasogenezie, natomiast biogaz powstawał najprawdopodobniej z wykorzystaniem substratów pochodzących z przemian dwóch pozostałych składników mieszaniny, tj. obornika i wywaru gorzelnianego. W II fazie produkcji biogazu mikroorganizmy wykorzystywały produkty octanogenezy oraz wodór i ditlenek węgla wytworzone z dostępnego węgla organicznego składników mieszaniny fermentacyjnej, stąd wzrost produktywności biogazu. Faza I produkcji biogazu charakteryzowała się wyższymi (k_1) w stosunku do fazy II (k_2) wartościami stałych produkcji biogazu. Również szybkość produkcji biogazu w fazie I (r_1) była od dwu- do kilkukrotnie wyższa niż w fazie II (r_2) (tab. 7).

Tabela 7

Parametry kinetyczne produkcji biogazu z mieszanin obornika, wywaru gorzelnianego oraz kiszonek kukurydzy zwyczajnej (K) lub buraka pastewnego (B)

Parametr	Jednostka	K _{6%}	K _{11,3%}	K _{18,8%}	B _{6%}	B _{11,3%}	B _{18,8%}
Max. produkcja biogazu fazy I	dm ³ /kg s.m.	90,7	105,9	101,7	112,7	107,6	126,5
	dm ³ /kg s.m.o.	122,6	141,3	131,1	158,1	145,2	161,1
Stała szybkości produkcji biogazu	(k_1) d ⁻¹	1,14	1,18	1,31	0,99	1,36	1,58
Czas fazy I	(t_1) [d]	5,5	10,0	14,0	7,0	9,0	15,0
Szybkość produkcji biogazu (r_1)	dm ³ /kg s.m. · d	91,3	97,5	119,4	92,1	115,3	167,2
	dm ³ /kg s.m.o. · d	123,3	129,9	153,9	129,1	155,7	212,9
Max. produkcja biogazu fazy II	dm ³ /kg s.m.	169,7	171,9	173,1	254,7	208,4	199,2
	dm ³ /kg s.m.o.	229,3	229,2	223,04	357,2	281,3	253,7
Stała szybkości produkcji biogazu	(k_2) d ⁻¹	0,54	0,63	0,27	0,26	0,43	0,18
Czas fazy II	(t_2) [d]	15,5	11,0	7,0	14,0	12,0	6,0
Szybkość produkcji biogazu (r_2)	dm ³ /kg s.m. · d	46,4	47,1	24,3	36,4	52,4	24,3
	dm ³ /kg s.m.o. · d	62,7	62,7	33,9	54,0	70,7	30,9

Maksymalna produkcja biogazu uzyskana podczas 21-dniowej stabilizacji beztlenowej (test GP₂₁) mieszaniny obornika, wywaru gorzelnianego oraz kiszonki kukurydzy bez względu na udział kiszonki kukurydzy w mieszaninie po fazie I i fazie II pozostawała na zbliżonym poziomie: odpowiednio ok. 130 dm³/kg s.m.o. oraz ok. 230 dm³/kg s.m.o. Maksymalna produkcja biogazu mieszaniny obornika, wywaru gorzelnianego oraz kiszonki buraka wynosiła ok. 150 dm³/kg s.m.o., natomiast w fazie II maksymalna produkcja biogazu obniżała się z 357,2 do 253,7 dm³/kg s.m.o. wraz ze wzrostem ilości kiszonki buraka w mieszaninie.

4. Dyskusja

Biomasa roślinna z plantacji roślin energetycznych oraz odpady z przemysłu rolno-spożywczego wydają się być obiecującym substratem zasilającym instalacje do fermentacji metanowej. W istniejących biogazowniach, głównie w Niemczech, wykorzystuje się kiszonkę kukurydzy, buraka czy traw, zaś inne produkty odpadowe w zależności od indywidualnych potrzeb gospodarstwa.

W prezentowanych badaniach do analizy produktywności biogazu wybrano cztery surowce roślinne, tj. ślázowiec pensylwański, lucernę, kukurydzę zwyczajną i buraka pastewnego oraz dwa produkty odpadowe przemysłu rolno-spożywczego, tj. obornik bydlęcy oraz wywar gorzelniany. Przy wykorzystywaniu biomasy roślinnej bogatej w substancje lignocelulozowe w procesach fermentacji metanowej należy wziąć pod uwagę jej charakterystykę. Dane literaturowe wskazują, że celuloza, hemiceluloza oraz ligniny stanowią ok. 90% suchej masy (Dehkhoda 2008). Udział celulozy wynosi od 30 do 60% suchej masy surowca. Produktem rozpadu celulozy jest glukoza, cukier o sześciu atomach węgla (Frigon i in. 2011). Hemiceluloza to od 20 do 40% całkowitej suchej masy surowca. Ksyloza i arabinoza są pięciowęglowymi monomerami budującymi hemicelulozę, natomiast galaktoza, glukoza i mannoza – sześciowęglowymi. Hemicelulozy są łatwiej hydrolizowane niż celulozy ze względu na charakter amorficzny wynikający z rozgałęzionej budowy (Lee i in. 2007). Udział lignin w materiale lignocelulozowym wynosi od 15 do 25% s.m. Zawartość lignin w przeliczeniu na suchą masę w drzewach iglastych i liściastych mieści się w przedziale 20–40% i 10–40% w różnych pozostałościach roślin, takich jak kolby kukurydzy, łuski ryżowe czy słoma (Yaman 2004).

W prezentowanych badaniach wykorzystano substraty roślinne w postaci kiszzonek oraz roślin zielonych pochodzących bezpośrednio ze zbiorów. Wykazano, że najwyższym udziałem substancji organicznych, powyżej 90% s.m., charakteryzowała się kiszzonka kukurydzy. Zawartość węgla organicznego (TOC) kształtowała się na poziomie od ok. 360 mg TOC/kg s.m. (burak pastewny) do ok. 440 g TOC/kg s.m. (kukurydza zwyczajna). Najwyższą zawartość azotu w biomacie – 2,89% (28,9 g N/kg s.m.) wykazywała lucerna, najniższy udział azotu na poziomie 1,2% stwierdzono w sianokiszonce kukurydzy. Udział celulozy w biomacie roślinnej wykorzystywanej w badaniach zmieniał się od 24,3% s.m.o do 43%, przy czym najniższy stwierdzono w buraku pastewnym, natomiast najwyższy w ślázowcu pensylwańskim. Najniższy udział hemicelulozy (6,7–14,5% s.m.o.) oraz lignin (1,5–11,1% s.m.o.) występował w lucernie oraz buraku pastewnym. Wyniki badań własnych wskazują, że przy stosowanej ilości inokulum najwyższy potencjał

gazotwórczy posiadał ślázowiec pensylwański z pierwszego pokosu, zawierający mniej części zdrewniałych, natomiast najniższy – burak pastewny, odpowiednio ok. 330 dm³ i 100 dm³ biogazu (387 dm³/kg s.m.o., 125 dm³/kg s.m.o.). Ze względu na dużą zawartość cukru w buraku pastewnym nagromadzenie się lotnych kwasów tłuszczowych w procesie hydrolizy może wpływać na obniżenie pH i hamująco na produkcję biogazu.

Efektywne wykorzystanie potencjału energetycznego substancji lignocelulozowych wymaga zastosowania obróbki wstępnej. Jedną z technik wstępnego przygotowania biomasy roślinnej jest rozdrabnianie mechaniczne, które zmniejsza krystaliczność materiałów lignocelulozowych. Podczas hydrolizy następuje otaczanie substancji lignocelulozowych zawartych w biomacie przez cząsteczki rozpuszczalnika, co prowadzi do uwalniania związków węgla w procesie solwatacji. Solwatacja powoduje pęcznienie substancji lignocelulozowych i czyni je bardziej dostępnymi dla enzymów i bakterii podczas procesu fermentacji metanowej, co znacznie wpływa na wydajność tego procesu (Laureano-Perez i in. 2005). W prezentowanych badaniach do wstępnego przygotowania biomasy lignocelulozowej stosowano zasadę sodową o stężeniu 0,01 M oraz kwas fosforowy 5%. Biomase rozdrabniano w zakresie od 10 do 1 mm. Hydrolizę prowadzono w temperaturze 37°C. Wykazano, że stężenie TOC w hydrolizacie zależało od rodzaju roślin. Najwyższe stężenia związków organicznych w formie rozpuszczonej na poziomie ok. 1600–2040 mg TOC/dm³ po założonym czasie inkubacji odnotowano w hydrolizacie buraka pastewnego z 0,01 M NaOH, natomiast najniższe – 240–280 mg TOC/dm³ w przypadku ślázowca pensylwańskiego bez względu na zastosowany roztwór hydrolizujący. Frigon i in. (2011) analizowali wpływ mechaniczno-chemicznego przygotowania biomasy roślinnej na wydajność produkcji biogazu. Podczas 3 godz. upłynniania substancji lignocelulozowych NaOH (7 g/dm³) w temperaturze 35°C wartość węgla organicznego w hydrolizacie z roślin zbieranych zimą wzrosła z 65 mg TOC/dm³ do 3435 mg TOC/dm³, natomiast z traw zbieranych latem z 214 mg TOC/dm³ do 1204 mg TOC/dm³. Autorzy wykazali, że wydajność produkcji biogazu z traw zebranych zimą, rozdrobnionych oraz upłynnianych NaOH wynosiła 132,5 dm³/kg świeżej kiszonki. Natomiast wydajność produkcji biogazu z roślin zebranych latem była 2-krotnie wyższa i osiągnęła wartość 256,6 dm³/kg świeżej kiszonki. Pakarinen i in. (2009) porównywali produkcję biogazu z kiszzonek traw bez obróbki wstępnej oraz po wstępnym przygotowaniu w systemach jedno- oraz dwustopniowych. Kiszonkę tymotki łąkowej oraz kostrzewy łąkowej rozdrobnili do średnicy 1–2 cm, uwodnili do 95% oraz poddali obróbce wstępnej 1% NaOH w temperaturze 20°C przez 24 godz. Ilość węgla uwolniona do hydrolizatu wynosiła 7,6 g, co stanowiło 80% wartości początkowej.

Wielkość cząstek substratów lignocelulozowych poddawanych stabilizacji beztlenowej wpływa na szybkość fermentacji beztlenowej, ponieważ zwiększa się dostępność powierzchni. Mshandete i in. (2006) wykazali, że spadek średnicy z 100 mm do 2 mm sprzyjał degradacji włókien zawartych w sianokiszonkach liści agawy sizalowej, co poprawiało wydajność produkcji metanu o 23%. Z kolei Angelidaki i Ahring (2000) podają, że proces rozdrabniania połączony z maceracją sprzyja degradacji włókien oraz zwiększa rozpuszczalność związków lignocelulozowych zawartych w oborniku, podnosząc tym samym wydajność produkcji biogazu. Stwierdzono, że spadek średnicy włókien z 50 mm do 2 mm zwiększał potencjał produkcji biogazu o 16%, natomiast rozdrobnienie włókien z 50 mm do średnicy 0,35 mm powodowało wzrost produkcji biogazu o 20%. Autorzy nie wykazali istotnego wpływu rozdrobnienia na produkcję biogazu. Delgenés i in. (2002) stwierdzili, że mechaniczna obróbka wstępna zmniejsza wielkość cząsteczek oraz ich krystaliczność, prowadząc do wzrostu dostępnej powierzchni właściwej oraz zmniejsza stopień polimeryzacji (DP). Wzrost powierzchni właściwej oraz zmniejszenie polimeryzacji to czynniki, które zwiększały całkowitą wydajność hydrolizy substancji lignocelulozowych o 5–25%. Rozdrobnienie biomasy przed chemiczną obróbką skracało czas hydrolizy od 23 do 59%. Chang i Holtzaple (2000) wykazali, że mechaniczne rozdrabnianie biomasy poniżej 40 mm ma niewielki wpływ na ilość węgla uwolnionego podczas upłynniania oraz tempo hydrolizy.

W prezentowanych badaniach wykazano wpływ rozdrobnienia na początkową ilość węgla rozpuszczonego w czasie $t=0$ h, najniższy udział TOC w hydrolizacie oznaczono, gdy biomasa roślinna była rozdrobniona do średnicy 10 mm, natomiast najwyższy udział, gdy rozdrobnienie było na poziomie 1 mm. Nie obserwowano wpływu rozdrobnienia biomasy lignocelulozowej w zakresie 1–10 mm na ilość węgla rozpuszczonego podczas upłynniania roztworami hydrolizującymi 0,01 M NaOH oraz 5% H_3PO_4 w temperaturze 37°C. W przypadku hydrolizy ślazuwca pensylwańskiego oraz kukurydzy udział TOC w formie rozpuszczonej w czasie $t=0$ h wynosił odpowiednio od 2,5 do 4,7% oraz od 5,3 do 7,8% dostępnego TOC, pochodzącego z biomasy roślinnej wykorzystywanej w badaniach. Podczas hydrolizy nastąpił wzrost rozpuszczonego TOC jedynie o kilka procent. Udział węgla rozpuszczonego w czasie $t=0$ h podczas hydrolizy buraka pastewnego oraz lucerny stanowił odpowiednio od 21 do 31% oraz od 16,4 do 23,3% dostępnego węgla. Ilość węgla w hydrolizacie buraka wzrastała z 0,01 M NaOH do ponad 57% całkowitej ilości TOC zawartej w roślinie oraz do 33% w hydrolizacie lucerny również z 0,01 M NaOH.

Lin i in. (2009) stwierdzili, że stężenie związków węgla uwolnionych do roztworu po działaniu NaOH o stężeniach 0,3%, 0,6% oraz 1,2% w temperaturze 37°C wzrosło o 81,6%, 88% oraz 92% w stosunku do biomasy lignocelulozowej niepoddawanej hydrolizie. Produktywność biogazu biomasy

lignocelulozowej bez obróbki wstępnej była na poziomie 150 dm³/kg, oraz 250, 300 i 310 dm³/kg biomasy lignocelulozowej traktowanej odpowiednio 0,3%, 0,6%, 1,2% NaOH. Z kolei Zhu i in. (2010) obserwowali, że wraz ze wzrostem stężenia NaOH z 1% do 7,5% następuje wzrost degradacji lignin z 9,1% do 46,2%. Wykazali również, że wysokie stężenie wodorotlenku sodu powoduje zwiększenie produkcji lotnych kwasów tłuszczowych. Najwyższą produkcję biogazu na poziomie 380 dm³/kg uzyskali w przypadku substratu poddanego hydrolizie z wykorzystaniem 5% NaOH.

Zheng i in. (2009) stwierdzili, że 3-dniowe trawienie słomy kukurydzianej 2% NaOH w temperaturze 20°C powoduje skrócenie 80-dniowego czasu degradacji substancji lignocelulozowych o 34,6%. Całkowita produkcja biogazu wzrosła o 73% w stosunku do substratu niepoddawanego wstępnej obróbce. Zhong i in. (2011) porównywali chemiczne metody wstępnego przygotowania słomy kukurydzianej i ich wpływ na zwiększenie biodostępności substancji lignocelulozowych do fermentacji metanowej oraz określili potencjał gazotwórczy analizowanego substratu. Substrat poddano hydrolizie 8% NaOH, 5% NH₄Cl oraz 4% mocznika. Najniższy potencjał produkcji biogazu na poziomie 100 dm³/kg s.m. wykazywała słoma kukurydziana wstępnie hydrolizowana mocznikiem. Największy potencjał gazotwórczy na poziomie 350 dm³/kg s.m. uzyskano z substratu wstępnie traktowanego 8% NaOH. Wstępna obróbka substratu spowodowała wzrost biodostępności węgla i ponad 2-krotny wzrost efektywności produkcji biogazu w stosunku do substratu bez wstępnego przygotowania. Według Hartmann i in. (2000) biomasa rozdrobniona do średnicy 1 mm utrudnia odzyskiwanie substancji organicznych uwolnionych w procesie hydrolizy, co ogranicza ilość węgla mikroorganizmom biorącym udział w fermentacji metanowej.

W prezentowanych badaniach odniesiono się do produktywności gazowej mieszaniny trójskładnikowej, tj. buraka pastewnego lub kukurydzy zwyczajnej oraz produktów odpadowych przemysłu rolno-spożywczego – obornika bydłęcego i wywaru gorzelnianego. Wyróżniono dwie fazy produkcji biogazu. Wzrost udziału biomasy lignocelulozowej w mieszaninie fermentacyjnej wpływał na wydłużenie pierwszej fazy produkcji biogazu: w przypadku kukurydzy zwyczajnej do 14 d, natomiast w przypadku buraka pastewnego do 15 d. Związki organiczne zawarte w roślinach są trudniej dostępne dla mikroorganizmów i muszą ulec przetworzeniu, zanim zostaną włączone bezpośrednio w przemianę fazy metanogenezy. Skład chemiczny buraka pastewnego wskazuje na dużą zawartość węglowodanów na poziomie 28,4% s.m.o., które są łatwo dostępnym substratem mikroorganizmów metanogennych. Ze względu na niekorzystny stosunek C/N podczas fermentacji następuje nadmierna produkcja lotnych kwasów tłuszczowych, co prowadzi do zakwaszenia (pH ok. 4,5) i produktywności gazowej na poziomie ok. 100 dm³/kg s.m. W mieszaninie

z obornikiem bydłowym i wywarem gorzelnianym, w której uzupełniono niedobory azotu, uzyskano wyższą produktywność niż w przypadku, gdy biomasę roślinną stanowiła kukurydza zwyczajna.

5. Podsumowanie

Wykorzystanie potencjału energetycznego biomasy roślinnej i odpadów przemysłu rolno-spożywczego wymaga wstępnego przygotowania i doboru składu mieszanin do fermentacji metanowej. Testowano efektywność wstępnego przygotowania substratu lignocelulozowego w wyniku rozdrabniania i hydrolizy słabymi roztworami NaOH i H₃PO₄. Wykazano, że im większy stopień rozdrobnienia biomasy lignocelulozowej, tym wyższe początkowe stężenie węgla organicznego w hydrolizacie. Stężenie początkowe i końcowe TOC w hydrolizacie zależało od rodzaju biomasy. Ze względu na podobny przebieg upłynniania biomasy lignocelulozowej trudno wskazać, który z testowanych roztworów hydrolizujących należałoby stosować do wstępnego przygotowania substratu.

Wykazano, że skład mieszanin do fermentacji (wyrażony C/N) jest istotnym czynnikiem wpływającym na produktywność gazową. Pomimo że w kiszonce buraka pastewnego udział łatwo dostępnych węglowodanów był na poziomie 28,4% s.m.o., to nagromadzenie się lotnych kwasów tłuszczowych w procesie hydrolizy powodowało obniżenie pH i działało hamująco na produkcję biogazu. Uzupełnienie składu mieszany obornikiem oraz wywarem gorzelnianym poprawiło 2–3-krotnie efektywność wytwarzania biogazu w stosunku do samej kiszonki buraka pastewnego. Jednak wraz ze wzrostem udziału buraka pastewnego w mieszaninie całkowita produktywność gazowa mieszany malała.

Literatura

- Alizadeh H., Teymouri F., Gilbert T.I., Dale B.E. 2005. *Pretreatment of switchgrass by ammonia fiber explosion (AFEX)*. Appl. Biochem. Biotechnol., 121–124: 1133–1141.
- Angelidaki I., Ahring B.K. 2000. *Methods for increasing the biogas potential from the recalcitrant organic matter contained in manure*. Water Sci. Technol., 41: 189–194.
- Benjamin M.M., Woods S.L., Ferguson J.F. 1984. *Anaerobic toxicity and biodegradability of pulp mill waste constituents*. Water Res., 18(5): 601–607.
- Callaghan F.J., Wase D.A.J., Thayanithy K., Forster C.F. 1999. *Co-digestion of waste organic solids: batch studies*. Bioresour. Technol., 67: 117–122.
- Callaghan F.J., Wase D.A.J., Thayanithy K., Forster C.F. 2002. *Continuous codigestion of cattle slurry with fruit and vegetable wastes and chicken manure*. Biomass Bioenerg., 22: 71–77.
- Chang V.S., Holtzaple M.T. 2000. *Fundamental factors affecting enzymatic reactivity*. Appl. Biochem. Biotechnol., 30: 5–37.
- Chang V.S., Nagwani M., Kim C., Holtzaple T. 2001. *Oxidative lime pretreatment of high-lignin biomass*. Appl. Biochem. Biotechnol., 94: 1–28.

- Daniels L., Hanson R.S., Phillips J.A. 1994. *Metabolism. Chemical analysis*. In: Gerhardt P., Wood W.A. (eds.). *Methods for general and molecular bacteriology*. American Society for Microbiology, Washington: 512–554.
- Dehkhoda A. 2008. *Concentrating lignocellulosic hydrolysate by evaporation and its fermentation by repeated fedbatch using flocculating Saccharomyces cerevisiae*. Master Thesis. Industrial Biotechnology Boras University and SEKAB E-Technology, Sweden.
- Delgenés J.P., Penaud V., Moletta R. 2002. *Pretreatments for the enhancement of anaerobic digestion of solid wastes* Chapter 8. In: *Biomethanization of the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes*. IWA Publishing: 201–228.
- Fengel D., Wegener G. 1984. *Wood: chemistry, ultrastructure, reactions*. De Gruyter. Berlin.
- Fox M.H., Noike T., Ohki T. 2003. *Alkaline subcritical-water treatment and alkaline heat treatment for the increase in biodegradability of newsprint waste*. Water Sci. Technol., 48(4): 77–84.
- Frigon J.C., Mehta P., Guiot S.R. 2011. *Impact of mechanical, chemical and enzymatic pre-treatments on the methane yield from the anaerobic digestion of switchgrass*. Biomass Bioenerg., 21: 1–11.
- Gossett J.M., Stuckey D.C., Owen W.F., Mccarty P.L. 1982. *Heat treatment and anaerobic digestion of refuse*. J. Environ. Eng. Div., 108: 437–454.
- Gould J.M. 1984. *Alkaline peroxide delignification of agricultural residues to enhance enzymatic saccharification*. Biotechnol. Bioeng., 26: 46–52.
- Hashimoto A.G. 1983. *Conversion of straw – manure mixtures to methane at mesophilic and thermophilic temperatures*. Biotechnol. Bioeng., 25: 185–200.
- Hartmann H., Angelidaki I., Ahring B.K. 2000. *Increase of anaerobic degradation of particulate organic matter in full-scale biogas plants by mechanical maceration*. Water Sci. Technol., 41: 145–15.
- Heerenklage J., Stegmann R. 2005. *Analytical methods for the determination of the biological stability of waste samples*. Institute of Waste Management.
- Jensen P.D., Hardin M.T., Clarke W.P. 2009. *Effect of biomass concentration and inoculum source on the rate of anaerobic cellulose solubilization*. Biores. Technol., 100: 5219–5225.
- Kaar W.E., Holtzapple M.T. 2000. *Using lime pretreatment to facilitate the enzymatic hydrolysis of corn stover*. Biomass Bioenergy, 18(3): 189–199.
- Klinke H.B., Ahring B.K., Schmidt A.S., Thomsen A.B. 2002. *Characterization of degradation products from alkaline wet oxidation of wheat straw*. Bioresour. Technol., 82(1): 15–26.
- Ladicsh M.R., Lin K.M., Voloch M., Tsao G.T. 1983. *Process considerations in the enzymatic hydrolysis of biomass*. Enzyme Microb. Technol., 5: 82–102.
- Laureano-Perez L., Teymouri F., Alizadeh H., Dale B.E. 2005. *Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass*. Appl. Biochem. Biotechnol., 16: 1081–1099.
- Lawther J.M., Sun R., Banks W.B. 1996. *Effect of steam treatment on the chemical composition of wheat straw*. Holzforschung, 50: 365–371.
- Lechner B.E., Papinutti V.L. 2006. *Production of lignocellulosic enzymes during growth and fruiting of the edible fungus Lentinus tigrinus on wheat straw*. Process Biochemistry, 4: 5945–988.
- Lee D., Owens V.N., Boe A., Jeranyama P. 2007. *Composition of herbaceous biomass feedstocks*. South Dakota State University Publication.
- Limbergen H. van, Top E.M., Verstraete W. 1998. *Bioaugmentation in activated sludge: current features and future perspectives*. App. Microbiol. Biotechnol., 50: 16–23.
- Lin Y., Wang D., Wu S., Wang C. 2009. *Alkali pretreatment enhances biogas production in the anaerobic digestion of pulp and paper sludge*. J. Hazard. Mat., 170: 366–373.
- Mshandete A., Bjornsson L., Kivaisi A.K., Rubindamayugi M.S.T., Mattiasson B. 2006. *Effect of particle size on biogas yield from sisal fibre waste*. Renewable Energy, 31: 2385–2392.
- Mosier N., Hendrickson R., Ho N., Sedlak M., Ladisch M.R. 2005. *Optimization of pH controlled liquid hot water pretreatment of corn stover*. Bioresour. Technol., 96: 1986–1993.
- Mourino F., Akkarawongsa R., Weimer P.J. 2001. *Initial pH as a determinant of cellulose digestion rate by mixed ruminal microorganisms in vitro*. J. Dairy Sci., 84(4): 848–859.
- Pakarinen O.M., Tähti H.P., Rintala J.M. 2009. *One-stage H₂ and CH₄ and two-stage H₂+CH₄ production from grass silage and from solid and liquid fractions of NaOH pre-treated grass silage*. Biomass Bioenergy, 33: 1419–1427.

- Ramos L.P. 2003. *The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials*. Quim. Nova., 26(6): 863–871.
- Somayaji D., Khanna S. 1994. *Biomethanation of rice and wheat-straw*. World J. Microbiol. Biotechnol., 10: 521–523.
- Song H.H., Clarke W.P., Blackall L.L. 2005. *Concurrent microscopic observations and activity measurements of cellulose hydrolyzing and methanogenic populations during the batch anaerobic digestion of crystalline cellulose*. Biotechnol. Bioeng., 91(3): 369–378.
- Tammali R., Seenayya G., Reddy G. 2003. *Fermentation of cellulose to acetic acid by Clostridium lentocellum SG6: induction of sporulation and effect of buffering agent on acetic acid production*. Letters App. Microb., 37(4): 304–308.
- Wu X., Yao W., Zhu J., Miller C. 2010. *Biogas and CH₄ productivity by co-digesting swine manure with three crop residues as an external carbon source*. Bioresour. Technol., 101: 4042–4047.
- Yaman S. 2004. *Pyrolysis of biomass to produce fuels and chemical feedstocks*. Energy Convers. Manage., 45: 651–671.
- Yoshida H., Tokumoto H., Ishii K., Ishii R. 2009. *Efficient, high-speed methane fermentation for sewage sludge using subcritical water hydrolysis as pretreatment*. Bioresour. Technol., 100: 2933–2939.
- Zhang Y.H., Lynd L.R. 2002. *Cellulose utilization by Clostridium thermocellum*. Abstracts of Papers of the American Chemical Society 223: U133.
- Zheng M., Li X., Li L., Yang X., He Y. 2009. *Enhancing anaerobic biogasification of corn stover through wet state NaOH pretreatment*. Bioresour. Technol., 100: 5140–5145.
- Zhu J., Wan C., Li Y. 2010. *Enhanced solid-state anaerobic digestion of corn stover by alkaline pretreatment*. Bioresour. Technol., 101: 7523–7528.

ROZDZIAŁ 5

Termochemiczne metody przetwarzania lignocelulozy na surowiec do produkcji biogazu

Thermochemical methods of converting lignocellulose to raw material for biogas production

Dariusz Kardaś, Marek Klein, Sylwia Polesek-Karczewska

Zakład Energii Odnawialnych,

Instytut Maszyn Przepływowych PAN im. Roberta Szwalskiego w Gdańsku

Słowa kluczowe: hydroliza, eksplozja pary, ślazowiec pensylwański, biomasa, produkcja biogazu.

Key words: hydrolysis, steam explosion, Virginia Mallow, biomass, biogas production.

Streszczenie

Reakcja hydrolizy polisacharydów w wodzie przebiega bardzo długo. Skutecznym środkiem jej przyspieszania i pełnego przeprowadzenia jest zastosowanie katalizatorów, szczególnie w połączeniu z podwyższeniem temperatury procesu. Najczęściej stosowanymi katalizatorami hydrolizy są kwasy mineralne oraz ługi. Gwałtowne rozprężenie wody i spowodowane tym nagłe jej odparowanie, zwane wybuchem pary (ang. *steam explosion*), jest procesem termiczno-mechanicznym dodatkowo wspomagającym hydrolizę. Sprężenie zjawisk fizycznych z chemicznymi umożliwia szybszy i bardziej efektywny rozkład struktur lignocelulozowych drewna. Celem opracowania jest analiza procesu termochemicznego przetwarzania biomasy lignocelulozowej na surowiec do produkcji biogazu, bazująca na badaniach eksperymentalnych przeprowadzonych dla ślazowca pensylwańskiego.

Summary

Hydrolysis of polysaccharides with water is a very slow reaction. The effective way to accelerate and perform the complete reaction is to use catalysts and, simultaneously, to increase the process temperature. The most commonly catalysts applied in thermal hydrolysis pre-treatment are mineral acids and bases. Rapid water expansion resulting in its abrupt vaporization, the so called steam explosion, is a thermochemical process that assist in the hydrolysis reaction. Coupling the physical and chemical phenomena enables faster and more effective decomposition of lignocellulosic wood structures. The aim of the research reported herein was to analyze the thermochemical process of lignocellulosic biomass treatment focusing on obtaining the feedstock material for biogas production. The study is based on experimental tests, performed for Virginia Mallow.

1. Wstęp

Biomasa lignocelulozowa jest surowcem powszechnie dostępnym, o ogromnych zasobach – roczny przyrost masy w samej Polsce szacuje się na dziesiątki milionów ton. Kwestie bezpieczeństwa energetycznego, redukcji emisji gazów

cieplarnianych oraz odnawialny charakter biomasy jako źródła energii i surowca do produkcji biopaliw spowodowały istotny rozwój tematyki badawczej w zakresie różnych sposobów konwersji biomasy. Ponieważ biopaliwa pierwszej generacji wytwarzane są z surowców żywnościowych, wzrosło zainteresowanie biopaliwami drugiej generacji (lignocelulozowymi), których wykorzystanie na cele energetyczne nie zagraża bezpośrednio rynkowi żywności.

Biopaliwa drugiej generacji wytwarzane są z tańszej i powszechnie dostępnej biomasy (np. rośliny energetyczne, drewno) i mogą stać się alternatywą dla paliw kopalnych – pod warunkiem znaczącej redukcji kosztów oraz nakładu energetycznego w procesie ich produkcji. Przez zastosowanie termochemicznych metod przetwarzania, takich jak hydroliza kwasowa w podwyższonej temperaturze i ciśnieniu, biomasa tego typu może stać się surowcem do produkcji paliw drugiej generacji. Aby to mogło nastąpić, konieczna jest jej wstępna obróbka, polegająca na zwiększeniu porowatości materiału, rozdzielaniu głównych składników biomasy (celulozy, hemicelulozy i ligniny), usunięciu ligniny, a w końcu na rozłożeniu celulozy i hemicelulozy na cukry proste (Lynd 1996; Mosier i in. 2005). Uzyskanie cukrów prostych jest możliwe przez zastosowanie dwóch następujących metod przetwarzania:

- 1) chemicznych – z wykorzystaniem hydrolizy kwasowej i zasadowej,
- 2) termicznych (ang. *hydrothermal pretreatment*) – z użyciem wody lub pary wodnej podczas podgrzewu biomasy.

Często obie te metody stosuje się łącznie, poprzedzając je mechanicznym rozdrobieniem podawanego materiału oraz stosując wcześniejsze namaczanie biomasy w wodzie lub rozcieńczonym roztworze kwasu, a kończąc gwałtowną ekspansją wody (*flashing*) jako ostatnim elementem procesu (Sorensen i in. 2008). Warunkiem skuteczności metod chemicznych jest wcześniejsze rozdrobienie biomasy (cięcie, mielenie) do kawałków o rozmiarach rzędu kilku milimetrów. Koszt rozdrobienia biomasy może przy tym wynosić do 1/3 całości nakładów energetycznych w procesie jej przygotowania. Hosseini i Shah 2009 zaproponowali optymalizację energetyczną tego procesu (poprzez oszacowanie rozmiarów kawałków biomasy) z zastosowaniem metod modelowania wielkoskalowego oraz z uwzględnieniem dyfuzji wody/pary do biomasy. Jako narzędzie zastosowali równania transportu masy we wnętrzu cząstek różnego rodzaju biomasy. Przyjęli, że czas potrzebny na podgrzanie zrębka drzewnego jest o parę rzędów wielkości krótszy niż czas dyfuzji wody/pary do cząstki oraz czas hydrolizy, ograniczając opis procesu do trzech etapów: dyfuzji wody do cząstki, reakcji oraz dyfuzji cukrów rozpuszczalnych na zewnątrz cząstki. Wykazali, że optymalizacja rozmiarów materiału lignocelulozowego może prowadzić do zwiększenia efektywności fizykochemicznych metod jego obróbki nawet do 50%. Zastosowanie hydrolizy w połączeniu z eksplozją pary ma na celu zwiększenie efektywności przetwarzania lignocelulozy w substrat do

wytwarzania biogazu. Efekty fizyczne wspomagają zatem zjawiska chemiczne na poziomie poszczególnych molekuł poprzez zmiany struktury biomasy, poprawiając dostępność wody i katalizatorów do podstawowych elementów komórek biomasy. Stosowanie wody i pary wodnej jako czynnika wspomagającego przetwarzanie biomasy lignocelulozowej w surowiec do fermentacji jest wygodnym rozwiązaniem ze względu na ogólną dostępność wody i jej niski koszt. Jednakże podgrzewanie wody jest stosunkowo kosztowne ze względu na jej dużą pojemność cieplną.

Celem opracowania jest analiza procesu termochemicznego przetwarzania biomasy lignocelulozowej na surowiec do produkcji biogazu, bazująca na badaniach eksperymentalnych przeprowadzonych dla ślazuwca pensylwańskiego, ze szczególnym uwzględnieniem wpływu przemiany fazowej wody w parę na produkty procesu.

2. Struktura lignocelulozy

Biomasa lignocelulozowa jest najbardziej rozpowszechnionym rodzajem biomasy, zaś najpopularniejszymi surowcami należącymi do tej grupy są drewno i trawa. Biomasa ta cechuje się niejednorodną, strukturalną budową, co doskonale obrazuje przykład drewna, w którym łatwo można rozpoznać promieniście ułożone słoje. Drewno posiada nie tylko budowę niejednorodną, ale także porowatą. Składa się z różnych tkanek, spośród których najważniejsze, w zależności od rodzaju drewna, są włókna drzewne, naczynia lub cewki.

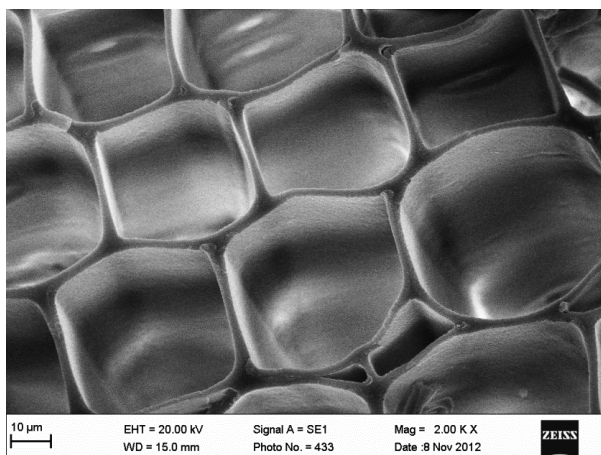
Grubościenne włókna drzewne, wypełnione wodą lub powietrzem, stanowią główną część masy drzewnej i pełnią w zasadzie funkcję wzmacniającą strukturę roślin. Cewki mają budowę zbliżoną do włókien, jednak ich podstawowym zadaniem jest przewodzenie wody i rozpuszczonych w niej związków mineralnych. Wszystkie te elementy mają podłużne kształty, zaś w przypadku roślin zdrewniałych są dodatkowo wewnątrz puste, a przestrzenie te może wypełnić woda.

Podstawowym elementem budulcowym drewna liściastego są włókna drzewne o okrągłym lub wielobocznym przekroju poprzecznym. Ich długość wynosi od 0,7 do 1,8 mm, średnica od 0,02 do 0,05 mm, zaś stosunek długości do średnicy to ok. 35. Kolejnym typem tkanek, charakterystycznym dla drewna liściastego, są naczynia o kształcie cylindrycznym długości od 0,2 do 1,3 mm i średnicy od 0,03 do 0,5 mm. Stosunek długości do średnicy naczyń jest mniejszy niż w przypadku włókien i waha się od 2,6 do 7.

W przypadku drewna iglastego podstawowymi komórkami są cewki o wrzecionowatym kształcie, będące w przekroju poprzecznym czworobokami o rozmiarach boków od 0,02 do 0,07 mm. Długość cewek waha się od 2 aż do 10 mm,

co daje stosunek długości do średnicy od 100 do 140 (Budownictwo ogólne 2005).

Na rysunku 1 przedstawiono fragment przekroju poprzecznego sosny obserwowany pod mikroskopem elektronowym, na którym wyraźnie widoczna jest struktura cewek.



Rys. 1. Struktura przekroju poprzecznego sosny

Głównym składnikiem biomasy lignocelulozowej są włókna celulozowe, stanowiące 40–50% suchej masy (Balat i in. 2008) i to one decydują o jej właściwościach mechanicznych. Ściany komórek biomasy, zbudowane z mikrowłókien celulozy, są w stanie przetrwać duże obciążenia. Badania Kompella i Lambrosa (2002) nad określeniem właściwości mechanicznych pojedynczych włókien celulozy o długości kilku milimetrów i dziesiątkach mikronów szerokości wykazały średnią wartość współczynnika Younga na poziomie 2GPa, zaś wytrzymałość na rozciąganie pojedynczego włókna celulozy (wzdłużnie) równą 164 MPa, co jest wartością porównywalną z wytrzymałością stali węglowej. Jeszcze większą wytrzymałością mechaniczną cechują się np. włókna celulozowe lnu o długości 10 mm, dla których współczynnik Younga wynosi średnio ok. 37 GPa, zaś wytrzymałość na rozciąganie jest średnio na poziomie 650 MPa (Thomason i in. 2011).

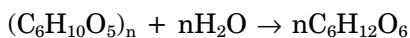
3. Hydroliza lignocelulozy

Hydroliza to reakcja między wodą a substancją chemiczną w niej rozpuszczoną. Polega na rozpadzie cząsteczki tejże substancji z jednoczesnym przyłączeniem się cząsteczek wody do powstających związków. Reakcja ta przebiega

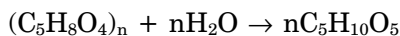
korzystnie w podwyższonej temperaturze, dlatego proces prowadzi się często z wykorzystaniem gorącej wody lub pary wodnej. Dodatkowo stosuje się wodę pod zwiększonym ciśnieniem (ang. *LHW* – *liquid hot water pretreatment, autocatalysis*), zaś zakres temperatury, do której zostaje ona podgrzana, jest dość szeroki, choć najczęściej temperatura ta sięga 200–230°C (na linii nasyce-
nia). Poddawaną hydrolizie biomasę całkowicie zanurza się w wodzie, a następ-
nie umieszcza w dolnej części reaktora wsadowego. Typowy czas procesu
wynosi kilkanaście minut. Możliwe jest również zastosowanie jedynie pary
wodnej pod wysokim ciśnieniem (typowo: ok. 1,5 MPa) oraz umieszczenie
biomasy w górnej części reaktora. Efektem procesu jest mechaniczne znisz-
czenie struktury komórkowej biomasy oraz degradacja chemiczna, polegająca
na rozkładzie cukrów złożonych do cukrów prostych.

Wspomniane powyżej metody termiczne przygotowania biomasy (ciśnienie
ok. 1,5 MPa; temperatura do 200–230°C) mają na celu zmianę jej struktury
poprzez rozkład ligniny przy zachowaniu hemicelulozy. Kryterium jakości tego
procesu jest wysoki procent konwersji polocukrów w monocukry.

Laser i in. (2002) dokonali porównania skuteczności obu wariantów przygo-
towania biomasy (LHW oraz para wodna) w temperaturze 170–230°C na
przykładzie wycieków trzciny cukrowej. Stwierdzili, że ogólna skuteczność obu
wariantów jest porównywalna, przy czym LHW pozwala na uzyskanie większej
ilości kwasu. Reakcję hydrolizy polisacharydów można przedstawić za pomo-
cą następujących ogólnych równań:



gdzie heksozany przechodzą w heksozy oraz



gdzie substratem są pentozany a produktem pentozy.

W wodzie hydroliza polisacharydów przebiega bardzo długo. W celu przy-
spieszenia i pełnego przeprowadzenia reakcji stosuje się katalizatory, których
skuteczność jest wysoka szczególnie w podwyższonej temperaturze (Wojciecho-
wski 1955). Katalizatory zmieniają szybkość reakcji, choć nie wchodzą w skład
końcowych produktów. W reakcjach hydrolizy jako katalizatory stosuje się
kwasy mineralne. Najbardziej efektywnie działają: kwas solny, azotowy i siar-
kowy. Z kolei aktywność kwasów organicznych jest bardzo niska w porównaniu
z aktywnością kwasów mineralnych, stąd ich zastosowanie jest niecelowe
(Wojciechowski 1955).

Efektywność hydrolizy zależy również od szybkości nagrzewania i chłodzenia materiału wsadowego. Z uwagi na fakt, iż proces ten przebiega w wodzie, której współczynnik przewodzenia λ w temperaturze 100°C jest wielokrotnie większy (0,68 W/(m K)) od współczynnika przewodzenia ciepła gazu (np. dla powietrza w podobnej temperaturze wynosi on 0,03 W/(m K)), procesy transportu ciepła zachodzą szybciej niż w gazie. Różna szybkość nagrzewania powoduje powstawanie innych produktów.

4. Eksplozja pary

W badaniach przetwarzania biomasy lignocelulozowej, omówionych szczegółowo poniżej, oprócz hydrolizy wspomaganej działaniem wody o wysokim ciśnieniu i temperaturze stosuje się również metodę termochemiczną, polegającą na ekspansji pary (SEP, ang. *steam explosion process*). Proces termicznego przetwarzania lignocelulozy może być skojarzony z przemianą fazową podczas gwałtownej dekompresji mieszanki wsadu i wody. Na przestrzeni ostatnich dwóch dekad wykonano szereg badań pod kątem wykorzystania metody SEP do przetwarzania różnego typu biomasy (zrębki drzewne, słoma) na potrzeby produkcji bioetanolu (Dekker 1991; Avella i Scoditti 1998; Chen i in. 2011) oraz pozyskiwania włókien celulozowych o dużej wytrzymałości mechanicznej na cele produkcji różnych materiałów konwencjonalnych (pulpa, papier) i zaawansowanych (kompozyty polimerowe) (Focher i in. 1998). Przeprowadzono również analizę eksperymentalną wpływu eksplozji pary na proces delignifikacji drewna (Laser i in. 2002).

Wybuch pary jest przemianą fazową, która może intensyfikować proces rozkładu lignocelulozowych komórek drewna przez gwałtowną ekspansję pary w materiale porowatym, jak też przez ogrzewanie parą oraz hydrolizę wiązań glikozydowych przez kwasy organiczne powstałe w trakcie procesu. Proces składa się z dwóch oddzielnych etapów: krakingu parą i wybuchowej dekompresji. Efektem obu tych etapów jest modyfikacja właściwości fizycznych materiału (powierzchnia, zdolność zatrzymywania wody, kolor, wskaźnik krystaliczności celulozy). Proces z zastosowaniem eksplozji pary wodnej prowadzi się w temperaturze od 200°C, korzystne jest także utrzymanie tej temperatury przez 2–10 min. Gdy w zbiorniku reaktora zawierającym gorącą wodę dochodzi do rozprężenia na skutek zmiany ciśnienia, zapewnione są dogodne warunki do gwałtownego wrzenia, zaś objętość cieczy (wody) zawartej w zbiorniku drastycznie wzrasta. Jednocześnie gwałtowny wzrost objętości wody wypełniającej przestrzenie komórkowe powoduje rozerwanie ich ścianek, a tym samym zniszczenie struktury.

W swojej pracy Hosseini i Shah (2009) przyjęli, że model procesu przetwarzania biomasy, zachodzącego w metodzie ekspansji pary, składa się z następujących procesów cząstkowych:

- 1) ogrzewania cząstek biomasy do założonej temperatury,
- 2) dyfuzji protonów do biomasy (jeśli proces odbywa się w środowisku kwaśnym),
- 3) dyfuzji wody/pary do biomasy,
- 4) hydrolizy hemicelulozy,
- 5) dyfuzji rozpuszczonych cukrów z cząstek biomasy do otoczenia.

Następnie stwierdzili, że decydujące znaczenie w całym procesie mają etapy 3–5. Jednakże, w swej analizie teoretycznej nie uwzględnili jakichkolwiek efektów mechanicznych wpływu ekspansji pary na strukturę cząstek biomasy.

W związku z powyższym – w ramach przeprowadzonych badań doświadczalnych, których wyniki są przedmiotem niniejszego opracowania – bazując na obserwacjach mikroskopowych, dokonano analizy wpływu parametrów procesu hydrolizy, a w szczególności eksplozji pary, na zmianę struktury komórkowej rozważanej biomasy.

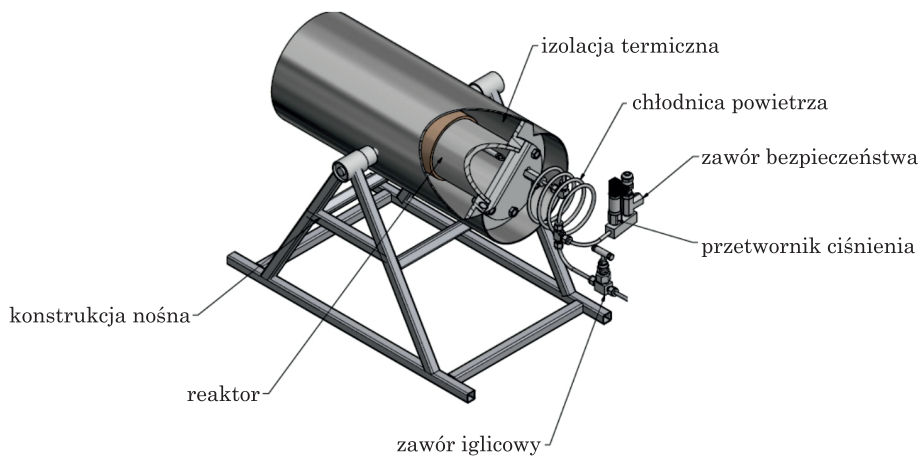
5. Badania eksperymentalne

5.1. Stanowisko badawcze

Hydrolizę ślazuwca pensylwańskiego prowadzono na instalacji badawczej (rys. 2), w której skład wchodzi:

- reaktor ciśnieniowy z płaszczem grzejnym o mocy 1000 W,
- chłodnica,
- przetwornik ciśnienia,
- zawór bezpieczeństwa (3 MPa),
- instalacja szybkiego rozprężania pary wodnej,
- pulpit sterowniczy,
- rejestrator temperatury i ciśnienia (odczyt i zapis wartości co 3 s),
- kalorymetr do oznaczania wartości energetycznej biomasy,
- wagosuszarka do analizy wilgotności.

Za pomocą pulpitu sterowniczego możliwe było ustawienie maksymalnej temperatury złoża, dopuszczalnej temperatury ścianek, a także ciśnienia w reaktorze (poprzez włączanie lub wyłączenie nagrzewania reaktora).



Rys. 2. Reaktor do przeprowadzania hydrolizy biomasy

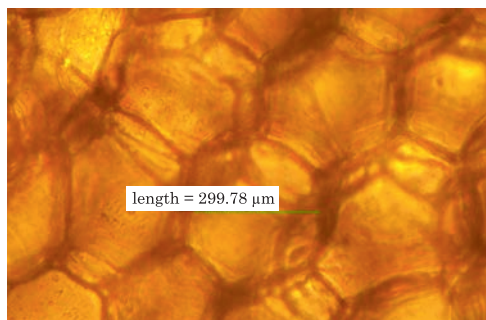
5.2. Charakterystyka surowca i opis procesu hydrolizy

Do badania wpływu parametrów procesu termochemicznego na materiał lignocelulozowy wybrano ślazowiec pensylwański (rys. 3), którego łodyga składa się z łyka otoczonego cienką warstwą korową.



Rys. 3. Ślazowiec pensylwański będący przedmiotem badań

Jak pokazały obserwacje pod mikroskopem optycznym, łyko ślazowca w przekroju poprzecznym ma strukturę przypominającą plaster miodu (rys. 4). Ścianki komórek, zbudowane z włókien celulozy i hemicelulozy, są stosunkowo cienkie – mają grubość ok. 2 μm .



Rys. 4. Struktura przekroju ślazuwca pensylwańskiego – obraz pod mikroskopem optycznym w powiększeniu 200-krotnym

Hydroliza ślazuwca przeprowadzona została dla dwóch różnych stopni rozdrobnienia: próbki pocięto na kawałki o długości ok. 9 cm oraz ok. 3 cm (rys. 3).

W ramach badań hydrolizy wielowariantowej przeprowadzono 12 eksperymentów różniących się parametrami termodynamicznymi procesu, rodzajem katalizatora, zawartością wilgoci w próbkach używanych w eksperymentach oraz sposobem redukcji ciśnienia. Każda próbka zawierała znaną liczbę większych i mniejszych fragmentów ślazuwca, 500 g wody oraz w części eksperymentów dodatkowo kwas siarkowy (VI) lub wodorotlenek potasu (10 g 96% H_2SO_4 lub 10 g bezwodnego KOH). Część próbek została wysuszona w temperaturze $105^\circ C$, do pozostałych eksperymentów użyto zaś próbek o dużej zawartości wilgoci (próbki zanurzono w wodzie na 24 godz. przed przeprowadzeniem eksperymentu).

Oprócz zmienności spowodowanej stosowaniem kwasu bądź zasady, podstawowa różnica pomiędzy poszczególnymi próbkami polegała na sposobie prowadzenia hydrolizy – proces realizowano poprzez szybką dekompresję reaktora bądź też poprzez przetrzymywanie próbki w wysokiej temperaturze i pod wpływem podwyższonego ciśnienia. W eksperymentach z eksplozją pary po osiągnięciu temperatury ok. $200^\circ C$ i ciśnienia 2,7 MPa zawór reaktora otwierano, uzyskując w ciągu 2 s gwałtowne zmniejszenie ciśnienia do ciśnienia atmosferycznego. Następnie do reaktora dodawano $0,5 dm^3$ wody w celu zapobiegnięcia całkowitemu wysuszeniu próbki, co mogłoby doprowadzić do jej rozkładu termicznego w kontakcie z nagrzaną ścianką reaktora.

W obu sposobach prowadzenia procesu hydrolizy reaktor pozostawiano do ostygnięcia, a następnie wyciągano jego zawartość, oddzielając pozostałość stałą oraz hydrolizat. Pozostałość stałą suszono, ważono i poddawano obserwacjom mikroskopowym, hydrolizat zaś po przefiltrowaniu odparowywano w celu zważenia suchej pozostałości, a następnie rozpuszczano w $1 dm^3$ wody destylowanej i poddawano analizie na zawartość cukrów.

Część prób polegała na hydrolizie w wodzie pod wysokim ciśnieniem, a część zakończona została rozprężaniem pary wodnej. Podczas eksperymentów jako katalizator stosowano rozcieńczony kwas H_2SO_4 i zasadę KOH. Jednakże część prób wykonywana była bez katalizatora.

Zbilansowanie masy produktu dla procesu było utrudnione ze względu na zmianę stanu skupienia biomasy podczas hydrolizy, jak również z uwagi na dalszą obróbkę hydrolizatu, np. odparowywanie do suchej masy, a także ze względu na utratę części pozostałości stałej i hydrolizatu w przypadku eksperymentów z eksplozją pary. Z tego powodu bilans masy przedstawiono w formie zestawienia ubytku masy wsadu oraz masy pozostałości stałej w hydrolizacie do masy wsadu dla poszczególnych eksperymentów bez eksplozji pary (rys. 6).

5.3. Analiza mikroskopowa

Próbki ślazuwca pensylwańskiego zarówno przed, jak i po procesie hydrolizy poddano obserwacjom mikroskopowym. Do analizy użyto mikroskopu optycznego (NIKON Eclipse, o maks. powiększeniu $\times 1000$) oraz skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM Zeiss EVO-40, maks. powiększenie $\times 10^6$).

W celu przeprowadzenia obserwacji pod mikroskopem optycznym łądęę ślazuwca pocięto poprzecznie skalpelem na cienkie plasterki grubości ok. 1 mm. Jednakże po zastosowaniu takiej metody przygotowania próbki uzyskanie dobrej jakości obrazu w dużym powiększeniu, większym niż 200-krotnym, było niemożliwe z uwagi na kruchość i wiotką budowę ślazuwca. Z tego względu wykonano dodatkową analizę struktury ślazuwca z użyciem mikroskopu elektronowego. Umożliwiło to obserwację powierzchni próbki, a tym samym cięcie próbek na bardzo cienkie plastry nie było konieczne (badane preparaty miały grubość ok. 5 μm).

5.4. Analiza hydrolizatu

5.4.1. Analiza GC-MS

W celu identyfikacji lotnych związków organicznych zawartych w hydrolizacie wykonano analizę fazy nadpowierzchniowej. Do rozdzielania i identyfikacji związków posłużył chromatograf gazowy sprzężony z detektorem MS (HS-GC-MS). Próbkę o objętości 1,5 ml dozowano za pomocą automatycznego, termostatowanego (80°C) podajnika próbek, wyposażonego w ogrzewaną strzykawkę (90°C). Następnie poprzez dozownik trafiała ona kolejno na kolumnę

chromatograficzną, gdzie następował rozdział badanych związków i ostatecznie na detektor MS. Szczegółowe warunki prowadzenia analizy przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1

Warunki prowadzenia analizy chromatograficznej

Detektor	MS 220°C
Dozownik	Temp. 150°C, pracujący w trybie z podziałem strumienia 1:20
Gaz nośny	Hel, przepływ: 1 ml/min
Kolumna	Typu DB-5MS 60 m 0,25 mm

5.4.2. Badanie zawartości cukrów

W celu oznaczenia stężenia cukrów redukujących w ciekłym hydrolizacie drewna wybrano trzy metody chemiczne: metodę Lane – Eynona, redukcji kwasu 3,5-dinitrosalicylowego (DNS) w środowisku alkalicznym oraz metodę Bertranda. Początkowo zastosowano dwie pierwsze metody, a jako że wymagają one odbarwienia próbki, wykorzystano adsorpcję na węglu aktywnym i odbarwienie za pomocą roztworów Carreza ($K_4Fe(CN)_6 \cdot 6H_2O$ i $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$). Okazało się, iż na węglu aktywnym, oprócz adsorpcji przeszkadzającej substancji barwnej, nastąpiła adsorpcja cukrów. Zastosowanie roztworów Carreza powodowało zaś nadmierne rozcieńczenie próbki i uniemożliwiało późniejsze oznaczenie stężenia cukrów. Z tych powodów dwie pierwsze metody okazały się nieprzydatne i do oznaczania cukrów ostatecznie wybrano metodę Bertranda. Metoda ta nie wymaga odbarwiania, a roztwór cukrów zadaje się określoną ilością płynu Bertranda I i II i gotuje przez 3 min. Wytrącony osad Cu_2O oddziela się, przemywa na sączku i rozpuszcza w płynie Bertranda III. Otrzymany roztwór miareczkuje się mianowanym roztworem $KMnO_4$ do jasnoróżowego zabarwienia, zaś ilość oznaczonego w ten sposób Cu_2O przelicza się na zawartość cukru, korzystając z odpowiednich tablic.

6. Wyniki

6.1. Charakterystyka produktu stałego i bilans masy

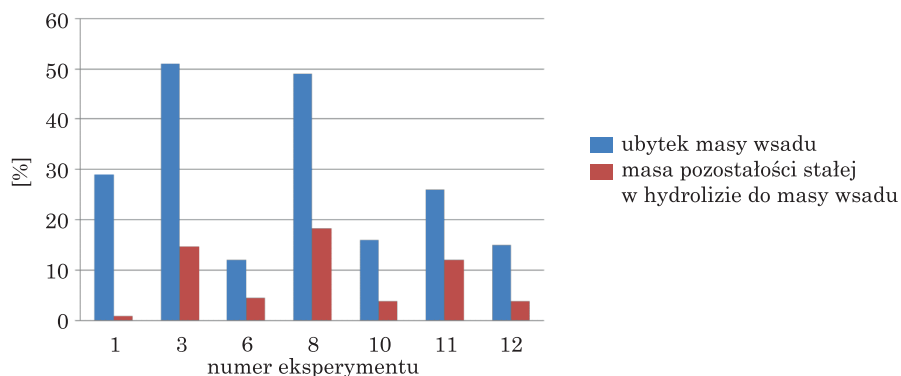
Proces termochemicznego przetwarzania ślazurowca prowadził do jego rozpadu, co przedstawia rysunek 5. Widoczne są na nim nieregularne kształty próbek oraz ich ciemny kolor.



Rys. 5. Produkty stałe kwaśnej hydrolizy ślazuwca zakończonej eksplozją pary

W tabeli 2 przedstawiono wyniki 12 prób hydrolizy ślazuwca. Dodatek kwasu powodował większy ubytek biomasy niż dodatek zasady. Zastosowanie niższej temperatury, tj. 170°C, skutkowało niższym ubytkiem fazy stałej. Dwukrotne przeprowadzenie hydrolizy nie spowodowało, w stosunku do jednokrotnej hydrolizy, widocznych zmian w strukturze ślazuwca.

Na rysunku 6 przedstawiono bilans masy w formie zestawienia ubytku masy wsadu oraz masy pozostałości stałej w hydrolizacie do masy wsadu dla poszczególnych eksperymentów.



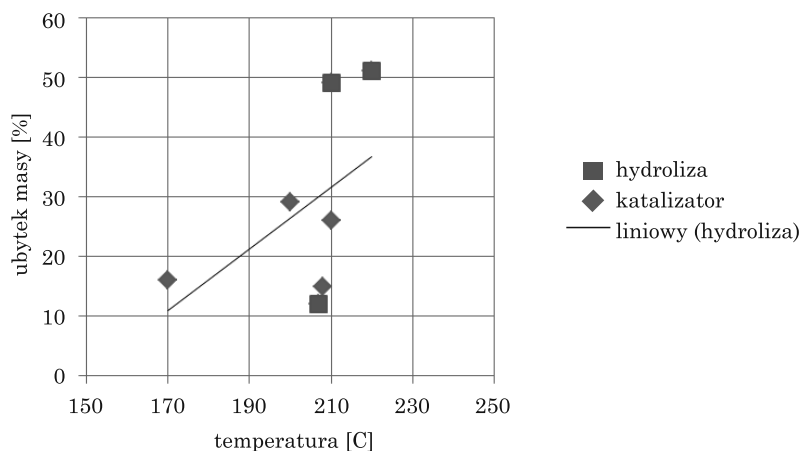
Rys. 6. Ubytek masy ślazuwca na skutek hydrolizy bez eksplozji pary

Wzrost temperatury hydrolizy wpływa znacznie na wzrost ubytku masy wsadu. W przypadku procesu prowadzonego do temperatury 200°C (rys. 7) odnotowano ubytek masy wsadu niemal dwukrotnie większy (29%) niż w przypadku procesu prowadzonego do temperatury 170°C (16%).

Tabela 2

Parametry procesu i sposób przetwarzania ślazowca

Numer próby	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Rozprężanie	-	tak	-	tak	tak	-	tak	-	tak	-	-	-
Czynnik hydrolizujący	-	-	10 g H ₂ SO ₄	10 g H ₂ SO ₄	10 g H ₂ SO ₄	10 g KOH	10 g KOH	10 g H ₂ SO ₄	10 g H ₂ SO ₄	-	-	-
Zawartość wilgoci niezwiązanej [%]	0	0	0	0	0	0	0	64,49	63	0	0	0
Temperatura [°C]	200	210	220	208	220	207	211	210	214	170	210	207
Ciśnienie [MPa]	2	1,76	2,1	2,03	2,6	1,76	2,13	2,1	2,7	0,8	2,1	1,8
Masa dodanej wody [g]	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500	500
Ilość biomasy [g]	81,61	81,56	75,98	66,76	80,99	76,56	78,27	63,61	55,79	75,73	57,82	25,98
Ubytek masy [%]	29		51			12		49		16	26	15



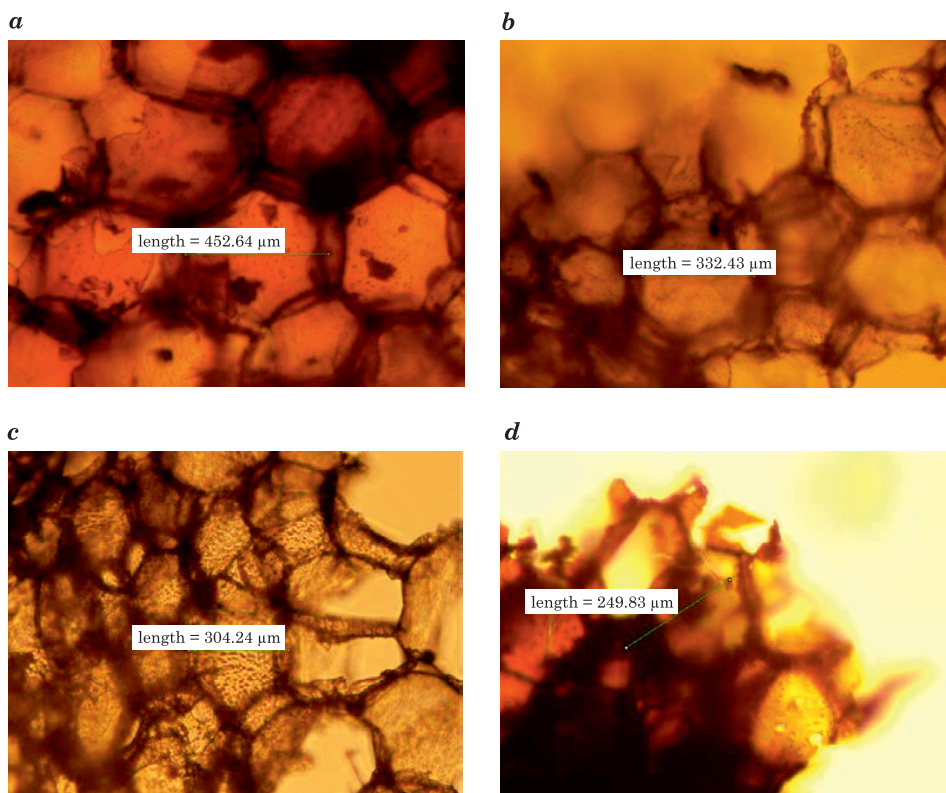
Rys. 7. Ubytek masy w funkcji temperatury podczas czystej hydrolizy oraz hydrolizy z katalizatorem kwasowym lub zasadowym

6.2. Analiza mikroskopowa

W celu oszacowania wpływu poszczególnych parametrów termodynamicznych procesu oraz obecności katalizatora na destrukcję struktury ślazu próbki poddano analizie pod mikroskopem optycznym i elektronowym. Wpływ różnych parametrów termochemicznych na zmianę struktury ślazu przedstawiono na rysunku 8, zawierającym fotografie próbek wykonane pod mikroskopem optycznym. Z porównania czterech fotografii przekroju ślazu wynika, że najwyższy stopień destrukcji włókien celulozy i hemicelulozy (rys. 8d) uzyskano podczas hydrolizy termicznej w zakresie temperatury od 200 do 230°C, w obecności kwasu siarkowego (VI) oraz przy gwałtownym rozprężaniu pary. Niższa temperatura (170°C) i niższe ciśnienie w mniejszym stopniu uszkodziły komórki ślazu (rys. 8a). Zestawiony obok rys. 8b przedstawia ślazowiec po hydrolizie w temperaturze 200°C zakończonej eksplozją pary, na którym widoczne są rozerwane komórki. Dodanie zasady (rys. 8c) skutkowało większymi niż w przypadku czystej hydrolizy zmianami struktury komórek ślazu, ale wyraźnie mniejszą destrukcją ścianek niż po dodaniu kwasu. Fotografie ślazu po hydrolizie (rys. 8) przedstawiają stopień rozpadu surowca w zależności od zastosowanej technologii i wykazują jakościową zgodność ze zmierzonymi ubytkami masy zaprezentowanymi na rys. 7. Większy ubytek masy w wyższej temperaturze wiąże się również ze zwiększoną dezintegracją struktury ścian komórek ślazu.

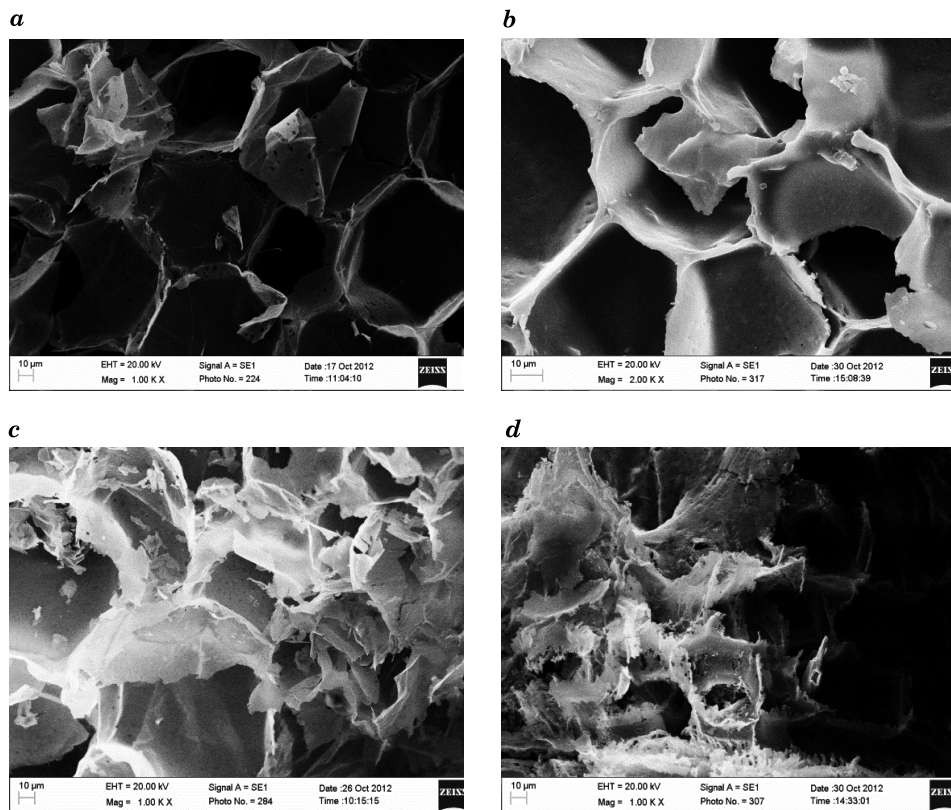
Analiza optyczna próbek pod mikroskopem elektronowym (rys. 9) potwierdziła wstępne obserwacje zmian struktury badanej biomasy przeprowadzone

pod mikroskopem optycznym. Hydroliza połączona z eksplozją pary wodnej (rys. 9a) spowodowała przede wszystkim mechaniczne uszkodzenia komórek ślazuwca. Dodanie zasady (KOH) (rys. 9b) wywołało podobny efekt – rozerwanie komórek w pojedynczych miejscach. Inaczej rzecz się przedstawia dla hydrolizy z dodatkiem kwasu (H_2SO_4) i po eksplozji pary (rys. 9c i 9d). Komórki ślazuwca zostały rozerwane w wielu miejscach, nastąpiło zniszczenie ich układu oraz pojawienie się znacznej liczby drobnych elementów ślazuwca, niezwiązanych ze strukturą. Na rys. 9c przedstawiono obraz zhydrolizowanej próbki suchego surowca, zaś rys. 9d przedstawia próbkę ślazuwca, który przed eksperymentem przez dobę zanurzony był w wodzie (tab. 2, próba nr 8 i 9). Bardziej widoczny rozpad struktury komórkowej namoczanego ślazuwca spowodowany był wypełnieniem wodą większej liczby porów. Gwałtowna dekompresja pary w materiale namoczonego zachodziła również we wnętrzu



Rys. 8. Przekrój poprzeczny włókien ślazuwca poddanych procesom hydrotermicznym o zmiennych parametrach: *a* – hydroliza w temperaturze 170°C, *b* – hydroliza w temperaturze 200°C zakończona eksplozją pary, *c* – hydroliza w temperaturze 200°C z dodatkiem KOH zakończona eksplozją pary,

d – hydroliza w temperaturze 200°C z dodatkiem H_2SO_4 , zakończona eksplozją pary
Zdjęcia wykonano pod mikroskopem optycznym w 200-krotnym powiększeniu

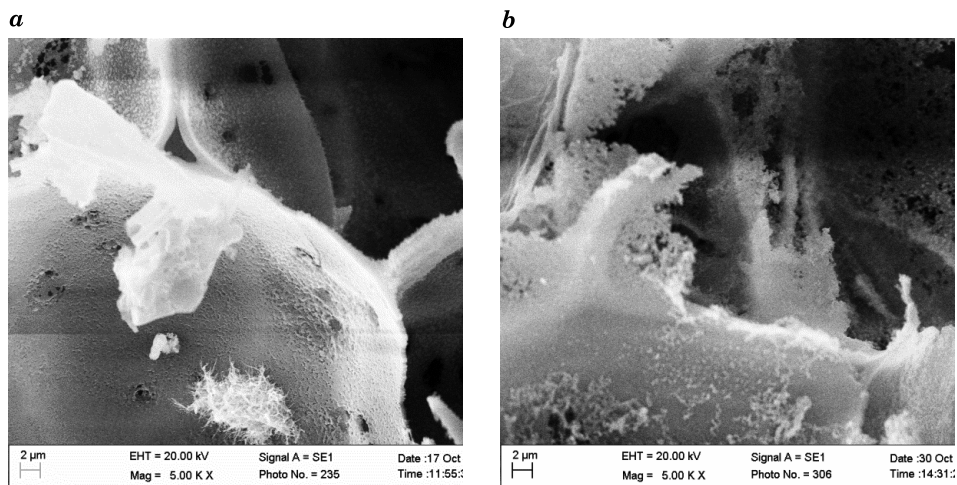


Rys. 9. Przekrój poprzeczny włókien ślazowca poddanych procesom hydrotermicznym o zmiennych parametrach: *a* – hydroliza z eksplozją pary, *b* – hydroliza z dodatkiem KOH i eksplozją pary, *c* – hydroliza suchego ślazowca z dodatkiem H₂SO₄, zakończona eksplozją pary, *d* – hydroliza mokrego ślazowca z dodatkiem H₂SO₄, zakończona eksplozją pary

Obrazy wykonano pod mikroskopem elektronowym w powiększeniu 1000-krotnym (*a*, *c* i *d*) i 2000-krotnym (*b*)

komórek, co spowodowało znaczne rozerwanie ich ścian. W przypadku suchego materiału struktura komórek została mniej zniszczona, ponieważ eksplozja pary zachodziła poza materiałem ślazowca.

Bardziej uważna obserwacja zniszczenia ścianek we wskazanych dwóch przypadkach eksplozji pary z dodatkiem H₂SO₄ (rys. 9c–d) pozwala zauważyć, że w przypadku przetwarzania bardzo mokrej biomasy ścianki straciły swoją wyraźnie włóknistą strukturę, stając się cienkimi porowatymi powierzchniami, co przedstawiono na rys. 10b. Należy także zwrócić uwagę, że w porównaniu do próbki, której nie poddano wstępnemu namaczaniu przed procesem, zniszczenia struktury ścianki próbki mokrej są większe (porównaj rys. 10a i 10b).



Rys. 10. Struktura ścianki ślazowca po eksplozji pary w obecności H_2SO_4 przeprowadzonej na próbce: *a* – suchej, *b* – mokrej

Obraz (powiększenie x 5000) z mikroskopu elektronowego

6.3. Analiza hydrolizatu

6.3.1. Analiza GC-MS

Próbka poddana analizie fazy nadpowierzchniowej nie zawierała dużej liczby związków organicznych. Zidentyfikowano jedynie sześć związków, m.in. ketony, takie jak aceton i cyklopentanon, oraz kwasy organiczne: kwas octowy i kwas propionowy.

6.3.2. Badanie zawartości cukrów

W tabeli 3 przedstawiono przykładowe wyniki zawartości cukrów redukujących oznaczonych metodą Bertranda. Próbki pochodziły z procesów, w których zastosowano różną ilość zasady oraz opcjonalnie rozprężanie. W każdym z doświadczeń zastosowano jednakową ilość wsadu (115 g) oraz wody (400 g).

Stężenie cukrów redukujących w hydrolizacie, niezależnie czy w doświadczeniach użyto 10, czy 15 g KOH, było zbliżone i wynosiło ok. 1500 mg/dm^3 (dla eksperymentów bez rozprężania). Wyraźnie niższe było natomiast stężenie w eksperymentach z zastosowaniem rozprężania i wynosiło ok. 1200 mg/dm^3 . Różnica ta jest głównie wynikiem utraty części materiału wsadowego spowodowanego eksplozją pary.

Tabela 3

Stężenie cukrów redukujących w ciekłym hydrolizacie

Nazwa	Stężenie cukrów redukujących [mg/dm ³]
10 g zasady, bez rozprężania	1569
10 g zasady, rozprężanie	1191
15 g zasady, rozprężanie	1171
15 g zasady, bez rozprężania	1461

7. Podsumowanie

W świetle przeprowadzonych badań nasuwa się ważny wniosek, iż rozpad lignocelulozy jest procesem chemicznym ograniczonym prędkością procesów transportu ciepła. Innymi słowy, o szybkości rozpadu lignocelulozy decyduje szybkość rozchodzenia się energii. Reakcje chemiczne, w tym reakcje rozpadu termicznego ścianek materiału lignocelulozowego, są zasadniczo szybkie i zachodzą, gdy tylko spełnione są warunki termodynamiczne, ale warunkiem ich zaistnienia jest odpowiednia temperatura. W przeciwieństwie do czasów reakcji chemicznych procesy fizycznego przenoszenia energii i masy trwają zdecydowanie dłużej i w zależności od gęstości i przewodnictwa cieplnego materiału oraz porowatości wsadu mogą to być czasy mierzone w sekundach, a nawet w minutach. Rozkład materiałów ścianek komórek ślazu spowodowany jest szeregiem reakcji chemicznych, zaś transport hydrolizatu i ciekłych produktów procesu jest wynikiem dyfuzji w materiale porowatym, jaki stanowią komórki materiału lignocelulozowego.

Przeprowadzone badania termochemicznego rozkładu ślazu wykazały zależność procesów chemicznych od warunków przemian termodynamicznych, zwłaszcza temperatury i ciśnienia. Szczególnie duże znaczenie dla przebiegu procesu ma temperatura – jej wzrost znacząco przyspiesza procesy hydrolizy. Z wyników eksperymentów prowadzonych w warunkach od 170°C do 200°C wynika, że wyższa temperatura hydrolizy powoduje silniejsze zniszczenie materiału komórek. Ponadto efekt ten wzmacnia gwałtowne obniżenie ciśnienia w reaktorze, co prowadzi do dodatkowej dezintegracji materiału. Pewny mankament przeprowadzonych eksperymentów z eksplozją pary stanowiła trudność w zbilansowaniu masy z powodu strat hydrolizatu i pozostałości stałej podczas rozprężania.

Bardzo istotny wpływ na efektywność hydrolizy mają katalizatory. Ze względu na swoją budowę cząsteczkową atomową woda jest katalizatorem rozpadu lignocelulozy, ale lepsze efekty dają kwasy i zasady. Eksperymenty z użyciem kwasu siarkowego (VI) jako katalizatora charakteryzowały się

największym stopniem przemiany substratów stałych w produkty ciekłe. Ponadto, produkty hydrolizy z użyciem kwasu posiadały znacznie większe znamiona rozkładu niż produkty, w których użyto KOH lub samej wody.

Literatura

- Avella R., Scoditti E. 1998. *The Italian steam explosion program at ENEA*. Biomass Bioenerg, 14: 289–293.
- Balat M., Balat H., Oz C. 2008. *Progress in bioethanol processing*. Prog. Energy Combustion. Sci., 34: 551–573.
- Budownictwo ogólne*. T. 1: *Materiały i wyroby budowlane*. Arkady 2005.
- Chen W.H., Pen B.L., Yu C.T., Hwang W.S. 2011. *Pretreatment efficiency and structural characterization of rice straw by an integrated process of dilute-acid and steam explosion for bioethanol production*. Bioresour. Technol., 102: 2916–2924.
- Dekker R.F.H. 1991. *Steam explosion: an effective pretreatment method for use in the bioconversion of lignocellulosic materials*. In: Focher B., Marzetti A., Crescenzi V. (eds.). *Steam explosion techniques: Fundamental principles and industrial applications*. Gordon and Breach Scientific Publishers. Philadelphia: 277–305.
- Focher B., Marzetti A., Beltrame P.L., Avella M. 1998. *Steam exploded biomass for the preparation of conventional and advanced biopolymer-based materials*. Biomass Bioenerg, 14: 187–194.
- Hosseini S.A., Shah N. 2009. *Multiscale modelling of hydrothermal biomass pretreatment for chip size optimization*. Bioresour. Technol., 100: 2621–2628.
- Kompella M.K., Lambros J. 2002. *Micromechanical characterization of cellulose fibers*. Polymer Testing, 21: 523–530.
- Laser M., Schulman D., Allen S.G., Lichwa J., Antal Jr. M.J., Lynd L.R. 2002. *A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol*. Bioresour. Technol., 81: 33–44.
- Li J., Henriksson G., Gellerstedt G. 2007. *Lignin depolymerization/repolymerization and its critical role for delignification of aspen wood by steam explosion*. Bioresour. Technol., 98: 3061–3068.
- Lynd L.R. 1996. *Overview and evaluation of fuel ethanol from cellulosic biomass*. Annu. Rev. Energy Environ., 21: 403–465.
- Mosier N., Wyman C., Dale B., Elander R., Lee Y.Y., Holtzapple M., Ladisch M. 2005. *Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass*. Bioresour. Technol., 96: 673–686.
- Sorensen A., Teller P.J., Hilstrom T., Ahring B.K. 2008. *Hydrolysis of Miscanthus for bioethanol production using dilute acid presoaking combined with wet explosion pre-treatment and enzymatic treatment*. Bioresour. Technol., 99: 6602–6607.
- Thomason J.L., Carruthers J., Kelly J., Johnson G. 2011. *Fibre cross-section determination and variability in sisal and flax and its effects on fibre performance characterisation*. Compos. Sci. Technol., 71: 1008–1015.
- Wojciechowski T., 1955 *Chemiczna technologia drewna*. Państwowe Wydawnictwa Rolnicze i Leśne. Warszawa.

ROZDZIAŁ 6

Wpływ promieniowania mikrofalowego na szybkość rozkładu serwatki w procesie fermentacji metanowej

Effect of microwave radiation on the decomposition rate of whey in the methane fermentation process

***Marcin Zieliński¹, Marcin Dębowski¹, Mirosław Krzemieniewski¹,
Magdalena Zielińska², Agnieszka Cydzik-Kwiatkowska²***

¹ Katedra Inżynierii Środowiska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

² Katedra Biotechnologii w Ochronie Środowiska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Słowa kluczowe: fermentacja metanowa, mikrofała, pomiary respirometryczne, serwatka.

Key words: methane fermentation, microwave, respirometric analysis, whey.

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki pomiarów respirometrycznych szybkości rozkładu serwatki przez osad beztlenowy w procesie fermentacji metanowej. Do pomiarów wykorzystano osad pochodzący z reaktora ogrzewanego mikrofalowo oraz osad z reaktora ogrzewanego za pomocą płaszczka wodnego. Badania przeprowadzono w czterech seriach różniących się obciążeniem ładunkiem serwatki. Dodatkowo analizowano zmiany wartości odczynu osadu po wprowadzeniu czterech różnych ładunków serwatki. Osad poddawany działaniu promieniowania mikrofalowego cechował się wyższą aktywnością, szczególnie w zakresie wyższych obciążeń początkowych ładunkiem ChZT. Pokazały to pomiary respirometryczne, w których stwierdzono szybkość produkcji biogazu 95,9 ml/d dla osadu ogrzewanego mikrofalowo i 65,9 ml/d dla osadu ogrzewanego konwekcyjnie. Podobny efekt obserwowano, w podczas pomiarów zmian pH osadu po zadowaniu serwatki. Wartość odczynu osadu ogrzewanego mikrofalowo szybciej wracała do wielkości początkowej, w stosunku do osadu ogrzewanego konwekcyjnie różnica w czasie mogła wynosić nawet 5 godz. (7 godz. układ mikrofalowy, 12 godz. układ kontrolny).

Summary

This paper presents the results of respirometric measurements of the rate of whey degradation by anaerobic sludge in the methane digestion process. The sludges from microwave- and convection-heated reactors were used. The study was conducted in four different series, with different load of the whey. Additionally, the changes in the pH of sludge were analyzed for examined whey loads. The microwave radiated sludge was characterized by higher activity, especially in the initial higher COD loads. Respiration measurements showed that higher biogas production rate of 95.9 mL/d were obtained for microwave heated sludge and only 65.9 mL/d for the sludge heated by convection. A similar effect was observed for pH changes after injection of whey. The pH of the sludge in microwave heated digesters rapidly returned to the initial value, in relation to the convection-heated sludge the difference in time reached 5 h (7 h microwaves, 12 h convective heating).

1. Wstęp

Fermentacja metanowa to zespół przemian biochemicznych łączących brak tlenu w środowisku oraz produkt końcowy, jakim jest gazowy metan. Różne grupy mikroorganizmów tworzą ekosystem różnych poziomów troficznych w łańcuchu pokarmowym (Fernández i in. 1999), zaś w ostatniej fazie produkty poprzednich etapów są fermentowane do metanu przez metanogenne archeony (Lange i Ahring 2001).

Proces fermentacji metanowej z powodzeniem wykorzystuje się przy oczyszczaniu wysoko obciążonych ścieków, szczególnie przemysłu spożywczego (Cui i in. 2011). Do podstawowych zalet zalicza się możliwość wprowadzania dużych ładunków zanieczyszczeń, stosunkowo niewielkie przyrosty biomasy oraz możliwość produkcji cennego energetycznie metanu. Podstawowym ograniczeniem oczyszczania ścieków w warunkach fermentacji metanowej jest niewielka efektywność w zakresie usuwania azotu i fosforu. W praktyce o zastosowaniu technologii beztlenowej decyduje przede wszystkim aspekt ekonomiczny, który wskazuje, czy w danym przypadku jest to istotnie tańsze w porównaniu do klasycznych metod tlenowych (Cakir i Stenstrom 2005).

Prezentowane badania dotyczą określenia możliwości zastosowania promieniowania mikrofalowego jako czynnika wpływającego na szybkość przemian fermentacji metanowej podczas unieszkodliwiania serwatki. Analizowano, czy długotrwałe poddawanie biocenozy zasiedlającej reaktor fermentacyjny wpływowi promieniowania mikrofalowego pozwoli na zwiększenie efektywności jego pracy.

1.1. Promieniowanie mikrofalowe

Promieniowanie mikrofalowe to składowa widma elektromagnetycznego o długości fal od 1 mm do 1 m i częstotliwości od 300 MHz do 300 GHz. Najczęściej stosowana w ogrzewaniu częstotliwość mikrofalowa to 2,45 GHz, z odpowiadającą jej długością fali 12,2 cm i energią kwantu $1,02 \times 10^{-5}$ eV (Jacob i in. 1995). W przypadku promieniowania mikrofalowego z uwagi na niewielką energię kwantów oddziaływanie z ciałami zachodzi na poziomie molekularnym i wynika przede wszystkim z interakcji pomiędzy polem elektromagnetycznym a cząsteczkami. Pod względem oddziaływania z mikrofalami materiały dzieli się na trzy grupy: przewodniki (promieniowanie odbija się od nich), izolatory (przepuszczalne dla mikrofal, które przenikają i nie są pochłaniane), absorbery (materiały, które absorbują, pochłaniają promieniowanie mikrofalowe).

Pochłanianie promieniowania mikrofalowego zależy od właściwości dielektrycznych materiału (Osepchuk 1984). Materiały o wysokiej wartości współczynnika dielektrycznego, czyli przewodniki, odbijają mikrofałe. Natomiast izolatory z niską wartością współczynnika strat dielektrycznych cechuje duża głębokość penetracji mikrofal. Mikrofałe dostarczają najefektywniej energię do ciał, których środowisko dielektryczne znajduje się pomiędzy tymi właściwościami charakterystycznymi dla przewodników oraz izolatorów. Należy zauważyć, iż w przypadku ogrzewania konwekcyjnego ciepło najlepiej przenoszone jest przez przewodniki, odwrotnie niż w przypadku ogrzewania mikrofalowego, dla którego są one nieprzepuszczalne.

Ciało zdolne do pochłaniania promieniowania mikrofalowego i poddane jego oddziaływaniu absorbuje energię na powierzchni, jak też we wnętrzu (zależnie od stopnia pochłaniania i głębokości wnikania mikrofal). W wyniku tego zwiększa się szybkość nagrzewania we wnętrzu, spada gradient temperatury pomiędzy powierzchnią a wnętrzem ogrzewanego ciała. Zjawisko to określa się mianem ogrzewania objętościowego (Ma i in. 2009). W konwencjonalnych procesach ogrzewania o przenoszeniu energii decyduje konwekcja i przewodzenia ciepła z powierzchni materiału, podczas gdy energia mikrofal jest wprowadzana bezpośrednio do materiałów w wyniku molekularnej interakcji z polem elektromagnetycznym. W przewodzeniu ciepła energia jest przenoszona w wyniku gradientów termicznych, natomiast w ogrzewaniu mikrofalowym następuje przekształcenie energii elektromagnetycznej do energii cieplnej we wnętrzu ciała. Ciepło generowane jest we wnętrzu ogrzewanego materiału, co pozwala na osiągnięcie szybkiego ogrzewania.

Ogrzewanie mikrofalowe cechuje selektywność – jeżeli ogrzewany obiekt ma różne właściwości dielektryczne, promieniowanie wybiórczo z nimi oddziałuje. Dzięki temu możliwe jest bezpośrednie podgrzewanie wybranych elementów danego obiektu (Perreux i Loupy 2002). Przykładem wykorzystania tej cechy mikrofal jest selektywne ogrzewanie błony biologicznej w reaktorze z wypełnieniem z tworzywa sztucznego (Zieliński i Krzemieniewski 2009).

Mikrofałe umożliwiają także szybkie uruchomienie i przerwanie procesu ogrzewania. Zamknięcie dopływu promieniowania powoduje natychmiastowe zatrzymanie ogrzewania, a to pozwala na precyzyjną kontrolę temperatury.

1.2. Oddziaływanie mikrofal na układy organiczne

Promieniowanie mikrofalowe w różny sposób wpływa na organizmy żywe – zależnie od natężenia pola, częstotliwości, formy fal, modulacji oraz czasu trwania ekspozycji (Juutilainen i Lang 1997; Banik i in. 2003). W przypadku oddziaływania na organizmy żywe wyróżnia dwa rodzaje efektów: termiczne

i nietermiczne (atermiczne). Oddziaływanie energii mikrofalowej prowadzi do przekazywanie energii i przeważnie powoduje podnoszenie temperatury, natomiast oddziaływania atermalne odnoszą się do efektów specyficznych mikrofalom, których występowanie nie jest efektem podnoszenia temperatury.

W układach biologicznych promieniowanie mikrofalowe może być bezpośrednio absorbowane przez cząstki posiadające moment dipolowy. Przede wszystkim są to cząsteczki wody, choć białka również mają pewien rozkład ładunków, zawierają łańcuchy polarne, co może być powodem rotacji (drgań) wywołanych energią mikrofal. Także cząsteczki wody w zhydratyzowanej warstwie białek mogą być wzbudzone do ruchu wirowego przez energię elektromagnetyczną (Palaniapan i in. 1990). Jednocześnie w układach biologicznych zachodzi proces przewodzenia ciepła. Ogrzane przez mikrofałe cząsteczki oddają w ten sposób energię tym, które są niezdolne do pochłaniania mikrofal.

Efekty atermiczne to zjawiska wywołane oddziaływaniem mikrofal, a nie związane ze wzrostem temperatury (Banik i in. 2006). Różne efekty atermiczne obserwowane w układach biologicznych poddanych działaniu mikrofal było przedmiotem doniesień literatury (Eskicioglu i in. 2007; Guven i in. 2007; Moghimi i in. 2010; Hadjiloucas i in. 2002). Fesenko i in. (1995) wskazują na zmianę struktury i funkcji błon biologicznych. Efekty katalitycznej aktywności mikrofal obserwowano w przypadku badań enzymów napromieniowywanych *in vitro*. Stwierdzono pozytywne efekty atermicznego oddziaływania mikrofal, np. w przypadku enzymu lipaza (Parker i in. 1996) szybkość reakcji enzymatycznej ogrzewanej mikrofalami maksymalnie rosła 2–3-krotnie w stosunku do ogrzewania konwencjonalnego. Natomiast Porcelli i in. (1997) zauważyli spadek aktywności enzymów: hydrolazy (S-adenozylhomocysteinyl) i fosfohydrolazy (5'-metylotioadenozyny) w wyniku ekspozycji na promieniowanie mikrofalowe. Ponne i Bartels (1995) stwierdzili, że możliwe jest zarówno pozytywne, jak i negatywne oddziaływanie mikrofal na mikroorganizmy. Wskazuje się, że powstające w komórkach w wyniku ogrzewania mikrofalowego strefy o znacznie podwyższonej temperaturze, tzw. Gorące punkty, mogą prowadzić do denaturacji białek, przy czym teoria ta bywa odrzucana przez część autorów ze względu na silne uwodnienie w organizmach żywych i szybkie przewodzenie ciepła, co powoduje, że gorące punkty nie występują w sposób stabilny (Hill i Marchant 1996).

Efekty atermalne obserwowane są również w przypadku zjawisk związanych z absorpcją promieniowania przez DNA. Wskazuje się, że DNA może bezpośrednio absorbować promieniowanie mikrofalowe, co związane jest z momentem dielektrycznym (Takasima i in. 2006). Mechanizm zakłócania działania DNA poprzez mikrofałe nie jest opisany w sposób dokładny. Rozpatrywano zdolności mikrofal do rozrywania wiązań kowalencyjnych i innych wiązań

chemicznych DNA. Wiązania wodorowe (mostki wodorowe) obecne w DNA mają energię wiązań 0,1 eV, podczas gdy energia aktywacji mikrofal wynosi np. 10^{-5} eV. Mikrofałe nie mogą zatem rozerwać wiązań wodorowych (0,04–0,44 eV) lub wiązań kowalencyjnych (5eV) w DNA. Energia przenoszona przez kwanty promieniowania mikrofalowego jest zbyt mała, aby mogła być pochłaniana przez elektrony, nie powoduje ich wzbudzenia, a tym bardziej wybicia z atomu. Oddziaływanie promieniowania mikrofalowego z cząsteczkami zarówno DNA, jak i białek nie powoduje zmian w ich strukturze, jednak w pewnych warunkach może wpływać na wiązania chemiczne. Dzieje się to w przypadku, gdy woda hydratyzuje molekuły (np. białka), oddziałując na ich właściwości dielektryczne. Obdarzone momentem dipolowym makrocząsteczki reagują na zewnętrzne pole elektromagnetyczne, co może wpływać na ich strukturę. Według wyników eksperymentu przeprowadzonego przez Kakita (1999) promieniowanie mikrofalowe było zdolne do ekstensywnej fragmentacji nici DNA, podczas gdy ogrzewanie konwekcyjne w tej samej temperaturze nie naruszało nici DNA.

1.3. Przykłady wykorzystania mikrofal w inżynierii środowiska

W przypadku zagadnień związanych z inżynierią środowiska w literaturze pojawiają się prace przeglądowe pokazujące możliwości wykorzystania promieniowania mikrofalowego (Jones i in. 2002). Mikrofałe mogą być zatem wykorzystywane do rekultywacji gleb zanieczyszczonych lotnymi związkami organicznymi w metodach *in situ* (Tai i Jou 1998), jak również stosowane do usuwania lotnych i półlotnych zanieczyszczeń, szczególnie skuteczne w przypadku związków polarnych (Kawala i Atamańczuk 1998).

W literaturze szeroko prezentowane są badania na temat zastosowania mikrofal do kondycjonowania różnych substratów przed procesami biologicznymi (Ahn i in. 2009; Dogan i Sanin 2009). Zastosowanie promieniowania umożliwia zwiększenie szybkości i efektywności beztlenowej stabilizacji osadów ściekowych. Stosowano je również w przypadku kondycjonowania substratów roślinnych przed procesem fermentacji metanowej czy fermentacji alkoholowej (Jackowiak i in. 2011). Dzięki mikrofalom dochodzi do destrukcji biomasy, co ułatwia i przyspiesza enzymatyczną hydrolizę oraz wpływa na końcowy efekt przemian fermentacyjnych. (Ha i in. 2011; Kashaninejad i Tabil 2011). W badaniach nad produkcją biowodoru mikrofałe hamują aktywność mikroorganizmów wykorzystujących wodór, co prowadzi do efektywnej, „ciemnej” fermentacji (Song i in. 2012; Su i in. 2010; Thungklin i in. 2011). Promieniowanie mikrofalowe może być również wykorzystywane do stymulacji

mikroorganizmów do biologicznego oczyszczania ścieków. Doświadczenia autorów wskazują, iż mikrofała stymuluje błonę biologiczną do usuwania węgla w warunkach tlenowych (Zieliński i Krzemieniewski 2009) i przemian prowadzących do usuwania azotu (Zieliński i in. 2006, 2007).

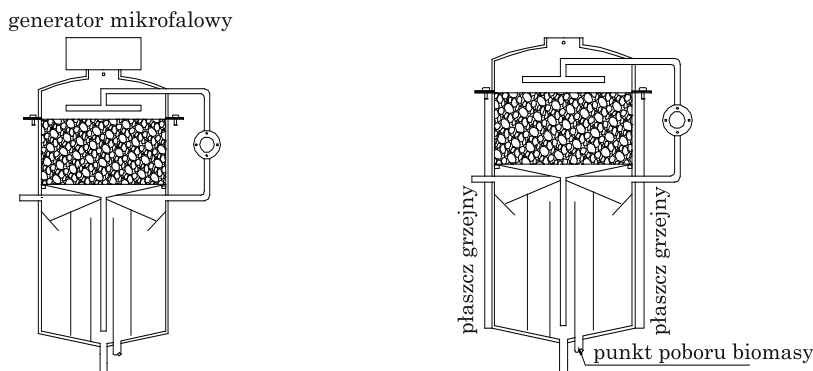
Efektywny przebieg fermentacji metanowej w istotny sposób zależy od temperatury procesu. Dotychczasowe doświadczenia autorów pokazują, że wpływ mikrofały na procesy biologicznego oczyszczania ścieków jest większy w przypadku zjawisk silniej zależnych od temperatury. Zdecydowało to do podjęcia prezentowanych badań, których celem było wykazanie wpływu promieniowania mikrofalowego na aktywność biomasy beztlenowej rozkładającej serwatkę.

2. Metodyka

Wpływ promieniowania mikrofalowego na aktywność mikroorganizmów beztlenowych prowadzących proces fermentacji metanowej określano na podstawie badań respirometrycznych oraz pomiarów szybkości zmian odczynu. W badaniach wykorzystano biomasę pochodzącą z reaktorów beztlenowych pracujących w skali ułamkowo-technicznej, z których jeden był ogrzewany konwekcyjnie, a drugi mikrofalowo.

Jednocześnie eksploatowano dwa reaktory o konstrukcji hybrydowej, przy czym jeden odgrzewany był mikrofalowo (reaktor A), a drugi konwencjonalnie na zasadzie przenikania ciepła (reaktor B). W dolnej części każdego z reaktorów znajdował się osad zawieszony, a przepływ cieczy miał charakter tłokowy. Ścieki poprzez strefę klarowania trafiały do pompy recyrkulacyjnej, a ta doprowadzała je nad warstwę wypełnienia znajdującą się w górnej części reaktora; w tej strefie znajdował się również odpływ z układu. Przesączające się przez warstwę wypełnienia ścieki były doprowadzane rurą centralną do początku układu oczyszczania w dolnej, osadowej części reaktora (rys. 1).

Reaktory zaszczerpiono osadem beztlenowym pochodzącym z instalacji technicznej oczyszczającej ścieki mleczarskie. Następnie były one eksploatowane w identycznych warunkach technologicznych obciążenia ładunkiem związków organicznych OLR oraz hydraulicznego czasu zatrzymania. Reaktory eksploatowano przez okres 120 dni, co przy średnim HRT na poziomie 10 dni pozwoliło na 12-krotną wymianę objętości reaktora. OLR utrzymywano na poziomie 5 g/l. Reaktory, z których pobierano biomasę do testów, funkcjonowały w warunkach mezofilowej fermentacji metanowej $35^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$. Jako substrat w reaktorach wykorzystywano modelowy roztwór serwatki sporządzonej na bazie proszku (tab. 1). Funkcjonowanie reaktorów monitorowano pod kątem sprawności usuwania związków organicznych oznaczonych jako ChZT,



Rys. 1. Schematy technologiczne reaktorów, z których pobierano biomasę do pomiarów
 A – reaktor ogrzewany mikrofalowo, B – reaktor ogrzewany konwekcyjnie

Tabela 1
 Charakterystyka wykorzystywanego roztworu serwatki w badaniach adaptacyjnych biomasy

Parametr	Wartość średnia	Jednostki
ChZT	50,000 ± 250	g ChZT/l
BZT ₅	32,706 ± 189	g BZT ₅ /l
Azot całkowity	2,500 ± 112	g N/l
Fosfor całkowity	520 ± 48	g P/l
Odczyn	7,12 ± 0,12	pH

ilości oraz jakości powstającego biogazu. Pomiarów wartości ChZT odpływającej cieczy dokonywano raz na dobę (testy kuwetowe Lange). Podobnie raz na dobę mierzono skład jakościowy powstającego biogazu (LXi 430 Gas Data). Ilość powstającego biogazu mierzono za pomocą przepływomierza masowego (Allborg).

Biomasę z reaktora ogrzewanego mikrofalowo oraz z reaktora kontrolnego poddawano analizie aktywności respirometrycznej z wykorzystaniem respirometrów Oxi Top firmy WTW (Niemcy). Zmiany odczynu w trakcie kolejnych faz fermentacji metanowej były analizowane za pomocą miernika pH firmy Cerko (Polska). Dla każdego z obciążeń wykonano trzy powtórzenia pomiaru w identycznych warunkach pomiarowych.

Badania przeprowadzono przy wykorzystaniu proszku powstałego z serwatki kwaśnej: 1 g proszku serwatkowego rozpuszczony w 1 l wody pozwala na uzyskanie roztworu, którego wartość ChZT wynosi ok. 1000 mg O₂/l. Pomiaru przeprowadzono w czterech seriach różniących się wielkością obciążenia początkowego ładunkiem ChZT. Jednorazowo przygotowywano mieszaninę 200 ml osadu beztlenowego pobieranego z dwóch reaktorów fermentacyjnych,

ogrzewanego mikrofalowo oraz konwekcyjnie, a także odpowiednią dla każdej serii naważkę proszku serwatkowego (tab. 2). Sucha masa osadu pobranego z reaktora ogrzewanego mikrofalowo wynosiła 23,793 g s.m./l. W przypadku osadu pobranego z reaktora kontrolnego zawartość suchej masy była na poziomie 24,236 g s.m./l.

Tabela 2

Sposób przygotowania próbek

Seria	Obciążenie początkowe komory pomiarowej ładunkiem ChZT	Naważka proszku serwatkowego
1	4 g/l	0,8 g
2	6 g/l	1,2 g
3	8 g/l	1,6 g
4	10 g/l	2,0 g

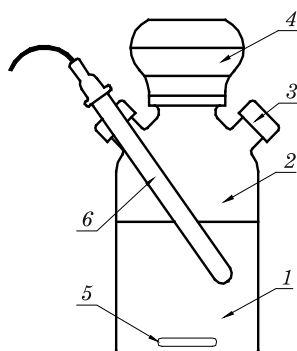
Następnie mieszaninę osadu beztlenowego i proszku serwatkowego poddawano pomiarom respirometrycznym oraz dokonywano analiz zmian odczynu. Wykonano cztery powtórzenia pomiarów respirometrycznych oraz pH. Analizę statystyczną uzyskanych wyników wykonano w oparciu o pakiet STATISTICA 9.0 PL. Weryfikację hipotezy dotyczącej rozkładu każdej badanej zmiennej określono na podstawie testu W Shapiro-Wilka o hipotezie zerowej H_0 : rozkład badanej zmiennej jest rozkładem normalnym. W celu stwierdzenia istotności różnic między zmiennymi przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA), gdzie zmienną grupującą był sposób ogrzewania, natomiast zmiennymi zależnymi wyniki prowadzonych badań. W celu sprawdzenia istotności między analizowanymi zmiennymi wykorzystano test rozsądnej istotnej różnicy RIR Tukeya. W testach przyjęto poziom istotności na poziomie $\alpha = 0,05$.

Wyznaczono stałe szybkości reakcji na podstawie uzyskanych danych eksperymentalnych metodą regresji nieliniowej. Wykorzystano metodę iteracyjną, w której w każdym kroku iteracyjnym funkcję zastępuje się różniczką liniową względem wyznaczonych parametrów. Przy wyznaczonych parametrach jako miarę dopasowania krzywej do danych eksperymentalnych przyjęto współczynnik zgodności ϕ^2 . Przyjęto takie dopasowanie modelu do punktów doświadczalnych, przy którym współczynnik zgodności nie przekraczał 0,2.

2.1. Pomiary respirometryczne

Komora reakcyjna ($V = 500$ ml), w której umieszczano próbę osadu beztlenowego (200 ml) wraz z proszkiem serwatkowym, była szczelnie połączo-

na z urządzeniem pomiarowo-rejestrującym. Mierzyło ono i zapamiętywało zmiany ciśnienia parcjalnego we wnętrzu komory reakcyjnej (rys. 2). Całość mieszano do pełnego rozpuszczenia proszku serwatkowego w objętości osadu czynnego. Próbkę przedmuchiwało azotem do uzyskania warunków beztlenowych w komorze reakcyjnej, a następnie uruchamiano urządzenie pomiarowo-rejestrujące. Kompletny zestaw pomiarowy składający się z komory reakcyjnej oraz urządzenia pomiarowo-rejestrującego umieszczano w szafie termostatującej o histerezie nie przekraczającej $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$. Pomiaru prowadzono przy temperaturze 35°C . Czas pomiaru wynosił 20 dni, wartości ciśnienia w komorze reakcyjnej były odczytywane i rejestrowane co 180 min. Rozkład beztlenowy związków organicznych zawartych w badanej serwatce prowadził do powstania gazu fermentacyjnego. Na zakończenie pomiaru respirometrycznego dokonywano analizy jakości biogazu za pomocą chromatografu gazowego Agilent 7890 A wyposażonego w detektor TCD.



Rys. 2. Zestaw pomiarowy, 1 – komora pomiarowa faza ciekła, 2 – komora pomiarowa faza gazowa, 3 – króciec boczny do poboru biogazu, 4 – urządzenie pomiarowo-rejestrujące, 5 – mieszadło magnetyczne, 6 – elektroda pH-metryczna

Podstawą obliczeń w badaniach respirometrycznych jest równanie gazu doskonałego. Na podstawie zmierzonej wysokości zmiany ciśnienia we wnętrzu komory pomiarowej możliwe jest obliczenie liczby moli oraz objętości powstałego biogazu w przeliczeniu na warunki normalne.

$$n_{\text{CH}_4/\text{CO}_2} = \frac{\Delta p \cdot V_g}{R \cdot T} \cdot 10^{-4} \quad (1)$$

gdzie:

n – liczba wytworzonych moli biogazu składającego się z metanu i dwutlenku (z pominięciem śladowych ilości siarkowodoru i wodoru) [mol]

Δp – wzrost ciśnienia spowodowany produkcją biogazu [Pa]

- V – objętość fazy gazowej w komorze pomiarowej [m^3]
R – stała gazowa [$8,314 \text{ J/mol} \cdot \text{K}$]
T – temperatura inkubacji [K]
 10^{-4} – współczynnik przeliczeniowy Pa na hPa oraz m^3 na cm^3

2.2. Pomiary pH-metryczne

Pomiary zmian wartości odczynu prowadzono jednocześnie z analizami respirometrycznymi. Elektroda pH została poprzez króciec gazoszczelnie umieszczona w naczyniu pomiarowym tak, aby końcówka znajdowała się mniej więcej w połowie wysokości warstwy fazy ciekłej (rys. 2). W celu uniknięcia gradientów stężenia przy elektrodzie oraz równomiernego rozkładu substratów całość fazy ciekłej mieszano za pomocą mieszadła magnetycznego. Pomiarów pH dokonywano w odstępach 30-sekundowych przez okres 24 godz., a następnie w odstępach 4-godzinnych do końca 20-dniowego okresu badań.

3. Wyniki

Uzyskane wyniki badań wskazują na wpływ promieniowania mikrofalowego na aktywność biomasy beztlenowej, przy czym efekt oddziaływania mikrofal zależał od wyjściowego obciążenia osadu ładunkiem ChZT w kolejnych seriach badawczych (rys. 3). W przypadku obciążenia początkowego 4 g ChZT/l w serii 1 nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w ilości powstającego biogazu pomiędzy osadem ogrzewanym mikrofalowo a osadem ogrzewanym konwekcyjnie. Biomasa ogrzewana mikrofalowo pozwoliła na wytworzenie w teście respirometrycznym przy początkowym obciążeniu 4 g/l, średnio 411 ml/g biogazu, podczas gdy dla osadu kontrolnego uzyskano 393 ml/g. Podobnie w serii 2, gdy obciążenie początkowe komory pomiarowej wynosiło 6 g/l, ilość powstającego biogazu była zbliżona w obu wariantach eksperymentu. Nie odnotowano statystycznie istotnych różnic, przy czym w przeliczeniu na gram wprowadzonej serwatki ilość uzyskiwanego biogazu była w obu przypadkach niższa niż w serii z obciążeniem początkowym 4 g/l. W kolejnej serii badawczej, w której wyjściowy ładunek ChZT wynosił 8 g/l, stwierdzono, iż w przypadku osadu pochodzącego z reaktora ogrzewanego mikrofalowo końcowa ilość biogazu uzyskana w pomiarach respirometrycznych jest statystycznie istotnie wyższa w porównaniu do osadu kontrolnego. Uzyskano średnio 326,0 ml/g, podczas gdy w układzie kontrolnym 308,3 ml/g. Również w przypadku obciążenia początkowego 10 g/l osad ogrzewany mikrofalowo pozwolił na uzyskanie wyższej produkcji biogazu – rzędu 266 ml/g,

przy czym różnice w stosunku do osadu ogrzewanego konwekcyjnie nie były statystycznie istotne (tab. 3).

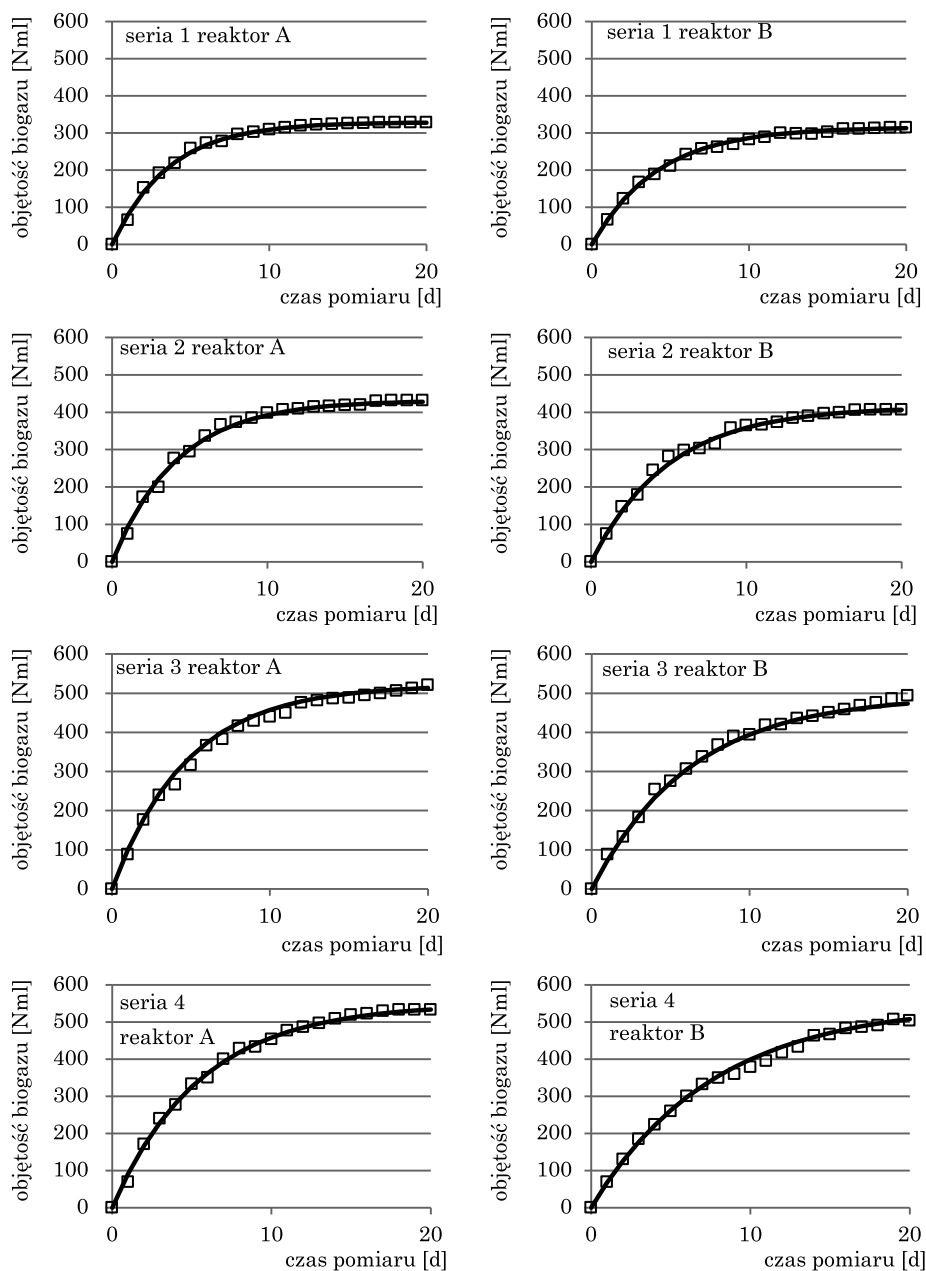
Zawartość metanu mierzona w biogazie na zakończenie 20-dniowego okresu pomiarowego zależała przede wszystkim od początkowego ładunku ChZT wprowadzanego do reaktora. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy zawartością metanu w biogazie produkowanym przez osad ogrzewany mikrofalowo i ogrzewany konwekcyjnie.

Tabela 3
Jednostkowa produkcja metanu w przeliczeniu na masę wprowadzanej serwatki oraz procentowa zawartość metanu w biogazie w zależności od obciążenia początkowego

Obciążenie początkowe	Osad z reaktora A (ogrzewanie mikrofalowe)		Osad z reaktora B (ogrzewanie konwekcyjne)	
	jednostkowa produkcja biogazu [ml/g]	zawartość metanu [%]	jednostkowa produkcja biogazu [ml/g]	zawartość metanu [%]
4 g/l	411,3 ± 21,5	66,3 ± 0,9	393,8 ± 16,7	65,3 ± 1,1
6 g/l	356,7 ± 15,4	63,1 ± 1,2	338,9 ± 22,3	60,5 ± 1,5
8 g/l	326,0 ± 14,7	58,2 ± 1,5	308,3 ± 13,5	56,2 ± 1,4
10 g/l	266,7 ± 12,3	52,2 ± 0,8	253,8 ± 17,4	51,4 ± 1,7

Przyjęty długi czas pomiarów respirometrycznych spowodował, iż końcowe ilości biogazu obserwowane po 20 dniach nie różniły się w większości przypadków znacząco, istotne różnice zaobserwowano natomiast w szybkości procesu produkcji biogazu. W przypadku osadu ogrzewanego mikrofalowo stwierdzono wyższe wartości zarówno szybkości reakcji r , jak i stałych szybkości k , niezależnie od zastosowanego obciążenia. W serii 1 o najniższym obciążeniu wyjściowym ładunkiem ChZT obserwowano najwyższe wartości współczynnika szybkości reakcji. Wynosił on odpowiednio 0,28 1/d w wariancie mikrofalowym i 0,24 1/d w wariancie konwekcyjnego ogrzewania. Największe różnice w wartości współczynnika k obserwowano w serii 4. Przy zastosowaniu osadu pobranego z reaktora kontrolnego współczynnik ten wynosił 0,13 1/d, podczas gdy dla osadu ogrzewanego mikrofalowo było to aż 0,18 1/d. Najwyższą wartość szybkości reakcji stwierdzono w przypadku obciążenia początkowego 8 g/l. Osad ogrzewany mikrofalowo produkował przy tym obciążeniu biogaz w ilości 105,6 ml/d, podczas gdy w warunkach kontrolnych produkcja biogazu wynosiła 83,8 ml/d (rys. 3, tab. 4).

W trakcie trwania eksperymentu obserwowano zmiany wartości pH osadu od momentu wprowadzenia porcji pożywki – proszku serwatkowego. W pierwszej fazie widoczny był szybki spadek, a następnie powolny wzrost wartości pH. Odnotowano istotną zależność pomiędzy początkowym ładunkiem



Rys. 3. Szybkość produkcji biogazu w kolejnych seriach badawczych w zależności od pochodzenia osadu beztlenowego

Reaktor A – osad ogrzewany mikofalowo, reaktor B – osad ogrzewany konwekcyjnie

Tabela 4
Szybkość produkcji biogazu oraz stałe szybkości w pomiarach respirometrycznych w zależności od sposobu ogrzewania osadu przy zmiennym obciążeniu początkowym

Obciążenie początkowe	Osad ogrzewany mikrofalowo (pochodzący z reaktora A)		Osad ogrzewany konwekcyjnie (pochodzący z reaktora B)	
	szybkość produkcji biogazu r [ml/g]	stała szybkości k [1/d]	szybkość produkcji biogazu r [ml/g]	stała szybkości k [1/d]
4 g/l	92,1	0,28	75,7	0,24
6 g/l	102,7	0,24	89,5	0,22
8 g/l	105,6	0,21	83,8	0,16
10 g/l	95,9	0,18	65,9	0,13

związków organicznych a wielkością spadku pH. Analiza statystyczna wykazała również zależność pomiędzy wielkościami zmian pH a pochodzeniem zastosowanego osadu beztlenowego. W przypadku obciążenia początkowego 4 g/l nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy wartościami pH w osadzie kontrolnym i ogrzewanym mikrofalowo. W obu przypadkach pH obniżyło się o ok. 0,1 po zadozowaniu pożywki, a po 6 godz. było już identyczne z wartością wyjściową 7,12. Zwiększenie obciążenia reaktora do 6 g/l spowodowało głębszy spadek pH, przy czym w osadzie ogrzewanym konwekcyjnie zanotowano niższą wartość pH 6,92, choć w porównaniu do serii z osadem mikrofalowym 6,97 nie była to różnica statystycznie istotna. Również w przypadku tej serii powrót to wartości wyjściowej odczynu 7,12 trwał ok. 6 godz. Istotne różnice w przebiegu krzywych obrazujących zmiany pH były zauważalne w serii 3. Stwierdzono, iż w przypadku osadu ogrzewanego mikrofalowo pH wyjściowe osiągnięto po 7 godz., podczas gdy dla osadu kontrolnego ten sam efekt był obserwowany po ok. 12 godz. Początkowy spadek wartości pH był w obu wariantach zbliżony. W serii 4, gdy zastosowane obciążenie komory pomiarowej wynosiło 10 g/l, zaobserwowano statystycznie istotnie niższe pH w fazie początkowego spadku dla osadu ogrzewanego konwekcyjnie. Wartość pH obniżyła się w tych warunkach do minimalnie 6,72 pH. Powrót to wartości początkowej 7,12 pH trwał aż 14,5 godz. Dla osadu ogrzewanego mikrofalowo ten sam proces zajął 12,2 godz. (tab. 5).

Porównanie efektywności technologicznej funkcjonowania reaktorów hybrydowych, z których pobierano biomasę do badań respirometrycznych, wskazuje, iż nie było pomiędzy nimi statystycznie istotnych różnic. Zarówno sprawność usuwania związków organicznych, jak i dobową produkcję metanu były w obu reaktorach zbliżone (tab. 6). Przy zastosowanych parametrach technologicznych nie obserwowano wpływu sposobu ogrzewania na efektywność pracy reaktorów.

Tabela 5
 Obserwowane wartości pH w zależności od zastosowanego obciążenia początkowego komory pomiarowej oraz sposobu ogrzewania reaktora

Czas [h]	Obciążenie początkowe 4 g/l		Obciążenie początkowe 6 g/l		Obciążenie początkowe 8 g/l		Obciążenie początkowe 10 g/l	
	osad reaktor A	osad reaktor B	osad reaktor A	osad reaktor B	osad reaktor A	osad reaktor B	osad reaktor A	osad reaktor B
0	7,13	7,12	7,12	7,13	7,12	7,13	7,12	7,13
0,25	7,08	7,07	7,07	7,06	7,04	7,05	7,03	7,02
0,5	7,05	7,02	7,03	7,00	7,02	7,01	6,92	6,89
0,75	6,99	6,97	6,99	6,93	6,95	6,93	6,81	6,75
1,0	7,01	6,99	6,93	6,91	6,92	6,89	6,76	6,70
1,5	7,02	7,01	6,97	6,92	6,93	6,9	6,77	6,72
2,0	7,04	7,03	7,02	6,94	6,97	6,91	6,79	6,74
3,0	7,07	7,07	7,05	7,00	7,01	6,93	6,83	6,76
4,0	7,11	7,10	7,07	7,03	7,07	6,97	6,87	6,79
5,0	7,12	7,12	7,09	7,07	7,09	7,03	6,91	6,82
6,0	7,12	7,12	7,13	7,13	7,11	7,09	6,95	6,86
12,0	7,13	7,12	7,13	7,13	7,12	7,13	7,12	7,10
24,0	7,13	7,13	7,12	7,13	7,12	7,13	7,12	7,13

Pogrubieniem wyróżniono pomiary o najniższej wartości oraz te, przy których wartość pH była zbliżona do początkowej przed wprowadzeniem serwatkii

Tabela 6
 Wyniki efektywności pracy reaktorów, z których pobierano biomasę do pomiarów respirometrycznych

Reaktor	Usunięty ładunek ChZT [g/d]	Sprawność usuwania zw. org. (ChZT) [%]	Produkcja biogazu [l/d]	Współczynnik produkcji biogazu [l/g _{ChZT} · d]	Zawartość metanu [%]
A	438,5 (± 10,9)	87,7 (± 2,5)	177 (± 23)	405 (± 22)	73 (± 1,5)
B	434,5 (± 8,3)	86,9 (± 1,9)	175 (± 19)	403 (± 25)	72 (± 2,1)

4. Dyskusja wyników

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, iż kompleks mikroorganizmów beztlenowych, który wykształcił się w reaktorze poddawanym oddziaływaniu promieniowania mikrofalowego, cechuje się wyższą aktywnością w porównaniu do biomasy pochodzącej z reaktora ogrzewanego konwekcyjnie. Jediną zmienną różnicującą funkcjonowanie obu reaktorów był sposób dostarczania energii w celu utrzymania pożądaných warunków termicznych. Większą aktywność biomasy zaobserwowano w warunkach wyższego obciążenia

nia ładunkiem ChZT. Świadczy o tym zarówno wyższa szybkość produkcji biogazu, jak i większa szybkość przemian objawiających się zmianami wartości pH roztworu. Można na tej podstawie stwierdzić, iż zastosowanie mikrofal wywołało efekt atermiczny, czego przejawem jest zmiana aktywności kompleksu mikroorganizmów beztlenowych.

Odpowiedzią na pytanie o zmiany, jakie zachodzą w biomase w wyniku oddziaływania mikrofal, są badania przeprowadzone metodą FISH (badania własne – materiały niepublikowane). Analizie poddawano biomasę pochodzącą z reaktora ogrzewanego mikrofalowo oraz reaktora kontrolnego. Pozwoliły one określić liczebność bakterii, archeonów, gatunków należących do rodziny *Methanosarcinaceae* oraz rodzaju *Methanosaeta* jako procentową wartość wobec komórek barwionych DAPI. Pod uwagę brano liczebność dwóch rodzin octanotroficznych zaliczanych do rzędu *Methanosarcinales*. W osadzie zaszczipiającym odnotowano archeony z rodziny *Methanosarcinaceae* (MSMX860), a także *Methanosaeta* (MX825). Po okresie 120-dniowej adaptacji do funkcjonowania w reaktorach hybrydowych (rys. 1) stwierdzono, że *Methanosarcinaceae* były znacząco liczniejsze w reaktorze ogrzewanym mikrofalowo. Wolno rosnące gatunki *Methanosaeta* mają wyższe powinowactwo do octanu i niższy próg jego przyswajania (5–15 μM), dlatego wysokie stężenie octanu może hamować ich wzrost. *Methanosarcina*, które charakteryzują się wyższą szybkością wzrostu, wykazują minimalny próg przyswajania octanu w zakresie 1–2 mM. Promieniowanie mikrofalowe wpływało na strukturę biomasy, zwiększając udział *Methanosarcina*, efektem tego była wyższa szybkość produkcji biogazu szczególnie przy wyższych, bardziej im odpowiadających obciążeniach (seria 3 i 4). Najprawdopodobniej te zmiany populacyjne (wyższa tolerancja *Methanosarcina* na octan) pozwoliły na lepszą pracę reaktora mikrofalowego w pogarszających się warunkach technologicznych.

Podobne wyniki uzyskali Calli i in. (2005), którzy stwierdzili, że gatunki należące do *Methanosaeta*, dominujące w osadzie zaszczipiającym, zostały zastąpione przez *Methanosarcina* w pogarszających się warunkach technologicznych. Wskazuje się, iż odporność gatunków z rodzaju *Methanosarcina* na zmiany środowiska wynika z występowania lub nie chondroityny (pseudochondroityny, methanocondroityny). Chondroityna tworzy ich zewnętrzną, grubą i sztywną okrywą powstającą w specyficznych warunkach wzrostu (Lange i Ahring 2001). Można założyć, że oddziałujące na beztlenową biomasę mikrofalowe pole elektromagnetyczne stworzyło dogodne warunki dla rozwoju gatunków z rodzaju *Methanosarcina* posiadających okrywą chondroitynową.

Liczne przykłady wskazują na możliwość wykorzystania mikrofal jako czynnika kondycjonującego substrat przed procesem fermentacji metanowej. Ekspozycja substratu na oddziaływanie mikrofalowe spowodowała zwiększoną solubilizację substratów oraz rozrywanie segzopolisacharydów, przyspieszając

proces fermentacji metanowej (Ahn i in. 2009; Eskicioglu i in. 2009; Toreci i in. 2009; Yu i in. 2009). Wstępne traktowanie osadów mikrofalami prowadzi do uwalniania zewnątrz- i wewnątrzkomórkowych biopolimerów w komórkach mikroorganizmów (Eskicioglu i in. 2006). W efekcie osady znacznie szybciej ulegają beztlenowej stabilizacji z wytworzeniem większej ilości biogazu w porównaniu do prób kondycjonowanych termicznie w konwencjonalny sposób. Takie zastosowanie mikrofal opiera się na wykorzystaniu ich destrukcyjnych właściwości i wielokrotnie potwierdzono występowanie efektu atermicznego oddziaływania mikrofal, chociażby poprzez wyższą śmiertelność *E. coli* poddawanej działaniu mikrofal (Eskicioglu i in. 2007).

W prezentowanych badaniach analizowano możliwość wykorzystania mikrofal w odmienny sposób – jako czynnika wpływającego na aktywność mikroorganizmów. Liczne badania własne autorów wskazują, iż dzięki zastosowaniu mikrofal wzrasta różnorodność gatunkowa skupisk mikroorganizmów prowadzących różnorodne procesy oczyszczania ścieków. Dzieje się tak zarówno w warunkach tlenowego oczyszczania ścieków (Zieliński, Zielińska 2010), jak i w procesach beztlenowych (Cydzik-Kwiatkowska i in. 2012).

Unieszkodliwianie ścieków pochodzących z przemysłu mleczarskiego może być realizowane przy wykorzystaniu różnego rodzaju reaktorów beztlenowych. Wyniki uzyskiwane z wykorzystaniem złóż beztlenowych w pełnej skali przedstawili Omil i in. (2003). Określili oni efektywność złoża beztlenowego na poziomie 90% usunięcia związków organicznych wyrażonych jako ChZT, przy obciążeniu ładunkiem kształtującym się w warunkach technicznych na poziomie 5–6 kg ChZT/m³ · d¹. Hydrauliczny czas retencji wynosił w trakcie badań od 20 d na początku do 3,33 d na końcu badań przy jednoczesnej wyrównanej efektywności oczyszczania. Niezwykle wysoką sprawność usuwania związków organicznych, sięgającą 98%, uzyskali Mendez i in. (1989). Filtry beztlenowe unieszkodliwiające serwatkę wymagały długiego hydraulicznego czasu zatrzymania HRT (142 dni). Jednak pomimo obciążenia ładunkiem organicznym OLR, równym 9,8 kg ChZT · m⁻³ · d⁻¹, uzyskano w warunkach mezofilowych znaczącą sprawność oczyszczania.

Rozwiązaniem stosowanym do oczyszczania ścieków mleczarskich są reaktory typu UASB (Demirel i in. 2005). W tego typu konstrukcjach stosowany jest bardzo szeroki zakres obciążeń OLR. Przykładowo Najafpour i in. (2008) prowadzili badania w zakresie od 7,9 do 45,42 kg ChZT/m³ · d, uzyskując przy temperaturze 35°C sprawność usunięcia związków organicznych z serwatki na poziomie 98%.

Opisywane w literaturze reaktory hybrydowe są najbliższe rozwiązaniu zastosowanemu w niniejszych badaniach. Najczęściej są to konstrukcje łączące reaktor UASB z zatapialnym złożem beztlenowym (*anaerobic filter*). Stosując takie rozwiązanie, Ramasamy i in. (2004) badali rozkład ścieków syntetycz-

nych o ChZT na poziomie $10 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$. Obciążenie ładunkiem związków organicznych mieściło się w granicach od 0,82 do 6,11 $\text{kg ChZT} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$, a hydrauliczny czas zatrzymania wynosił od 4,1 do 1,7 d. Przy takich parametrach technologicznych i mezofilowych warunkach temperaturowych sprawność usuwania ChZT wyniosła 90–97%.

Prezentowane w niniejszej pracy reaktory łączy ociekowe beztlenowe złożę biologiczne z reaktorem o zmiennym kierunku przepływu. W czasie badań stwierdzono, że sprawności usunięcia związków organicznych wyrażonych ChZT była zależna od sposobu ogrzewania w niewielkim stopniu. Sprawność usuwania ChZT wahała się od 86,9% przy ogrzewaniu konwekcyjnym do ok. 87,7%, gdy reaktor ogrzewany był mikrofalowo, a obciążenie ładunkiem organicznym było rzędu $5,0 \text{ kg ChZT/m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$. Dopiero badania respirometryczne przeprowadzone w większych obciążeniach ładunkiem związków organicznych wykazały istotny wpływ sposobu ogrzewania na efektywność rozkładu serwatki. Zmieniona pod wpływem mikrofal biocenoza efektywniej rozkładała związki organiczne zawarte w serwatce.

5. Podsumowanie

Osad poddawany działaniu promieniowania mikrofalowego cechował się wyższą aktywnością, szczególnie w zakresie wyższych obciążeń początkowych ładunkiem ChZT. Pokazały to pomiary respirometryczne, w których stwierdzono szybkość produkcji biogazu 95,9 ml/d dla osadu ogrzewanego mikrofalowo i 65,9 ml/d dla osadu ogrzewanego konwekcyjnie. Podobny efekt obserwowano podczas pomiarów zmian pH osadu po zadozowaniu serwatki. Wartość pH osadu ogrzewanego mikrofalowo szybciej wracała do wielkości początkowej – w stosunku do osadu ogrzewanego konwekcyjnie różnica w czasie mogła wynosić nawet 5 godz. (7 godz. dla osadu mikrofalowego, 12 godz. osad kontrolny).

Literatura

- Ahn J.-H., Shin S.G., Hwang S. 2009. *Effect of microwave irradiation on the disintegration and acidogenesis of municipal secondary sludge*. Chem. Eng. J., 153: 145–150.
- Banik S., Bandyopadhyay S., Ganguly S., Dan D. 2006. *Effect of microwave irradiated Methanosarcina barkeri DSM-804 on biomethanation*. Biores. Tech., 97: 819–823.
- Cakir F.Y., Stenstrom M.K. 2005. *Greenhouse gas production: a comparison between aerobic and anaerobic wastewater treatment technology*. Water Research, 39: 4197–4203.
- Calli B., Mertoglu B., Inanc B., Yenigun O. 2005. *Community changes during start-up in methanogenic bioreactors exposed to increasing levels of ammonia*. Environ. Technol., 26: 85–91.
- Cui F., Seunggho L., Moonil K. 2011. *Removal of organics and nutrients from food wastewater using combined thermophilic two-phase anaerobic digestion and shortcut biological nitrogen removal*. Water Research, 45: 5279–5286.

- Cydzik-Kwiatkowska A., Zieliński M., Jaranowska P. 2012. *Microwave radiation and reactor design influence microbial communities during methane fermentation*. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 39: 1397–1405.
- Demirel J.B., Yenigun O., Turgut T. O. 2005. *Anaerobic treatment of dairy wastewaters: a review*. Process Biochemistry, 40.
- Dogan I., Sanin F.D. 2009. *Alkaline solubilization and microwave irradiation as a combined sludge disintegration and minimization method*. Wat. Res., 43: 2139–2148.
- Eskicioglu C., Kennedy K.J., Droste R.L. 2006. *Characterization of soluble organic matter of waste activated sludge before and after thermal pretreatment*. Wat. Res., 40: 3725–3736.
- Eskicioglu C., Terzian N., Kennedy K. J., Droste R. L., Hamoda M. 2007. *Athermal microwave effects for enhancing digestibility of waste activated sludge*. Wat. Res., 41: 2457–2466.
- Fesenko E.E., Geletyuk V.I., Kazachenko V.N., Chemeris N.K. 1995. *Preliminary microwave irradiation of water solutions changes their channel-modifying activity*. FEBS Letters, 366: 49–52.
- Gabriel C., Gabriel S., Grant E.H., Halstead B.S.J., Mingos D.M.P. 1998. *Dielectric parameters relevant to microwave dielectric heating*. Chem. Soc. Rev., 27: 213–223.
- Guyen R.G., Guven K., Dawe A., Worthington J., Harvell C., Popple A., Smith T., Smith B., Pomerai D.I. de 2006. *Effects of radio-frequency fields on bacterial cell membranes and nematode temperature-sensitive mutants*. Enzyme and Microbial Technology, 39: 788–795.
- Ha S.H., Mai N.L., An G., Koo Y.-M. 2011. *Microwave-assisted pretreatment of cellulose in ionic liquid for accelerated enzymatic hydrolysis* Bioresour. Technol., 102: 1214–1219.
- Hadjiloucas S., Chahal M. S., Bowen J. W. 2002. *Preliminary results on the non-thermal effects of 200–350 GHz radiation on the growth rate of S. cerevisiae cells in microcolonies*. Phys. Med. Biol., 47: 3831–3845.
- Hill J.M., Marchant T.R. 1996. *Modelling microwave heating*. Applied Mathematical Modelling, 20(1): 3–15.
- Jackowiak D., Bassard D., Pauss A., Ribeiro T. 2011. *Optimisation of a microwave pretreatment of wheat straw for methane production* Biores. Tech., 102: 6750–6756.
- Jacob J., Chia L.H.L., Boey F.Y.C. 1995. *Review – thermal and non-thermal interaction of microwave radiation with materials*. Journal of Materials Science, 30(21): 5321–5328.
- Jones D.A., Lelyveld T.P., Mavrofidis S.D., Kingman S.W., Miles N.J. 2002. *Microwave heating applications in environmental engineering – a review*. Resources, Conservation and Recycling, 34: 75–90.
- Juutilainen J., Lang S. 1997. *Genotoxic, carcinogenic and teratogenic effects of electromagnetic fields. Introduction and overview*. Mutation Research, 387: 165–171.
- Kakita Y., Funatso M., Miake F., Watanabe K. 1999. *Effects of microwave irradiation on bacteria attached to the hospital white coats*. International J. of Occup. Med. & Environ. Health, 12(2): 123–126.
- Kashaninejad M., Tabil L.G. 2011. *Effect of microwave – chemical pre-treatment on compression characteristics of biomass grinds*. Biosyst. Eng., 108: 36–45.
- Kawala Z., Atamańczuk T. 1998. *Microwave-enhanced thermal decontamination of soil*. Environ. Sci. Technol., 32(17): 2602–2607.
- Lange M., Ahring B.K. 2001. *A comprehensive study into the molecular methodology and molecular biology of methanogenic Archaea*. FEMS. Microbiol. Rev., 25: 553–571.
- Ma S.J., Zhou X.W., Su X.J., Mo W., Yang J.L., Liu P. 2009. *A new practical method to determine the microwave energy absorption ability of materials*. Minerals Engineering, 22: 1154–1159.
- Mendez R., Blazquez R., Lorenzo F., Lema J.M. 1989. *Anaerobic treatment of cheese whey: start-up and operation*. Water Sci. Technol., 21: 1857–1860.
- Moghim H. R., Alinaghi A., Erfan M. 2010. *Investigating the potential of non-thermal microwave as a novel skin penetration enhancement method*. Int. J. Pharm., 401: 47–50.
- Najafpour G.D., Hashemiyeh B.A., Asadi M., Ghasemi M.B. 2008. *Biological treatment of dairy wastewater in an upflow anaerobic sludge-fixed film bioreactor American-Eurasian*. J. Agric. Environ. Sci., 4(2): 251–257.
- Osepchuk J.M. 1984. *A history of microwave heating applications*. IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques, 32(9): 1200–1224.

- Omil F., Garrido J.M., Arrojo B., Mendez R. 2003. *Anaerobic filter reactor performance for the treatment of complex dairy wastewater AT industrial scale*. Water Res., 37: 4099–108.
- Palaniapan S., Sastry S.K. 1990. *Effects electricity on microorganisms a review*. J. Food Process. Preserv., 14: 393–414.
- Parker M.C., Besson T., Lamare S., Legoy M.D. 1996. *Microwave radiation can increase the rate of enzyme catalysed reaction in organic media*. Tetrahedron Letters, 37(46): 8383–8386.
- Perreux L., Loupy A. 2002. *A tentative rationalization of microwave effects in organic synthesis according to the reaction medium, and mechanistic considerations*. Tetrahedron, 57: 9199–9223.
- Ponne C. T., Bartels P. 1995. *Interaction of electromagnetic energy with biological material – relation to food processing*, Radiat. Phys. Chem., 45(4): 591–607.
- Porcelli M., Cacciapuoti G., Fusco S., Massa R., Ambrosio G., Bertoldo C., Rosa M.D., Zappia V. 1997. *Non-thermal effects of microwaves on proteins: thermophilic enzymes as model system*. FEBS Letters, 402: 102–106.
- Ramasamy E.V., Gajalakshmi S., Sanjeevi R., Jithesh M.N., Abbasi S.A. 2004. *Feasibility studies on the treatment of dairy wastewaters with upflow anaerobic sludge blanket reactors*. Bioresour. Technol., 93: 209–212.
- Song Z.X., Wang Z.Y., Wu L.Y., Fan Y.T., HOU H.W. 2012. *Effect of microwave irradiation pretreatment of cow dung compost on bio-hydrogen process from corn stalk by dark fermentation international*. Journal of Hydrogen Energy, 37: 6554–6561.
- Su H., Cheng Y., Zhou J., Song W., Cen K. 2010. *Hydrogen production from water hyacinth through dark- and photo-fermentation*. Journal of Hydrogen Energy, 35: 8929–8937.
- Tai H.S., Jou C.J.G. 1998. *Application of granular activated carbon packed-bed reactor in microwave radiation field to treat BT*. Chemosphere, 37(11): 2685–2698.
- Takashima Y., Hirose H., Koyama S., Suzuki Y., Taki M., Miyakoshi J. 2006. *Effects of continuous and intermittent exposure to RF fields with a wide range of SARs on cell growth, survival, and cell cycle distribution*. Bioelectromagnetics, 27: 392–400.
- Thungklin P., Reungsang A., Sittijunda S. 2011. *Hydrogen production from sludge of poultry slaughterhouse wastewater treatment plant pretreated with microwave*. International Journal of Hydrogen Energy, 36: 8751–8757.
- Toreci I., Kennedy K.J., Droste R.L. 2009. *Evaluation of continuous mesophilic anaerobic sludge digestion after high temperature microwave pretreatment*. Wat. Res., 43: 1273–1284.
- Yu Q., Lei H., Yu G., Feng X., Li Z., Wu Z. 2009. *Influence of microwave irradiation on sludge dewaterability*. Chem. Eng. J., 155: 88–93.
- Zieliński M., Dębowski M., Krzemieniewski M. 2006. *Nitrogen compounds transformation in the biological filter by means of direct energy supply to the biofilm*. Env. Technol., 27(11): 1369–1376.
- Zieliński M., Dębowski M., Krzemieniewski M. 2009. *The impact of microwave radiation on nitrification in biofilm reactor*. Pol. J. Env. Stud., 18(3A): 481–486.
- Zieliński M., Krzemieniewski M. 2007. *The effect of microwave electromagnetic radiation on organic compounds removal efficiency in a reactor with a biofilm*. Env. Technol., 28: 41–47.
- Zieliński M., Zielińska M. 2010. *Impact of microwave radiation on nitrogen removal and the quantity of nitrifiers in biofilm*. Canadian Journal of Civil Engineering, 37(4): 661–666.

ROZDZIAŁ 7

Współfermentacja biomasy odpadowej oraz z upraw energetycznych – stan obecny i kierunki rozwoju

Co-fermentation of waste biomass and biomass from dedicated energy crops – the current state and directions in the future development

Ewa Klimiuk, Zygmunt M. Gusiatiń, Katarzyna Bułkowska, Tomasz Pokój, Sabina Rynkowska

Katedra Biotechnologii w Ochronie Środowiska
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Słowa kluczowe: kofermentacja, biomasa odpadowa, biomasa roślinna, model ADM1.

Key words: co-fermentation, waste biomass, biomass, ADM1 model.

Streszczenie

W pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy w zakresie przetwarzania na biogaz odpadów rolniczych, z przetwórstwa rolno-spożywczego oraz biomasy roślinnej pochodzącej z upraw celowych. Przeanalizowano skład chemiczny różnego rodzaju substratów i kosubstratów pod kątem udziału składników istotnych z punktu widzenia wydajności biogazu, takich jak węglowodany, białka, tłuszcze oraz materiały włókniste. Scharakteryzowano kofermentację ze wskazaniem brzegowych warunków operacyjnych, tj. zawartości wilgoci, stosunku C/N, inhibitorów wzrostu. Porównano wydajność biogazu uzyskaną dla różnych substratów i kosubstratów w warunkach eksperymentalnych z teoretyczną, obliczoną na podstawie składu pierwiastkowego. Wskazano możliwości intensyfikacji produkcji biogazu rolniczego w skali technicznej. Omówiono najważniejsze aspekty modelowania procesów beztlenowych oraz możliwości aplikacji modelu ADM1 do szacowania produkcji biogazu w biogazowniach rolniczych.

Summary

In present study, the current state of knowledge in term of biogas production from agriculture, food processing waste and plant biomass from dedicated crops was presented. For different types of substrates and co-substrates, chemical composition was analyzed for components relevant to biogas production, such as carbohydrates, proteins, fats, and fibrous materials. The co-digestion process was characterized indicating the optimum operational conditions, i.e. moisture content, C/N ratio, microorganism growth inhibitors. The biogas yield for substrates and co-substrates obtained experimentally was compared to theoretical values, calculated based on the elementary composition. The possibilities of intensification of agricultural biogas production in technical scale were also indicated. The most important aspects of the anaerobic process modeling and capabilities of ADM1 model application to estimate biogas production in agricultural biogas plants were discussed.

1. Wstęp

Definicję biogazu rolniczego podano w art. 3 pkt 20a ustawy – Prawo energetyczne z dnia 10 kwietnia 1997 r., w myśl którego jest to paliwo gazowe otrzymywane w procesie fermentacji metanowej surowców rolniczych, produktów ubocznych rolnictwa, płynnych lub stałych odchodów zwierzęcych, produktów ubocznych lub pozostałości z przetwórstwa produktów pochodzenia rolniczego lub biomasy leśnej, z wyłączeniem gazu pozyskanego z surowców pochodzących z oczyszczalni ścieków oraz składowisk odpadów.

Z technologicznego punktu widzenia, biogaz rolniczy można wytwarzać z substratów pochodzących z jednego źródła, np. odchodów zwierzęcych (Kaparażu, Rintala 2005) lub fitomasy (Lehtomäki i in. 2008; Scherer i in. 2003). Jednak obecnie powszechnie stosuje się współfermentację (kofermentację) substratów pochodzących z dwóch lub więcej źródeł. Mieszanie substratów z kosubstratami daje korzystne efekty synergistyczne, umożliwia regulację zawartości wilgoci, zapewnia optymalne stężenie makro- i mikroelementów, a także eliminuje ryzyko inhibicji, wywołane np. zbyt dużym stężeniem amoniaku. W konsekwencji w wyniku zasilania reaktora substratami i kosubstratami o zróżnicowanym składzie chemicznym uzyskuje się większą stabilność procesu, co pozwala zwiększyć obciążenie objętości komory fermentacji ładunkiem organicznym w porównaniu z fermentacją monosubstratową. W efekcie rośnie produkcja biogazu oraz poprawia się skład pofermentatu (Braun i in. 2009).

W obiektach technicznych jako substraty zazwyczaj stosuje się biomasę w postaci kiszzonek, najczęściej kukurydzy. Kosubstraty stanowią różnego rodzaju odpady i produkty uboczne z rolnictwa (głównie gnojowica świńska). Według danych FAOSTAT (2003) roczna produkcja gnojowicy świńskiej w Europie wynosi ok. 300 mln t, w tym w Niemczech – 49 mln t, Hiszpanii – 46 mln t oraz Polsce – 33 mln t.

Jednym z wiodących krajów europejskich w energetyce biogazowej jest Dania – roczna produkcja metanu jest tam szacowana na 39 mln m³. Biogaz wytwarza się w ok. 20 scentralizowanych obiektach przetwarzających blisko 1,5 mln t gnojowicy w kofermentacji z odpadami organicznymi, zazwyczaj w warunkach termofilowych (Mata-Alvarez i in. 2011). W Szwecji spośród 200 funkcjonujących biogazowni zaledwie 10 to obiekty scentralizowane. W obiektach scentralizowanych przetwarza się odchody zwierzęce we współfermentacji z odpadami przetwórstwa rolno-spożywczego, natomiast małe biogazownie wykorzystują jako substraty biomasę roślinną. W Austrii w 25 na 41 badanych biogazowni jako substraty stosowano fitomasę, odchody zwierzęce oraz bioodpady (odpady kuchenne oraz odpady z obiektów gastronomicznych). W 14 obiektach udział odchodów zwierzęcych nie przekroczył 20%. W Niemczech do

produkcji biogazu rolniczego przeznacza się głównie biomasę roślinną oraz odchody zwierzęce. Procentowy udział fitomasy to ok. 59%, podczas gdy udział odpadów z chowu zwierząt – 25% (Weiland 2010).

W niniejszej pracy scharakteryzowano substraty i kosubstraty stosowane do produkcji biogazu w biogazowniach rolniczych, ze szczególnym uwzględnieniem udziału materiałów włóknistych. Porównano potencjał biogazowy pojedynczych substratów i kosubstratów oraz ich mieszanin na podstawie badań własnych i danych literaturowych. Dokonano przeglądu warunków operacyjnych procesu i parametrów technologicznych w biogazowniach rolniczych w skali technicznej. Wykazano postęp prac w zakresie modelowania produkcji biogazu za pomocą modelu ADM1.

2. Charakterystyka substratów i kosubstratów

Analizując skład biomasy pod kątem jej przetwarzania na biogaz, zazwyczaj mierzy się zawartość wody, stężenie związków organicznych w suchej masie oraz wyznacza proporcję C/N. Z punktu widzenia wzrostu mikroorganizmów ważne jest zapewnienie odpowiedniego stężenia makro- i mikroelementów i/lub innych substancji niezbędnych do ich wzrostu (przykładowo obecność witamin A, B, C, D, E i K stymuluje wzrost metanogenów). Aby zapewnić optymalny skład substratu, w niektórych przypadkach, zwłaszcza podczas fermentacji biomasy roślinnej, wprowadza się dodatki (modyfikatory) w postaci montmorylonitu, kaolinitu, tlenków, hydroksytlenków. Metanogeny wykazują dużą wrażliwość na obecność substancji toksycznych, co powinno być brane pod uwagę przy doborze kosubstratów. Z technologicznego punktu widzenia kosubstraty nie powinny również zawierać substancji powodujących zanieczyszczenie biogazu. Dla celów projektowych istotne znaczenie ma szybkość biodegradacji, która zależy od ich składu chemicznego.

2.1. Skład chemiczny wybranych substratów i kosubstratów

Do produkcji biogazu wykorzystuje się odpady z hodowli i chowu zwierząt (obornik, gnojowica), biomasę z celowych upraw polowych w postaci kiszzonek, odpady i produkty uboczne z rolnictwa (słoma, nieużyteczne liście lub korzenie warzyw i inne), odpady i/lub produkty uboczne z przetwórstwa rolno-spożywczego (wysłodki buraczane, drożdże odpadowe z gorzelnii, młóto z browarów, wycięki z przetwórnii owoców, chłodni, wycięki soków itp., makuchy oraz śrutu poekstrakcyjne z wycięki olejów, odpady z rzeźni).

Zawartość wody w biomacie roślinnej waha się od 10% (słoma owsiana) do ponad 80% w przypadku zielonki buraka cukrowego (Lehtomäki i in. 2008). Sucha masa wywaru gorzelnianego wynosi 110–190 g/dm³ (Mohana i in. 2009). Udział substancji organicznych w przeliczeniu na jednostkę suchej masy, w zależności od rodzaju substratu, mieści się w szerokim przedziale od 70 do 95%. Substraty, w których stężenie suchej masy organicznej jest mniejsze niż 60%, uważa się za mało przydatne do produkcji biogazu. Podstawowymi składnikami biomasy są węglowodany (mono-, oligo- i polisacharydy), białka oraz tłuszcze, których udział jest zmienny. Ponadto, występuje lignina, co wynika z obecności materiałów włóknistych, zwłaszcza w fitomasie. Podatność na biodegradację ww. składników maleje w szeregu: cukry > białka > tłuszcze > hemicelulozy > celuloza >> lignina.

W warunkach beztlenowych, monosacharydy i oligosacharydy, szybko fermentują do lotnych kwasów tłuszczowych. Białka także są degradowane z dużą szybkością. Oksydacja tłuszczów zachodzi wolniej z uwagi na ich niską biodostępność (Steffen i in. 1998).

Wyraźnie mniejszą podatnością na rozkład biologiczny charakteryzują się materiały włókniste: celuloza, hemiceluloza oraz lignina, co wynika z ich złożonej struktury chemicznej. Z uwagi na krystaliczną postać celuloza hydrolyzuje wolniej aniżeli amorficzne hemicelulozy (Myint i in. 2007). Lignina, będąca złożonym heterogenicznym polimerem, w warunkach beztlenowych nie ulega rozkładowi bądź ulega w niewielkim stopniu. Do jej degradacji wymagana jest obecność niespecyficznych zewnątrzkomórkowych oksydoreduktaz oraz lakaz. Brak tlenu cząsteczkowego uniemożliwia ich funkcjonowanie i w konsekwencji degradację ligniny (Ko i in. 2009). Zdaniem Deubleina i Steinhausera (2011), z uwagi na małą szybkość hydrolizy materiałów włóknistych, w warunkach procesowych konieczny jest długi czas zatrzymania substratu w reaktorach wynoszący powyżej 20 dni.

Na podstawie danych literaturowych oraz badań własnych w tabeli 1 przedstawiono charakterystykę chemiczną zielonek i kiszonek dla wybranych roślin, tj.: kukurydzy zwyczajnej, sorgo, miskanta cukrowego, mieszaniny lucerny siewnej z tymotką łąkową oraz buraka cukrowego.

Z przedstawionych danych wynika, że udział substancji organicznych zarówno w zielonkach, jak i kiszonkach był zróżnicowany. Najwyższy stwierdzono dla kukurydzy zwyczajnej (93–97%), zaś najniższy dla kiszonki lucerny siewnej z tymotką łąkową (83%). Ponadto najwyższym stężeniem biodegradowalnych związków organicznych charakteryzowała się kiszonka buraka cukrowego zawierająca głównie cukry proste oraz kiszonka lucerny z tymotką łąkową, w której dominowały białka.

Tabela 1

Charakterystyka chemiczna zielonek i kiszzonek

Parametr	Jednostka	Zielonki		Kiszzonki								
		Kalač (2011)	Grali i in. (2009)	Lehtomäki i in. (2008)	Herrmann i in. (2011)		Amon i in. (2007)	badania własne				
		kukurudza zw.*	słonecznik	burak cuk.	kukurudza**	sorgo sudanские**	kukurudza**	kukurudza zwycajna**	sorgo cuk.	burak cuk.	miskant cuk.	lucerna z tymoką
Odczyn	pH	n.a.	5,0	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	4,53	5,5	4,23	6,86	4,71
Zasadowość	g CaCO ₃ /dm ³	n.a.	0	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0,29	1,5	n.a.	1,42	1,05
ChZT	g/dm ³	n.a.	1529****	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	14,9	12,4	68,3	2,96	18,1
Lotne kwasy tłuszczowe	g/dm ³	n.a.	n.w.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0,86	1,14	0,30	0,61	1,85
Azot amonowy	g/dm ³	n.a.	n.w.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0,072	0,042	0,0	0,011	0,088
Azot ogólny	g N/kg s.m.	n.a.	32,7	22	n.a.	n.a.	n.a.	11,1	13	5,7	15	26
Sucha masa ogólna	g s.m./kg	468	116	116	318	301	431	272	180	196	408	213
Sucha masa organiczna	g s.m.o./kg	452	101	99	304	273	418	254	165	186	360	176
Udział substancji organicznej	%	97	95	85	96	91	97	93	92	95	88	83
Białko	g/kg s.m.o.	69,3	215	n.a.	79,4	63,9	71,2	88	89	68	41	191
Tłuszcze	g/kg s.m.o.	22,8	55,3	n.a.	33,4	17,6	15,5	16	13	5,5	13	27
Cukry proste	g/kg s.m.o.	n.a.	637	n.a.	n.a.	n.a.	29,9	144	10	580	14	52
Celuloza	g/kg s.m.o.	244	427	n.a.	199	358	229	241	446	100	481	380
Hemicelulozy	g/kg s.m.o.	354	90	n.a.	141	102	314	242	211	100	228	114
Lignina	g/kg s.m.o.	52,8	121	n.a.	20,9	61,7	49,5	42	89	6,4	93	86
Cel + Hem + Lig	g/kg s.m.o.	651	638	n.a.	361	522	593	525	746	206	802	580

n.a. – nie analizowano; n.w. – nie wykryto

* zbiór kukurydzy w fazie pełnej dojrzałości; ** czas zakiszenia biomasy, t = 90 dni

**** odmiana Tonale, zbiór kukurydzy w fazie pełnej dojrzałości, wyniki podano w przeliczeniu na świeżą masę; **** g/kg s.m.

Tabela 2
 Charakterystyka chemiczna odpadów rolnych i produkcji biodiesla

Parametr	Jednostka	Gnojowica świńska			Obornik bydlęcy	Wywar gorzelniany		Frakcja glicerynowa	
		Møller i in. (2004)	Xie i in. (2011)	Bohdziewicz i in. (2011)		badania własne	Mohana i in. (2009)	badania własne	Astals i in. (2011)
Odczyn	pH	n.a.	7,4	6,7	7,2	3,0-4,5	4,98	7,0	10,2
Zasadowość	g CaCO ₃ /dm ³	n.a.	n.a.	n.a.	1,07 ^e	n.a.	2,25	0,14	4,61 ^e
ChZT	g O ₂ /dm ³	n.a.	126	30,4	2,23 ^e	110-190	73,8	2933	170,3 ^e
Lotne kwasy tłuszczowe	g/dm ³	62,6-80,0 ^a	31 ^d	n.a.	0,75 ^e	n.a.	4,3	n.a.	0,27 ^e
Azot amonowy	g/dm ³	5,0-46,1 ^b	1,65	4,91	0,097 ^e	n.a.	0,07	n.a.	0,014 ^e
Azot ogólny	g/kg s.m.	29,3-70,1	43	30,0	n.a.	5-7	54	n.a.	n.a.
Sucha masa ogólna	g s.m./kg	95,5-292,2 ^c	126	62,2 ^c	96,2	110-190	72,3	850	917
Sucha masa organiczna	g s.m.o./kg	803,5-912,1	93	51,8 ^c	64,1	80-120	56,2	850	826
Białko	g/kg s.m.o	175,7-299,5	n.a.	n.a.	119,7	n.a.	404	n.a.	n.a.
Tłuszcze	g/kg s.m.o	110,6-170,7	n.a.	n.a.	8,4	n.a.	156	n.a.	n.a.
Cukry	g/kg s.m.o	397,5-600,0	n.a.	n.a.	0,00	n.a.	8,2	n.a.	n.a.
Lignina	g/kg s.m.o	43,3-61,0	n.a.	n.a.	82	n.a.	55,5	n.a.	n.a.

n.a. - nie analizowano

^a - g/kg s.m.o.

^b - g/kg s.m.

^c - g s.m./dm³

^d - g/kg s.m.

^e - analiza supernatantu uzyskanego z rozcińczenia substratu w proporcji 1:10 (w/v)

Porównując wyniki badań własnych z danymi z piśmiennictwa, można stwierdzić, że udział substancji włóknistych, takich jak hemicelulozy i lignina, dla kukurydzy zwyczajnej wykazywał znaczne różnice, co mogło mieć związek ze zbiorem rośliny w różnym okresie wegetacyjnym. Zawartość celulozy i hemiceluloz w kiszonkach była porównywalna, ale wyraźnie większa niż ligniny. Spośród analizowanych roślin najwyższym stężeniem materiałów włóknistych, w tym ligniny, charakteryzowała się kiszonka miskanta cukrowego oraz sorgo cukrowego.

W tabeli 2 podano charakterystykę chemiczną kosubstratów stanowiących odpady z rolnictwa (gnojowica świńska, obornik bydlęcy, wywar gorzelniany) oraz z produkcji biodiesla (frakcja glicerynowa). Gnojowica świńska oraz obornik bydlęcy charakteryzują się niską zawartością suchej masy w zakresie od 75,3 do 126 g/kg. Udział substancji organicznych dla gnojowicy świńskiej przekraczał 70%, zaś dla obornika wynosił ok. 67%. Oba kosubstraty cechowały się znacznym udziałem ligniny, co potwierdziły badania własne (tab. 2). Ponadto wysoka zasadowość oraz odczyn świadczą o dużej pojemności buforowej wynikającej z obecności azotu amonowego, zwłaszcza w przypadku gnojowicy świńskiej.

Wywar gorzelniany w odróżnieniu od odchodów zwierzęcych wykazywał odczyn kwaśny, ale odznaczał się wysokim stężeniem rozpuszczonych związków organicznych (wyrażonych jako ChZT). Stężenie suchej masy wynosiło 72–190 g s.m./kg, w tym 63–78% stanowiły związki organiczne. W porównaniu z obornikiem bydlęcym wywar gorzelniany zawiera znacznie więcej białek i tłuszczów, a mniej ligniny. Szczególnie pożądanym kosubstratem w procesie fermentacji może być frakcja glicerynowa z uwagi na alkaliczny odczyn oraz wysoką zawartość rozpuszczonych związków organicznych.

2.2. Stosunek C/N

Zapotrzebowanie na makroelementy jest wyrażane jako proporcja pomiędzy stężeniem węgla organicznego (rzadziej ChZT) oraz danym pierwiastkiem (zazwyczaj azotem). Odpady zielone oraz kiszonki upraw roślinnych cechuje wysoki stosunek C/N, podczas gdy odchody zwierzęce – niski. Niedobór azotu do węgla w substracie powoduje hamowanie syntezy białek i może prowadzić do zaburzeń metabolicznych u mikroorganizmów. Fermentacja substratów, które charakteryzują się dużym stężeniem azotu w stosunku do węgla, przeciwnie – może prowadzić do wzrostu stężenia amoniaku w pofermentacie i w konsekwencji hamować rozwój gatunków najbardziej wrażliwych na inhibicyjne działanie amoniaku.

Przyjmuje się, że optymalny stosunek C/N powinien mieścić się w przedziale od 16:1 do 25:1 (Deublein, Steinhauser 2011), chociaż według innych autorów proporcja C/N może zmieniać się w szerokim zakresie od 20 do 70 (Burton, Turner 2003) lub nawet od 12 do 16 (Mshandete i in. 2004). Tak duże rozbieżności należy wiązać z rodzajem związków organicznych zawierających azot w materiale odpadowym. Gdy materiał organiczny ma w swoim składzie związki nie ulegające biodegradacji, jak np. lignina, wówczas związany z nią azot jest niedostępny dla mikroorganizmów.

Podstawowa zasada procesu współfermentacji bazuje na dążeniu do ilościowego i jakościowego bilansowania składu mieszaniny zasilającej reaktory poprzez odpowiedni dobór komponentów, zapewniający kompensację „niedoboru i nadmiaru” składników właściwych każdemu z monosubstratów. Zapewnienie optymalnej proporcji C/N jest możliwe w wyniku współfermentacji gnojowicy i biomasy roślinnej (kiszonki, zielonki). Gnojowica stanowi również źródło wody procesowej, umożliwiając rozcieńczenie kiszzonek bez konieczności używania do tego celu świeżej wody, a także dostarcza substancji odżywczych i enzymów. Ponadto współfermentacja odchodów zwierzęcych z biomasą roślinną wpływa korzystnie na jakość pofermentatu, którego skład staje się bardziej podobny do składu nawozów naturalnych.

2.3. Inhibitory wzrostu mikroorganizmów

Odchody zwierzęce zawierają azot w formie amoniaku, białek oraz mocznika. Z licznych doniesień wynika, że poziom stężenia amoniaku wywołujący inhibicję jest silnie zróżnicowany i waha się w szerokim przedziale od 1,7 do 14 g $\text{NH}_4^+/\text{dm}^3$ (Angelidaki, Ahring 1993). Tak duże różnice wynikają z odmiennych warunków fermentacji, poczynając od składu substratu, warunków środowiskowych (głównie temperatury i odczynu), a kończąc na zdolności wielu gatunków do adaptacji. Do metanogenów nie tolerujących wysokich stężeń amoniaku należą gatunki z rodzaju *Methanosaeta* (Sung, Liu 2003). Do najbardziej wrażliwych zalicza się *Methanosaeta concilii*, której wzrost ulega zahamowaniu, gdy stężenie amoniaku wynosi 560 mg $\text{N-NH}_4/\text{dm}^3$ przy pH równym 7,0 (Sprott, Patel 1986). W odróżnieniu *Methanosarcina* toleruje amoniak w wysokich stężeniach i z tego powodu jest dominantem w biogazowniach wykorzystujących jako substrat odchody zwierzęce.

Odchody z chowu trzody chlewnej zawierają również związki siarki, co wynika z diety bogatej w białka. W procesach beztlenowych rozkład substratów zawierających białka prowadzi do wzrostu stężenia siarczków oraz siarkowodoru. Toksyczny efekt H_2S wynika z jego zdolności dyfuzji poprzez błony komórkowe. Wnikając do cytoplazmy, siarkowodor powoduje denaturację bia-

łek. Siarczki i disiarczki łatwo tworzą wiązania pomiędzy łańcuchami polipeptydów oraz oddziałują na koenzymy (Chen i in. 2008). Inhibicyjny poziom stężenia mieści się w szerokim zakresie 100–800 mg/dm³ dla siarczków rozpuszczonych i ok. 50–400 mg/dm³ dla H₂S (Parkin i in. 1990).

W paszach dla zwierząt występują antybiotyki oraz chemoterapeutyki, czyli substancje chemiczne hamujące rozwój drobnoustrojów chorobotwórczych. Wpływ tych związków jest zróżnicowany. Niektóre z nich mogą działać inhibicyjnie już w stężeniu 1 mg/dm³ (Hilpert i in. 1984).

Biomasa roślinna charakteryzuje się dużym stężeniem materiałów lignocelulozowych. Wyniki badań uzyskane przez Sierra-Alvarez (1990) wskazują na inhibicyjne działanie niskocząsteczkowych lignin, zależne od rodzaju grup funkcyjnych przyłączonych do pierścieni aromatycznych. Związki zawierające grupy aldehydowe lub inne hydrofobowe podstawniki wykazują wysoką toksyczność, podczas gdy związki z grupami karboksylowymi działają inhibicyjnie tylko wówczas, gdy występują w wysokim stężeniu.

Wydajność biogazu zależy również od odczynu i zasadowości (Mata-Alvarez i in. 2011). W dobrze pracujących komorach za optymalną dla wytwarzania metanu uznaje się wartość w zakresie pH 7,2–7,4, a zasadowość w granicach 80–200 mval/dm³. Badania własne wykazały, że wzrost udziału gnojowicy świńskiej we wsadzie surowcowym z 7,5 do 25% (jako s.m.o.) spowodował zwiększenie alkaliczności odpowiednio z 219 do 420 mval/dm³, natomiast współczynnik wydajności metanu wyniósł odpowiednio 0,35 i 0,38 dm³ CH₄/g s.m.o. · d (Bułkowska i in. 2012).

Z uwagi na małą zdolność buforującą kiszzonek, podczas fermentacji mogą tworzyć się kwasy organiczne w stężeniu wywołującym efekty inhibicyjne. Gdy stosowana jest wstępna obróbka chemiczna odpadów zawierających lignocelulozy, tworzą się toksyczne związki, takie jak furfural, hydroksymetylofurfural, kwas mrówkowy i lewulinowy (Speece 1987). Inhibicyjne działanie może również być spowodowane obecnością pestycydów i herbicydów (Khalil i in. 1991; Chakraborty i in. 2002).

3. Wydajność biogazu/metanu z biomasy roślinnej i odpadów rolniczych

Wydajność biogazu/metanu jest podstawowym parametrem charakteryzującym przydatność różnych substratów do fermentacji metanowej. Teoretyczną wydajność można obliczyć z równania stechiometrycznego, gdy znany jest skład elementarny substratu. W tym celu można wykorzystać równania podane przez Nynsa (1986). Równania różnią się ilością pierwiastków uwzględnionych w składzie elementarnym, tj.: węgla, wodoru, tlenu,

azotu, siarki lub dodatkowo kationu limitującego wzrost. Najczęściej do opisu składu pierwiastkowego substratu wykorzystywana jest formuła $C_nH_xO_yN_z$. Jednak teoretyczna wydajność biogazu liczona z równań stechiometrycznych jest przeszacowana, ponieważ w warunkach procesowych tylko związki biodegradowalne mogą być przekształcane do metanu. Z tego powodu wydajność biogazu wyznacza się empirycznie w warunkach statycznych lub dynamicznych.

3.1. Warunki statyczne

Jako pierwsi metodologię badań zaprezentowali Chynoweth i in. (1993) oraz Owens i Chynoweth (1993). Beztlasowe testy respirometryczne prowadzili w naczyniach zamkniętych w ustalonej temperaturze procesu, stosując odpowiednią ilość zaszczipienia i objętość badanych próbek. Autorzy oceniali szybkość biodegradacji i wydajność biogazu z różnych frakcji odpadów komunalnych.

Obecnie wydajność biogazu/metanu wyznacza się na podstawie badań respirometrycznych (OxiTop®) w standardowych warunkach opisanych w PN-EN ISO 11734:2003. Potencjał biogazowy/metanowy wyraża specyficzną dla danego substratu wydajność biogazu/metanu ustaloną dla warunków normalnych w odniesieniu do jednostkowej masy substancji organicznej w substracie.

W tabeli 3 podano wyniki teoretycznej wydajności biogazu/metanu dla pojedynczych substratów i kosubstratów, obliczone na podstawie składu elementarnego, oraz wydajność biogazu/metanu z piśmiennictwa. Z prezentowanych danych wynika, że wartości tego parametru różnią się w zależności od rodzaju substratu lub kosubstratu. Spośród biomasy roślinnej najwyższą teoretyczną wydajność metanu odnotowano dla kiszzonek miskanta cukrowego i lucerny siewnej z tymotką (średnio $0,50 \text{ dm}^3/\text{g}$ s.m.o.), zaś najniższą dla kiszzonek buraka cukrowego ($0,38 \text{ dm}^3/\text{g}$ s.m.o.). Wydajność metanu określona na podstawie testów respirometrycznych była niższa od wartości teoretycznej, z wyjątkiem kiszzonek buraka cukrowego, dla której była porównywalna.

Pod względem wydajności metanu najbardziej korzystna dla kofermentacji jest frakcja glicerynowa, której teoretyczna wydajność biogazu wyniosła $1,15 \text{ dm}^3/\text{g}$ s.m.o., zaś metanu – $0,89 \text{ dm}^3/\text{g}$ s.m.o. Najmniej wydajnym kosubstratem jest obornik bydlęcy (tab. 3).

Tabela 3
Teoretyczna wydajność biogazu/metanu ($Y_{b,m}$) dla wybranych substratów i kosubstratów

Rodzaj substratu/kosubstratu	Y_b [dm ³ /g s.m.o.]	Y_m [dm ³ /g s.m.o.]	Piśmiennictwo
Kukurydza zwyczajna	0,87	0,45	badania własne*
		0,268–0,366	Amon i in. (2007)
		0,282–0,419	Schittenhelm (2008)
		0,251–0,349	Oslaj i in. (2010)
		0,364	Plöchl i in. (2009)
		0,345	Bauer i in. (2010)
		0,370–0,410	Bruni i in. (2010)
		0,328–0,418	Vervaeren i in. (2010)
		0,196–0,269 ^a	Gao i in. (2012)
		0,245–0,31 ^b	
	0,247–0,335 ^c		
Sorgo cukrowe	0,92	0,48	badania własne*
		0,362	Bauer i in. (2010)
		0,280–0,400	Jerger i in. (1987)
Burak cukrowy	0,55	0,38	Zubr (1989)
	0,76	0,38	badania własne*
		0,360	Zubr (1986)
		0,381	
Miskant cukrowy	0,96	0,51	badania własne*
Lucerna siewna z tymotką	0,95	0,50	badania własne*
		0,357	Bauer i in. (2010)
Tymotka		0,308–0,365	Seppälä i in. (2009)
Tymotka z koniczyną		0,370–0,380	Lehtomäki i in. (2008)
Gnojowica świńska	0,85	0,54	badania własne*
	0,41	0,22	Amon i in. (2006)
		0,33–0,40	Møller i in. (2004)
		0,230–0,620	Hejnfelt, Angelidaki (2009)
		0,280	Xie i in. (2011)
Obornik bydłocy		0,10–0,21	Møller i in. (2004)
		0,11	Chen i in. (2010)
Wywar gorzelniany	1,14	0,69	badania własne*
Wywar melasowy	0,42		Braun i in. (2003)
Wywar zbożowy	0,40		
Wywar ziemniaczany	0,47		
Frakcja glicerynowa	1,15	0,89	badania własne*
	1,29	0,75	Amon i in. (2006)

* teoretyczna wydajność biogazu/metanu obliczona na podstawie składu pierwiastkowego substratu/kosubstratu (Raport z wykonania etapu badawczego 4.2.C. *Fermentacja i współfermentacja odpadowej biomasy z przemysłu rolno-spożywczego oraz pozyskiwanej z dedykowanych upraw energetycznych, 1.06.2010 – 30.11.2012*, dane niepubl.)

^a – faza dojrzałości mlecznej; ^b – faza dojrzałości woskowej; ^c – faza pełnej dojrzałości

3.2. Wydajność metanu w reaktorach quasi-przepływowych

W warunkach technicznych wytwarzanie biogazu rolniczego odbywa się najczęściej w reaktorach z całkowitym wymieszaniem, dla których podstawowe parametry technologiczne to hydrauliczny czas zatrzymania (HRT) oraz obciążenie objętości komory ładunkiem organicznym (OLR). Z tego powodu w ostatnich latach tego typu reaktory wykorzystuje się również do celów badawczych. Do tej pory badania koncentrowały się na określeniu wpływu rodzaju, stężenia i składu chemicznego substratu/kosubstratu na produkcję biogazu, warunków operacyjnych procesu (jak OLR, HRT, temperatura, pH).

Wu i in. (2010) prowadzili badania kofermentacji gnojowicy świńskiej w reaktorach laboratoryjnych o objętości 4 dm³. Jako kosubstraty wykorzystali odpady rolnicze w postaci kolb kukurydzianych, słomy owsianej i pszenicznej. Proporcję pomiędzy substratem a kosubstratami zmieniali, uwzględniając stosunek C:N, który wynosił 16/1, 20/1 oraz 25/1. Najwyższą produkcję biogazu uzyskali, stosując jako kosubstrat kolby kukurydziane. Za najbardziej optymalną uznali proporcję C/N = 20/1, dla której kumulatywna objętość biogazu i metanu była odpowiednio 11- i 16-krotnie wyższa w porównaniu z wynikami uzyskanymi podczas fermentacji samej gnojowicy i wyniosła odpowiednio 81,7 i 41,6 dm³. Różnice w objętości biogazu/metanu autorzy tłumaczyli wyższą podatnością na biodegradację związków organicznych w biomase anizeli w gnojowicy.

Li i in. (2011) badali wpływ udziału odpadów z ekstrakcji ziół na wydajność biogazu z gnojowicy świńskiej. Proporcja gnojowicy świńskiej do odpadów zmieniała się w przedziale od 90:10% do 50:50% w przeliczeniu na suchą masę organiczną. Badania prowadzono w reaktorze z całkowitym wymieszaniem o objętości czynnej 7 dm³, przy stałym HRT (30 d) i OLR (2,9 g s.m.o./dm³ · d). Wraz ze wzrostem udziału odpadów w mieszaninie objętość biogazu wytwarzanego w ciągu doby zwiększała się z 7,62 do 10 dm³. Udział metanu w biogazie zmieniał się od 57,2 do 63,8%.

Wang i in. (2009) podczas współfermentacji gnojowicy świńskiej ze słomą pszeniczną w proporcji 1:1 prowadzonej w warunkach termofilowych (55°C) przy hydraulicznym czasie zatrzymania wynoszącym 15 dni uzyskali wydajność metanu na poziomie 271 dm³/kg s.m.o.

Badania własne nad kofermentacją mieszaniny kiszzonek kukurydzy zwyyczajnej i miskanta cukrowego z dodatkiem gnojowicy świńskiej w zmiennej proporcji, prowadzone w reaktorach z pełnym wymieszaniem o objętości 6 dm³, przy HRT = 45d i obciążeniu komory ładunkiem organicznym równym 2,1 g/dm³ · d, wykazały, że z punktu widzenia produkcji biogazu/metanu najbardziej korzystny jest udział gnojowicy wynoszący 12,5%. Wzrost stężenia tego

kosubstratu we wsadzie surowcowym do 25% nie spowodował zwiększenia szybkości produkcji i współczynnika wydajności metanu, jednak stabilność procesu uległa obniżeniu z uwagi na wzrost stężenia azotu amonowego i lotnych kwasów tłuszczowych w pofermentacie (Bułkowska i in. 2012).

Tabela 4
Rzeczywista wydajność biogazu (Y_b) i metanu (Y_m) (w $\text{dm}^3/\text{g s.m.o.}$) dla kiszonek oraz ich mieszanin z kosubstratami na podstawie badań własnych i danych literaturowych w układach przepływowych

Nr	Rodzaj substratu	HRT [d]	OLR [g s.m.o./ $\text{dm}^3 \cdot \text{d}$]	Y_b	Y_m	Piśmiennictwo
1	kukurydza zwyczajna + lucerna siewna z tymotką łąkową (60:40% s.m.o.) frakcja glicerynowa (87,5/12,5% s.m.o.)	60	2,0	0,75	0,49	badania własne*
2	kukurydza zwyczajna + burak cukrowy (90:10% s.m.o.) frakcja glicerynowa/wywar gorzelniany (87,5/6,25/6,25% s.m.o.)	45	2,0	0,7	0,44	badania własne*
3	gnojowica świńska	30	2,3	0,46	0,33	Cuetos i in. (2011)
	gnojowica świńska (50%) + odpady rzepaczane (50%)			0,51	0,34	
	gnojowica świńska (50%) + odpady słonecznikowe (50%)			0,39	0,26	
	gnojowica świńska (50%) + kiszonka kukurydzy (50%)			0,46	0,30	
4	pulpa z manioku (0%) + gnojowica świńska (100%)	15	3,5	0,32	0,22	Panichnumsin i in. (2010)
	pulpa z manioku (20%) + gnojowica świńska (80%)			0,35	0,23	
	pulpa z manioku (40%) + gnojowica świńska (60%)			0,43	0,27	
	pulpa z manioku (50%) + gnojowica świńska (50%)			0,48	0,29	
	pulpa z manioku (60%) + gnojowica świńska (40%)			0,51	0,31	
	pulpa z manioku (80%) + gnojowica świńska (20%)			0,46	0,26	
	pulpa z manioku (100%) + gnojowica świńska (0%)			0,21	0,12	
5	kiszonka z traw	50	1,5–2,5	–	0,45	Nizami i in. (2012)**

* Raport z wykonania etapu badawczego 4.2.C. *Fermentacja i współ-fermentacja odpadowej biomasy z przemysłu rolno-spożywczego oraz pozyskiwanej z dedykowanych upraw energetycznych*, 1.06.2010 – 30.11.2012, dane niepubl.

** układ przepływowy, dwustopniowy

W tabeli 4 podano wyniki rzeczywistej wydajności biogazu/metanu dla mieszanin kiszzonek i kosubstratów uzyskane na podstawie badań własnych oraz rzeczywistą wydajność biogazu/metanu według różnych autorów. Z prezentowanych danych wynika, że w warunkach quasi-ciągłych fermentację fitomasy oraz jej mieszaniny z odpadami z przemysłu rolno-spożywczego i produkcji biodiesla najczęściej prowadzi się przy hydraulicznym czasie zatrzymania w przedziale od 30 do 60 dni oraz średnim obciążeniu komory fermentacji ładunkiem organicznym wynoszącym $2,2 \text{ g s.m.o/dm}^3 \cdot \text{d}$.

4. Kierunki intensyfikacji produkcji biogazu rolniczego

Z danych piśmiennictwa wynika, że podejście do projektowania biogazowni rolniczych w skali technicznej jest zróżnicowane, co potwierdzają wyniki podane w tabeli 5.

Tabela 5
Warunki operacyjne dla instalacji technologicznych produkujących biogaz rolniczy (Braun i in. 2009)

Parametr	Jednostka	Wartość średnia	Wartość minimalna	Wartość maksymalna
Zużycie surowca	t/d	13,2	0,8	58,9
Hydrauliczny czas zatrzymania	D	133	44	483
Obciążenie ładunkiem organicznym	$\text{kg/m}^3 \cdot \text{d}$	3,5	1	8
Ilość substancji organicznych we wsadzie	t/d	2,3	0,3	13,8
Ilość biogazu	Nm^3/d	1461	232	8876
Wydajność biogazu	$\text{Nm}^3/\text{kg s.m.o.}$	0,673	0,423	1,018
Specyficzna szybkość produkcji biogazu	$\text{Nm}^3/\text{m}^3 \cdot \text{d}$	0,89	0,24	2,3
Stężenie metanu	% obj.	54,8	49,7	67,0
Wydajność metanu	$\text{Nm}^3/\text{kg s.m.o.} \cdot \text{d}$	0,362	0,267	0,567
Usunięcie substancji organicznych	%	82,8	61,5	96,8
Możliwość wykorzystania systemów CHP	%	83,3	35,7	98,2
Wydajność energetyczna	%	31,3	20,7	39,2
Wydajność cieplna	%	16,5	0	42,6
Całkowita wydajność biogazu w przeliczeniu na zużycie energii	%	47,3	30,5	72,7

W niektórych obiektach odnotowuje się niedociążenie komór fermentacji, na co wskazują wyniki Lindorfera i in. (2008). Autorzy do intensyfikacji produkcji biogazu wykorzystali w skali technicznej układ dwustopniowy, złożony z 2 reaktorów o pojemności czynnej 2000 i 1850 m^3 . Substrat stanowiła

mieszanina gnojowicy świńskiej oraz kiszonek kukurydzy i żyta, mielonego ziarna kukurydzy i pszenicy oraz odpadów z przetwórstwa warzyw. Podczas prowadzonego w ściśle kontrolowanych warunkach eksperymentu zwiększano udział odpadów rolniczych w stosunku do gnojowicy. W ten sposób obciążenie komór ładunkiem organicznym zwiększyło się z 2,11 do 4,25 kg s.m.o./m³ · d, co skutkowało uzyskaniem wyższej produkcji biogazu. W efekcie moc biogazowni uległa podwojeniu z 500 do 1000 kW. Jednak wielu operatorów instalacji funkcjonujących w skali technicznej obawia się zwiększania obciążenia komór fermentacji ładunkiem organicznym z uwagi na możliwość ich przeciążenia i zakwaszenia.

Wpływ temperatury na produkcję biogazu w pełnej skali technicznej był przedmiotem badań Cavinato i in. (2010). Autorzy prowadzili współfermentację obornika bydłęcego, kiszonki kukurydzy oraz odpadów z przetwórstwa owoców w komorze beztlenowej z pełnym wymieszaniem o objętości czynnej 380 dm³. Wykazali, że wraz ze zmianą temperatury z 47 do 55°C, współczynnik wydajności biogazu zwiększył się z 0,45 do 0,62 m³/kg s.m.o., zaś udział metanu w biogazie z 52 do 61%. Zdaniem Mata-Alvarez i in. (2011), stosując fermentację mieszaniny substratów (kofermentację), można uzyskać wyższą produkcję biogazu w porównaniu z fermentacją pojedynczych surowców. Autorzy podają, że zwiększając obciążenie komory ładunkiem organicznym podczas kofermentacji, w której podstawowy substrat stanowi gnojowica świńska, można uzyskać nawet o 200% wyższą wydajność metanu bez ryzyka załamania procesu. W tym przypadku najbardziej korzystne jako kosubstraty okazały się odpady rolnicze oraz rośliny z upraw dedykowanych, charakteryzujące się niższą od gnojowicy zasadowością oraz wysoką proporcją C/N.

5. Modelowanie produkcji metanu w biogazowniach rolniczych

Opracowanie modeli matematycznych bazujących na procesach wzrostu mikroorganizmów jako narzędzi do prognozowania produkcji metanu w reaktorach beztlenowych od szeregu lat jest przedmiotem intensywnych badań. Do tej pory największe zainteresowanie budzi model nazwany ADM1, opracowany przez grupę zadaniową International Water Association (IWA), szczegółowo opisany przez Batstone i in. (2002). Zaletą modelu jest jego kompatybilność z modelami ASM stosowanymi powszechnie w praktyce inżynierskiej do prognozowania procesów oczyszczania ścieków. Wadą modelu jest jego duża złożoność, co wynika z konieczności uwzględnienia udziału różnych grup troficznych mikroorganizmów i wzajemnych relacji pomiędzy nimi.

Model ADM1 operuje na 33 zmiennych stanu, z których 18 występuje w formie rozpuszczonej (S_i), 12 w formie nierozpuszczonej (X_i) oraz 3 w formie gazowej (G_i).

W modelu ADM1 przemiany biochemiczne opisano za pomocą 19 równań uwzględniających procesy jednostkowe, takie jak hydroliza złożonej materii organicznej (białek, węglowodanów, tłuszczów), fermentacja cukrów (do lotnych kwasów tłuszczowych), degradacja białek, oksydacja długołańcuchowych kwasów tłuszczowych i alkoholi. Przyjęto, że metabolity pośrednie są przekształcane do kwasu octowego i wodoru z udziałem acetogenów. W ostatnim etapie jest wytwarzany metan z udziałem dwóch grup metabolicznych, tj. rozszczepiających octan reprezentowanych przez gatunki z rodzaju *Methanoaesaeta* lub *Methanosarcina* oraz hydrogenotrofów wytwarzających metan z wodoru i CO_2 . Hydrogenotrofy są reprezentowane przez szereg gatunków należących do rodzajów m.in. *Methanococcus*, *Methanotermus* lub *Methanomicrobium*. Procesy abiotyczne obejmują równania równowagi kwasowo/zasadowej oraz procesy transportu gazów, tj. CH_4 , CO_2 i H_2 .

Dla uporządkowania zapisu skorzystano ze standardowego formatu macierzowego. W formacie nazywanym zintegrowaną macierzą procesową umieszczono zmienne stanu S i X (oznaczone indeksem i), procesy (oznaczone indeksem j), wartości współczynników stechiometrycznych przemian poszczególnych składników (v_{ji}) oraz szybkości reakcji procesów jednostkowych (ρ_j).

W modelu ADM1 zdefiniowano współczynniki stechiometryczne, które są niezerowe. Tworzą one macierz, w której położenie przelicznika określone jest przez numer równania przypisanego do odpowiadającego mu procesu (wiersz) oraz numer komponentu, czyli rozważanej frakcji (kolumna).

Równania szybkości reakcji można pogrupować stosownie do typu przemian jako:

- reakcje hydrolizy – pierwszego rzędu względem stężenia substratu lub wielkocząsteczkowych produktów jego rozkładu;
- wzrostu mikroorganizmów, zgodnie z równaniem Monoda, zależne od S i X oraz stężenia inhibitora (I). Do inhibitorów zaliczono: 1) słabe kwasy lub zasady, takie jak lotne kwasy tłuszczowe, amoniak oraz siarkowodór, 2) odczyn, 3) stężenie kationów, 4) stężenie innych związków zakłócających równowagę w środowisku;
- reakcje obumierania mikroorganizmów, pierwszego rzędu względem stężenia biomasy.

Autorzy modelu ADM1 zaproponowali również stałe szybkości reakcji dla warunków mezofilowych i termofilowych fermentacji. W założeniach model został skonstruowany dla osadów ściekowych, ale w ostatnich latach jest testowany dla wielu innych substratów (tab. 6).

Tabela 6

Wyniki uzyskane z eksperymentów i modelu ADM1 dla różnych substratów i kosubstratów

Substraty/kosubstraty	ADM1 – modyfikacje	Biogaz	%CH ₄	pH	LKT	ChZT	N-NH ₄ ⁺	Piśmiennictwo
Odpady i ścieki z produkcji oliwy z oliwek	ADM1 – modyfikacja współczynników inhibicji	+	+	+	+	-	-	Boubaker, Ridha (2008)
Odpady i ścieki z produkcji oliwy z oliwek	ADM1 – uwzględnienie związków fenolu w komponentach modelu	+	+	+	n.b.	-	n.b.	Fezzani, Ben Cheikh (2009)
Osady ściekowe + bioodpady	ADM1	-	+	n.b.	+	+	n.b.	Derbal i in. (2009)
Gnojowica świńska	ADM1 – inhibicja metanogenów H ₂ S	+	+	+	+	+	+	Galt i in. (2009)
Kiszonki traw	ADM1 – uwzględnienie mlecza w komponentach modelu	+	+	+	+	n.b.	+	Thamsiroj i in. (2012)
Gnojowica + odpadki kuchenne	ADM1	+	+	+	+	n.b.	n.b.	Zaber i in. (2009)
Osady ściekowe	ADM1	+	n.b.	n.b.	+	+	n.b.	Aldin i in. (2011)
Kiszonka kukurydzy zwyczajnej	ADM1	n.b.	+	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	Białobrzewski i in. (2012)

„+” – zgodność danych eksperymentalnych z modelem

„-” – brak zgodności danych eksperymentalnych z modelem

„n.b.” – nie badano

Z danych piśmiennictwa wynika, że implementacja ADM1 do substratów i kosubstratów stosowanych w biogazowniach rolniczych wymaga dalszych badań. Jak podaje Mata-Alvarez i in. (2011) w przypadku fermentacji substratów innych niż osady ściekowe udział węglowodanów, białek oraz tłuszczów nie może być liczony jako frakcja w dopływie, gdyż konieczne jest eksperymentalne wyznaczenie ich stężenia. Czynnikiem limitującym wytwarzanie metanu jest szybkość hydrolizy, co narzuca konieczność określenia stałych szybkości dla tego procesu.

Zhao i in. (2009) modelowali fermentację biomasy uzyskanej z pałki wodnej z udziałem mikroorganizmów beztlenowych, których źródłem była treść żołądków kóz. Autorzy określili skład podstawowych komponentów pałki wodnej, dokonując ich podziału na substancje wolno biodegradowalne, szybko biodegradowalne i inertne. Do związków wolno biodegradowalnych (X_{SF}) zaliczyli celulozę oraz hemicelulozy, do szybko biodegradowalnych – węglowodany (X_{RF}), natomiast do inertnych – ligninę (X_I). W modelu nie uwzględniono lipidów i białek. Frakcja ($f_{SF,C}$) stanowiła 55%, natomiast frakcja $f_{RF,C}$ i $f_{I,C}$ odpowiednio 25 i 20% kg ChZT/kg ChZT. Stałe hydrolizy zaproponowane w modelu wyniosły $2,41 \text{ d}^{-1}$ dla związków wolno biodegradowalnych ($k_{hyd,SF}$) oraz $9,68 \text{ d}^{-1}$ dla szybko biodegradowalnych ($k_{hyd,RF}$).

W przypadku odpadów rolniczych fundamentalne znaczenie mają prace Lübken i in. (2007) oraz Galt i in. (2009). Lübken i in. (2007) zastosowali model ADM1 do symulacji produkcji biogazu z mieszaniny gnojowicy bydłej oraz paszy dla bydła (43% kiszonka kukurydzy, 12% jęczmień jary, 9% woda, 7% granulatu sojowy, 7% zboże, 4% siano) w proporcji 80:20 w przeliczeniu na suchą masę organiczną. Autorzy określili udział białek, lipidów oraz włókien w dopływie i odpływie. Zawartość białek wyniosła $0,018 \text{ kg ChZT/kg gnojowicy}$. Stężenie tłuszczów wyznaczono na podstawie zawartości tłuszczu surowego w substratach, natomiast węglowodany określano jako różnicę węglowodanów oznaczonych metodą weendeńską (w bezazotowych związkach wyciągowych i włóknie surowym) oraz ligniny i celulozy. Szybkość hydrolizy była stała ($0,31 \text{ d}^{-1}$) i nie zależała od rodzaju komponentów. Autorzy przyjęli ponadto, że udział aktywnej biomasy mikroorganizmów w gnojowicy wyniósł 4,2% (jako ChZT), a metanogenów – 0,05%.

Galt i in. (2009) określili frakcję węglowodanów, białek, tłuszczów, związków inertnych rozpuszczonych i nierozpuszczonych w przeliczeniu na ChZT całkowite w różnych odpadach rolniczych. Największy udział węglowodanów odnotowano w odpadach z produkcji oleju z rzepaku i słonecznika. Powstająca podczas produkcji soków z gruszek i jabłek pulpa zawierała w największym stężeniu związki inertne rozpuszczone, podczas gdy odpady z przetwórstwa pomarańczy – związki inertne nierozpuszczone. Gnojowica świńska zawierała w najwyższym stężeniu białka i tłuszcze. Stała szybkości hydrolizy dla glicero-

lu wynosiła $0,5 \text{ d}^{-1}$, dla odpadów z przetwórstwa rzepaku, słonecznika i pomarańczy pomiędzy $0,2$ a $0,3 \text{ d}^{-1}$, zaś dla pozostałych odpadów nie przekroczyła $0,2 \text{ d}^{-1}$.

Białobrzewski i in. (2012) wykorzystali model ADM1 do oszacowania produkcji metanu z substratów w postaci mieszaniny kiszzonek kukurydzy zwyczajnej (*Zea mays* L.) i miskanta cukrowego (*Miscanthus sacchariflorus*) w proporcji wagowej 90:10% oraz gnojowicy świńskiej jako kosubstratu. Proporcja fitomasy do kosubstratu wyniosła 92,5:7,5% wag. s.m.o. Autorzy określili, że stężenie suchej masy organicznej we wsadzie surowcowym wyniosło $114,3 \text{ kg ChZT/m}^3$, w tym celuloza, hemicelulozy oraz lignina stanowiły odpowiednio 32,7; 26,2 i $10,2 \text{ kg ChZT/m}^3$. Proces fermentacji metanowej prowadzono przy $\text{HRT} = 45 \text{ d}$ oraz $\text{OLR} = 2,1 \text{ g/dm}^3 \cdot \text{d}$ w reaktorze z pełnym wymieszaniem typu CSTR. Z uzyskanych danych wynika, że przy założonych stałych szybkości hydrolizy celulozy, hemiceluloz oraz ligniny, wynoszących odpowiednio 0,2318; 0,1995 i $0,042 \text{ d}^{-1}$, szybkość produkcji metanu w warunkach eksperymentu była porównywalna z szybkością uzyskaną z modelu.

6. Podsumowanie

Współfermentacja jest obecnie podstawowym sposobem wytwarzania biogazu rolniczego z uwagi na korzyści ekologiczne, technologiczne i ekonomiczne.

Analiza przeglądu literatury w tym zakresie pozwoliła wyznaczyć najważniejsze kierunki badawcze dotyczące właściwego doboru substratów oraz możliwości modelowania procesów beztlenowych za pomocą ADM1. Z punktu widzenia charakterystyki substratów/kosubstratów istnieje konieczność bardziej szczegółowego rozpoznania ich składu chemicznego. W szczególności dotyczy to udziału materiałów włóknistych i jest warunkiem niezbędnym do modelowania procesów z wykorzystaniem biomasy roślinnej.

Z uwagi na zróżnicowane tempo hydrolizy materiałów włóknistych badania powinny koncentrować się na określeniu stałych szybkości hydrolizy poszczególnych komponentów, która stanowi limitujący etap w łańcuchu przemian odpadów rolniczych i biomasy roślinnej do metanu.

Literatura

- Aldin S., Tu F., Nakhla G., Ray M.B. 2011. *Simulating the degradation of odor precursors in primary and waste-activated sludge during anaerobic digestion*. Appl. Bioch. Biotechnol., 164: 1292–1304.
- Amon T., Amon B., Kryvoruchko V., Bodiroza V., Potsch E., Zollitsch W. 2006. *Optimising methane yield from anaerobic digestion of manure: Effects of dairy systems and of glycerine supplementation*. Int. Congr. Ser., 1293: 217–220.

- Amon T., Amon B., Kryvoruchko V., Zollitsch W., Mayer K., Gruber L. 2007. *Biogas production from maize and dairy cattle manure – influence of biomass composition on the methane yield*. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 118: 173–182.
- Angelidaki I., Ahring B.K. 1993. *Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: the effect of ammonia*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 38: 560–564.
- Astals S., Ariso M., Galt A., Mata-Alvarez J. 2011. *Co-digestion of pig manure and glycerine: experimental and modelling study*. *J. Environ. Manag.*, 92: 1091–1096.
- Batstone D.J., Keller J., Angelidaki I., Kalyuzhnyi S.V., Pavlostathis S.G., Rozzi A., Sanders W.T.M., Siegrist H., Vavilin V.A. 2002. *Anaerobic digestion model No.1*. Scientific and Technical Report No. 13. IWA Publishing, London.
- Bauer A., Leonhartsberger C., Bosch P., Amon B., Friedl A., Amon T. 2010. *Analysis of methane yields from energy crops and agricultural by-products and estimation of energy potential from sustainable crop rotation systems in EU-27*. *Clean Technol. Environ. Policy*, 12: 153–161.
- Białobrzewski I., Klimiuk E., Markowski M., Bułkowska K. 2012. *The use of anaerobic digestion model no.1 (ADM1) for estimating of methane production in agricultural biogas plant*. Biogas Session of the South Baltic Gas Forum „Science & Technology for sustainable biogas production and use”, 17–18 wrzesień, Gdańsk (materiały konferencyjne).
- Bohdziewicz J., Kuglarz M., Mrowiec B. 2011. *Intensyfikacja fermentacji metanowej gnojowicy świńskiej przez wprowadzenie kosubstratu w formie bioodpadów komunalnych*. *Nauka Przyroda Technologie*, 5: 1–8.
- Boubaker F., Ridha B.C. 2008. *Modelling of the mesophilic anaerobic co-digestion of olive mill wastewater with olive mill solid waste using anaerobic digestion model No. 1 (ADM1)*. *Bioresour. Technol.*, 99: 6565–6577.
- Braun R., Brachtl E., Grasmug M. 2003. *Codigestion of proteinaceous industrial waste*. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 109: 139–153.
- Braun R., Weiland P., Wellinger A. 2009. *Biogas from energy crop digestion*. IEA Bioenergy Task.
- Bruni E., Jensen A.P., Pedersen E.S., Angelidaki I. 2010. *Anaerobic digestion of maize focusing on variety, harvest time and pretreatment*. *Appl. Energy*, 87: 2212–2217.
- Bułkowska K., Pokój T., Klimiuk E., Gusiatin Z.M. 2012. *Optimization of anaerobic digestion of a mixture of *Zea mays* and *Miscanthus sacchariflorus* silages with various pig manure dosages*. *Bioresour. Technol.*, 125: 208–216.
- Burton C., Turner C. 2003. *Manure Management*. Silsoe Research Institute, 281–282.
- Cavinato C., Fatone F., Bolzonella D., Pavan P. 2010. *Thermophilic anaerobic co-digestion of cattle manure with agro-wastes and energy crops: Comparison of pilot and full scale experiences*. *Bioresour. Technol.*, 101: 545–550.
- Chakraborty N., Sarkar G.M., Lahiri S.C. 2002. *Effect of pesticide (Tara-909) on biomethanation of sewage sludge and isolated methanogens*. *Biomass Bioenergy*, 23: 75–80.
- Chen G., Zheng Z., Yang S., Fang C., Zou X., Zhang J. 2010. *Improving conversion of *Spartina alterniflora* into biogas by co-digestion with cow feces*. *Fuel Process. Technol.*, 91: 1416–1421.
- Chen Y., Cheng J.J., Creamer K.S. 2008. *Inhibition of anaerobic digestion process: A review*. *Bioresour. Technol.*, 99: 4044–4064.
- Chynoweth D.P., Turick C.E., Owens J.M., Jerger D.E., Peck M.W. 1993. *Biochemical methane potential of biomass and waste feedstocks*. *Biomass Bioenergy*, 5: 95–111.
- Cuetos M.J., Fernández C., Gómez X., Morán A. 2011. *Anaerobic co-digestion of swine manure with energy crop residues*. *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, 16: 1044–1052.
- Derbal K., Bencheikh-Lehocine M., Cecchi F., Meniai A.-H., Pavan P. 2009. *Application of the IWA ADM1 model to simulate anaerobic co-digestion of organic waste with waste activated sludge in mesophilic condition*. *Bioresour. Technol.*, 100: 1539–1543.
- Deublein D., Steinhauser A. 2011. *Biogas from waste and renewable resources*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- FAOSTAT. 2003. *FAO statistics database on the world wide web*. Online: <<http://faostat.fao.org>> (dostęp: 19.02.2013).
- Fezzani B., Ben Cheikh R. 2009. *Extension of the anaerobic digestion model No. 1 (ADM1) to include phenol compounds biodegradation processes for simulating the anaerobic co-digestion of olive mill wastes at mesophilic temperature*. *J. Hazard. Mater.*, 172: 1430–1438.

- Galí A., Benabdallah T., Astals S., Mata-Alvarez J. 2009. *Modified version of ADM1 model for agro-waste application*. *Bioresour. Technol.*, 100: 2783–2790.
- Gao R., Yuan X., Zhu W., Wang X., Chen S., Cheng X., Cui Z. 2012. *Methane yield through anaerobic digestion for various maize varieties in China*. *Bioresour. Technol.*, 118: 611–614.
- Hejnfelt A., Angelidaki I. 2009. *Anaerobic digestion of slaughterhouse by-products*. *Biomass Bioenergy*, 33: 1046–1054.
- Herrmann C., Heiermann M., Idler C. 2011. *Effects of ensiling, silage additives and storage period on methane formation of biogas crops*. *Bioresour. Technol.*, 102: 5153–5161.
- Hilpert R., Winter J., Kandler O. 1984. *Agricultural feed additives and disinfectants as inhibitory factors in anaerobic digestion*. *Agric. Wastes*, 10: 103–116.
- Jerger D.E., Chynoweth D.P., Isaacson H.R. 1987. *Anaerobic digestion of sorghum biomass*. *Biomass*, 14: 99–113.
- Kalač P. 2011. *The required characteristics of ensiled crops used as a feedstock for biogas production: a review*. *J. Agrobiol.*, 28: 85–96.
- Kaparaju P.L.N., Rintala J.A. 2005. *The effects of post-treatments and temperature on recovering the methane potential of >2 mm solid fraction of digested cow manure*. *Environ. Technol.*, 26: 625–631.
- Khalil E.F., Whitmore T.N., Gamaleldin H., Elbassel A., Lloyd D. 1991. *The effects of pesticides on anaerobic digestion processes*. *Environ. Technol.*, 12: 471–475.
- Ko J.-J., Shimizu Y., Ikeda K., Kim S.-K., Park C.-H., Matsui S. 2009. *Biodegradation of high molecular weight lignin under sulfate reducing conditions: Lignin degradability and degradation by-products*. *Bioresour. Technol.*, 100: 1622–1627.
- Lehtomäki A., Viinikainen T.A., Rintala J.A. 2008. *Screening boreal energy crops and crop residues for methane biofuel production*. *Biomass Bioenergy*, 32: 541–550.
- Li Y., Yan X.-L., Fan J.-P., Zhu J.-H., Zhou W.-B. 2011. *Feasibility of biogas production from anaerobic co-digestion of herbal-extraction residues with swine manure*. *Bioresour. Technol.*, 102: 6458–6463.
- Lindorfer H., Corcoba A., Vasilieva V., Braun R., Kirchmayr R. 2008. *Doubling the organic loading rate in the co-digestion of energy crops and manure – A full scale case study*. *Bioresour. Technol.*, 99: 1148–1156.
- Lübken M., Wichern M., Schlattmann M., Gronauer A., Horn H. 2007. *Modelling the energy balance of an anaerobic digester fed with cattle manure and renewable energy crops*. *Water Res.*, 41: 4085–4096.
- Mata-Alvarez J., Dosta J., Mace S., Astals S. 2011. *Codigestion of solid wastes: A review of its uses and perspectives including modeling*. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 31: 99–111.
- Mohana S., Acharya B.K., Madamwar D. 2009. *Distillery spent wash: Treatment technologies and potential applications (review)*. *J. Hazard. Mater.*, 163: 12–25.
- Møller H.B., Sommer S.G., Ahring B.K. 2004. *Methane productivity of manure, straw and solid fractions of manure*. *Biomass Bioenergy*, 26: 485–495.
- Mshandete A., Kivaisi A., Rubindamayugi M., Mattiasson B. 2004. *Anaerobic batch co-digestion of sisal pulp and fish wastes*. *Bioresour. Technol.*, 95: 19–24.
- Myint M., Nirmalakhandan N., Speece R.E. 2007. *Anaerobic fermentation of cattle manure: modeling of hydrolysis and acidogenesis*. *Water Res.*, 41: 323–332.
- Nizami A.S., Orozco A., Groom E., Dieterich B., Murphy J.D. 2012. *How much gas can we get from grass?* *Appl. Energy*, 92: 783–790.
- Nyns E.J., 1986. *Biomethanation processes*. *Microb. Degrad.*, 8: 207–267.
- Oslaj M., Mursec B., Vindis P. 2010. *Biogas production from maize hybrids*. *Biomass Bioenergy*, 34: 1538–1545.
- Owens J.M., Chynoweth D.P. 1993. *Biochemical methane potential of MSW components*. *Water Sci. Technol.*, 27: 1–14.
- Panichnumsin P., Nopharatana A., Ahring B., Chaiprasert P. 2010. *Production of methane by co-digestion of cassava pulp with various concentrations of pig manure*. *Biomass Bioenergy*, 34: 1117–1124.
- Parkin G.F., Lynch N.A., Kuo W., Van Keuren E.L., Bhattacharya S.K. 1990. *Interaction between sulfate reducers and methanogens fed acetate and propionate*. *Res. J. Water Pollut. Control Fed.*, 62: 780–788.

- Plöchl M., Zacharias H., Herrmann M., Heiermann M., Prochnow A. 2009. *Influence of silage additives on methane yield and economic performance of selected feedstock*. CIGR eJournal, XI: 1–16.
- PN-EN ISO 11734:2003. *Jakość wody. Oznaczenie „całkowitej” biodegradacji beztlenowej związków organicznych w osadzie przefermentowanym. Metoda z pomiarem wytworzonego biogazu*.
- Scherer P.A., Dobler S., Rohardt S., Loock R., Büttner B., Nöldeke P., Brettschuh A. 2003. *Continuous biogas production from fodder beet silage as sole substrate*. Water Sci. Technol., 48: 229–233.
- Schittenhelm S. 2008. *Chemical composition and methane yield of maize hybrids with contrasting maturity*. Eur. J. Agron., 8: 72–79.
- Seppälä M., Paavola T., Lehtomäki A., Rintala J. 2009. *Biogas production from boreal herbaceous grasses – specific methane yield and methane yield per hectare*. Bioresour. Technol., 100: 2952–2958.
- Sierra-Alvarez R. 1990. *The role of natural wood constituents on the anaerobic treatability of forest industry wastewaters*. Ph.D. Thesis. Netherlands, Wageningen.
- Speece R.E. 1987. In: Chynoweth D.P., Isaacson R. (eds.). *Anaerobic digestion of biomass*, Elsevier Applied Science: 129–140.
- Sprott G.D., Patel G.B. 1986. *Ammonia toxicity in pure cultures of methanogenic bacteria*. Syst. Appl. Microbiol., 7: 358–363.
- Steffen R., Szolar O., Braun R. 1998. *Feedstocks for anaerobic digestions*. Online: <www.ad-nett.org/dl-feedstocks.pdf> (dostęp: 19.02.2013).
- Sung S., Liu T. 2003. *Ammonia inhibition on thermophilic anaerobic digestion*. Chemosphere, 53: 43–52.
- Thamsiriroj T., Nizami A.S., Murphy J.D. 2012. *Why does mono-digestion of grass silage fail in long term operation?* Appl. Energy, 95: 64–76.
- Vervaeren H., Hostyn K., Ghekiere G., Willems B. 2010. *Biological ensilage additives as pretreatment for maize to increase the biogas production*. Renew. Energ., 35: 2089–2093.
- Wang G., Gavala H.N., Skiadas I.V., Ahring B.K. 2009. *Wet explosion of wheat straw and codigestion with swine manure: Effect on the methane productivity*. Waste Manage., 29: 2830–2835.
- Weiland P. 2010. *Biogas production: Current state and perspectives*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 85: 849–860.
- Wu X., Yao W., Zhu J., Miller C. 2010. *Biogas and CH₄ productivity by co-digesting swine manure with three crop residues as an external carbon source*. Bioresour. Technol., 101: 4042–4047.
- Xie S., Lawlor P.G., Frost J.P., Hud Z., Zhan X. 2011. *Effect of pig manure to grass silage ratio on methane production in batch anaerobic co-digestion of concentrated pig manure and grass silage*. Bioresour. Technol., 102: 5728–5733.
- Zaher U., Li R., Jeppsson U., Steyer J.-P., Chen S. 2009. *GISCOD: General Integrated Solid Waste Co-Digestion model*. Water Res., 43: 2717–2727.
- Zhao B.-H., Yue Z.-B., Ni B.-J., Mu Y., Yu H.-Q., Harada H. 2009. *Modeling anaerobic digestion of aquatic plants by rumen cultures: cattail as an example*. Water Res., 43: 2047–2055.
- Zubir J. 1986. *Methanogenic fermentation of fresh and ensiled plant materials*. Biomass 11: 159–171.
- Zubir J. 1989. *Field crops as renewable sources of convertible energy for methanogenic fermentation*. Wise D.L., International Biosystems, 3. CRC Press, Inc.: 159–182.

ROZDZIAŁ 8

Układ bioreaktorów do wytwarzania biogazu

A system of bioreactors for biogas production

*Jacek Palige, Andrzej G. Chmielewski, Michał Zalewski,
Otton Roubinek, Janusz Usidus*

Institut Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie

Słowa kluczowe: fermentacja metanowa, hydromieszanie, CFD, wytyczne projektowe.

Key words: fermetation, hydromixing, CFD, brief fordesignn.

Streszczenie

W pracy ukazano proces mezofilnej fermentacji metanowej kiszonek kukurydzy, obornika na słomie rzepaczanej z dodatkami serwatki w instalacji dwustadialnej o mocy ok. 10 kW. Otrzymano wydajności biogazu w przedziale 0,3–0,5 m³/kg s.m. z zawartością metanu 59–70%. Przeprowadzono metodą CFD symulacje numeryczne przepływu zawiesiny w fermentorze przemysłowym z wykorzystaniem hydromieszania strugami cieczy. Przygotowano wytyczne dla założeń projektowych instalacji o mocy ok. 400 kW składającej się z kaskady hydrolizerów i fermentorów prostopadłościennych.

Summary

The mesophilic methane fermentation proces of maize silages, manure on colza straw and whey in the two-stage installation of 10 kW power was investigated. The yield of biogas was in the range 0.3–0.5 m³/kg dry mass. The content of methane in biogas was 59–70%. Using the CFD numerical simulation methods for suspension flow in industrial fermentor with application of hydromixing with liquid jets. The recomendations for brief fordesign of installation with 400 kW power consisting of cascade of hydrolizers and fermentors are prepared.

1. Wstęp

Intensywny wzrost zapotrzebowania na energię oraz wymóg ograniczenia emisji gazów cieplarnianych powodują konieczność poszukiwania i opracowania alternatywnych w stosunku do węgla, gazu ziemnego i ropy naftowej źródeł energii, takich jak energetyka jądrowa, wiatrowa oraz biotechnologiczne pozyskiwanie biogazu w procesie przerobu surowców roślinnych, odpadów przemysłu rolnego i spożywczego oraz z wysypisk odpadów. Biogaz pozyskiwany tą metodą może stanowić w skali kraju rozproszone źródło energii i być wykorzystywany lokalnie do celów grzewczych (spalanie) lub wytwarzania energii elektrycznej w kogeneratorach. W tym świetle coraz bardziej uzasadnione staje

się wykorzystanie odpadów komunalnych i rolno-spożywczych oraz upraw celowych do otrzymywania biogazu, by pozyskiwać z niego energię elektryczną i ciepłą. Wiąże się to z koniecznością opracowania odpowiednich instalacji i technologii oraz reaktorów (Weiland 2000). Wprowadzenie nowych technologii wymaga nakładów na innowacyjność oraz utworzenie odpowiedniej infrastruktury. Pozyskiwanie energii z biomasy będzie się wiązać z zagospodarowaniem gruntów, które mogłyby być użyte pod uprawę roślin z przeznaczeniem na otrzymywanie żywności. Temat ten został podjęty i omówiony w pracach Daniela i Johanssona (2007) oraz Fishera i in. (2010a; 2010b). To jedno z istotnych uwarunkowań opłacalności i akceptacji pozyskiwania energii z produktów rolniczych.

Obecnie w Polsce działa ok. 20 biogazowni wykorzystujących głównie technologie niemieckie i skandynawskie (Agencja Rynku Rolnego 2012). W pracach realizowanych w ramach projektu NCBiR podjęto działania związane z wdrożeniem polskiej technologii opartej na patencie nr 197595 i dostosowaniem jej do przerobu surowców roślinnych oraz odpadów z gospodarstw rolnych, w szczególności z gospodarstwa w Komorowie. W proponowanym rozwiązaniu przepływowego bioreaktora z quasi-ciągłym podawaniem substratów proces prowadzony jest w kilku etapach:

- przygotowanie biomasy (rozdrobienie, zmieszanie składników i odcieków pofermentacyjnych);
- produkcja biogazu w układzie kaskadowym hydrolizera i fermentora (wprowadzającym istotne rozdzielanie przestrzenne procesu hydrolizy biomasy od fermentacji metanowej zasadniczej);
- zwracanie do procesu odcieków z odpowiednimi kulturami bakteryjnymi;
- mieszanie zawiesiny w fermentorze strugami cieczy zasilanej oraz strugami cyrkulacji wymuszonych okresowym pompowaniem zawiesiny z wypływu na napływ fermentora oraz z dna fermentora na powierzchnię fazy ciekłej, co prowadzi do ujednorodnienia składu zawiesiny oraz częściowo przeciwdziałania tworzeniu się kożucha.

2. Fermentacja metanowa

Fermentacja metanowa jest zespołem beztlenowych procesów biochemicznych, w wyniku których przy udziale zróżnicowanej populacji mikroorganizmów następuje rozkład złożonej materii organicznej do zredukowanego produktu gazowego, jakim jest biogaz. Biogaz zawiera głównie metan i dwutlenek węgla oraz w nieznacznych ilościach siarkowodór i amoniak (Szewczyk 2010). Proces składa się z czterech głównych etapów. Na początku złożona nierozpuszczalna w wodzie frakcja materii organicznej (białka, węglowodany, tłuszcz-

cze) podlega hydrolizie do rozpuszczalnych w wodzie monomerów (amino-kwasy, cukry proste, kwasy tłuszczowe) zdolnych do pokonania bariery, jaką stanowi błona komórkowa bakterii. Proces ten przebiega pod wpływem enzymów zewnątrzkomórkowych wytwarzanych przez drobnoustroje. Następnie grupa mikroorganizmów rozkłada produkty hydrolizy do lotnych kwasów tłuszczowych, alkoholi, wodoru i dwutlenku węgla (etap acidogenezy). Kolejnym etapem jest acetogeneza, dzięki której z produktów acidogenezy wytwarzane są substraty metanogenne, czyli kwas octowy, wodór i dwutlenek węgla. Końcowym etapem jest metanogeneza. Przebiega ona dwoma drogami: w pierwszym jako substrat wykorzystywany jest kwas octowy, w drugim – wodór i dwutlenek węgla.

Rodzaj utylizowanego substratu decyduje o szybkości procesu fermentacji metanowej i musi być brany pod uwagę podczas opracowywania technologii i operacji procesowych. Substraty roślinne składają się głównie z celulozy, hemicelulozy i lignin oraz z pewnych ilości węglowodanów, białek, tłuszczów, pektyn. Ligniny praktycznie nie są biodegradowalne w warunkach fermentacji metanowej. Rozkład tych frakcji utrudnia również krystaliczna struktura celulozy blokująca dostęp enzymów hydrolitycznych do wnętrza cząsteczki polimeru. W przypadku wykorzystywania surowców roślinnych wymagany jest długi czas przebywania w fermentorze, a etapem limitującym szybkość biokonwersji jest hydroliza. W związku z powyższym wskazana jest odpowiednia obróbka wstępna substratu ułatwiająca przeprowadzenie procesu hydrolizy. Najważniejszym procesem fizycznym pozytywnie wpływającym na szybkość hydrolizy materiału roślinnego jest rozdrobnienie zapewniające zwiększenie powierzchni dostępnej dla enzymów oraz powodujące częściowe uwolnienie składników wewnątrzkomórkowych.

Fermentacja metanowa może być prowadzona w zakresie mezofilnym (35–42°C) lub termofilnym (45–60°C). W większości przypadków różnorodność drobnoustrojów, zwłaszcza metanogenów, jest mniejsza w zakresie termofilnym (Karakshv i in. 2005; Leven i in. 2007). Z tego względu proces ten jest bardziej wrażliwy na fluktuację temperatury i wymaga dłuższej adaptacji do nowych warunków. Szybkość wzrostu metanogenów termofilnych jest większa niż mezofilnych. Pozwala to na skrócenie czasów przebywania w reaktorze i zwiększenie obciążeń reaktora. Jednocześnie proces termofilny wymaga podgrzewania wsadu i jest bardziej podatny na zakłócenia, co powoduje, że większość instalacji biogazowych pracuje w zakresie fermentacji mezofilnej. Stwierdzono zwiększoną stabilność fermentacji metanowej w przypadku rozcieńczania surowca płynem pofermentacyjnym (Nielsen, Angelidaki 2008). Tworzenie metanu zachodzi w stosunkowo wąskim zakresie pH od 6,5 do 8,5, przy czym wartość optymalna wynosi pomiędzy 7,0 i 8,0.

W przypadku fermentacji surowców roślinnych często stosowany jest układ dwóch szeregowo połączonych reaktorów. W pierwszym przebiega przede wszystkim hydroliza i etap kwasotwórczy, w drugim – acetogeneza i metanogeneza. Pierwszy reaktor jest wysoko obciążony ładunkiem organicznym zaś obciążenie drugiego fermentora jest mniejsze. Dane literaturowe wskazują, że w układzie dwustopniowym uzyskuje się większe wydajności biogazu niż w pojedynczych reaktorach (Weiland 2010).

2.1. Stosowane technologie

Każde rozwiązanie technologiczne procesu fermentacji metanowej charakteryzowane jest przez parametry wynikające głównie z mechanizmu powstawania metanu oraz wymogów prowadzenia procesów biologicznych w skali technicznej. Do parametrów tych należą:

- wilgotność substratu – fermentacja sucha lub mokra;
- temperatura fermentacji – fermentacja termofilowa, mezofilowa;
- przepływ substancji – proces okresowy, ciągły;
- liczba stopni fermentacji – prowadzenie fermentacji w jednym aparacie lub rozdzielenie procesu produkcji biogazu na etapy (technologia jedno lub wielostopniowa);
- wydajność wytwarzania biogazu (instalacja małej, średniej lub dużej mocy);
- sposób mieszania zawiesiny (mechaniczne, pneumatyczne, hydrauliczne).

Fermentacja mokra to proces, w którym używany substrat ma konsystencję pozwalającą na jego pompowanie (zawartość suchej masy mieszanki podawanej do fermentora wynosi poniżej 15%). Przy fermentacji mokrej stosuje się najczęściej reaktory pionowe z mieszaniem lancami gazowymi lub za pomocą pomp. Preferowane substraty wykorzystywane w tej technologii to m. in. gnojowica, wywar pogorzelniany, osady ściekowe. Fermentacja mokra jest bardziej rozpowszechniona i wykorzystywana m.in. w takich technologiach komercyjnych, jak: BTA, Bio-Stab, DBA-WABIO, Linde/KCA, WASSA, ITAL-BA, Snamprogetti i ENTEC (Jędrzak 2007).

Najczęściej stosowane instalacje do produkcji biogazu oparte są na jedno-stopniowym procesie fermentacji realizowanym w systemie, w którym nie występuje przestrzenne rozdzielenie etapów procesu (hydroliza, faza zakwaszania, tworzenie kwasu octowego i metanu w jednym aparacie). W trakcie fermentacji jednostopniowej następujące po sobie biologiczne etapy procesu przebiegają w tym samym czasie. Takie warunki procesowe związane są m.in. z długim czasem przebywania w reaktorze, odpowiednio dużą objętością masy fermentacyjnej oraz zapotrzebowaniem na dużą ilość energii mechanicznej niezbędnej do przemieszania zawartości reaktora.

W instalacjach dwustopniowych dokonuje się przestrzennego rozdzielania procesu technologicznego na hydrolizę i fazę kwaśną (jeden reaktor) oraz octanogenezę i metanogenezę (drugi reaktor). Cały proces beztlenowy w obu bioreaktorach może być prowadzony w tej samej temperaturze lub można podzielić reaktory pod względem temperatury procesu.

Tabela 1

Zalety i wady fermentacji dwustopniowej (Meroney i in. 2009)

Zalety	Wady
<ul style="list-style-type: none"> • krótszy czas przebywania (HRT) • wysoka stabilność i niezawodność procesu fermentacji odpadów łatwo biodegradowalnych • wyższe obciążenie komór suchą masą organiczną • lepsza możliwość sterowania parametrami procesu • wyższa wydajność konwersji biomasy i redukcji ChZT • wyższe stężenie metanu w biogazie powodowane optymalnymi warunkami (rozdzielenie metanogenezy od hydrolizy) dla aktywności metanogenów 	<ul style="list-style-type: none"> • złożony proces technologiczny • zamknięty obieg wody procesowej może prowadzić do jej wzbogacania w substancje toksyczne • mniejsza wydajność biogazu w procesach z rozdziałem faz • wyższe koszty inwestycyjne i eksploatacyjne

2.2. Przerabiane surowce, wydajności procesu

Fermentacja metanowa surowców roślinnych stała się w ostatnich latach przedmiotem intensywnych badań. Większość prac dotyczących optymalizacji procesu prowadzona jest w laboratoriach. Dostępne są też dane z badań instalacji pilotowych oraz produkcyjnych. Zainteresowanie wykorzystaniem surowców roślinnych do produkcji bioenergii wynika z wysokiej wydajności, liczonej jako ilość produkowanego metanu na jednostkę powierzchni upraw. Kiszonki traw i kukurydzy stanowią główny substrat lub kosubstrat używany w biogazowniach w Niemczech (Wailand 2006; 2010).

Podstawowym parametrem określającym potencjał surowca w fermentacji metanowej jest wydajność metanu, podawana najczęściej jako objętość metanu (w warunkach normalnych) wytwarzana z jednostki suchej masy organicznej dodawanej do fermentora.

Wydajność metanu z surowców roślinnych zależy od wielu czynników: rodzaju surowca, okresu jego zbioru, czasu fermentacji, temperatury, sposobu prowadzenia procesu (Amon i in. 2007; Prochnow i in. 2009; Oslaj i in. 2010; Schittenhelm 2008) i najczęściej określa się ją w warunkach laboratoryjnych. Fermentacja okresowa prowadzona jest aż do zaniku wytwarzania biogazu i jej czas jest zwykle bardzo długi. W warunkach przemysłowych stosuje się reaktory przepływowe, w których średni czas przebywania jest mniejszy od maksymalnego czasu fermentacji okresowej. W efekcie uzyskiwana w reaktorach przepływowych wydajność biogazu jest mniejsza od wydajności maksymalnej.

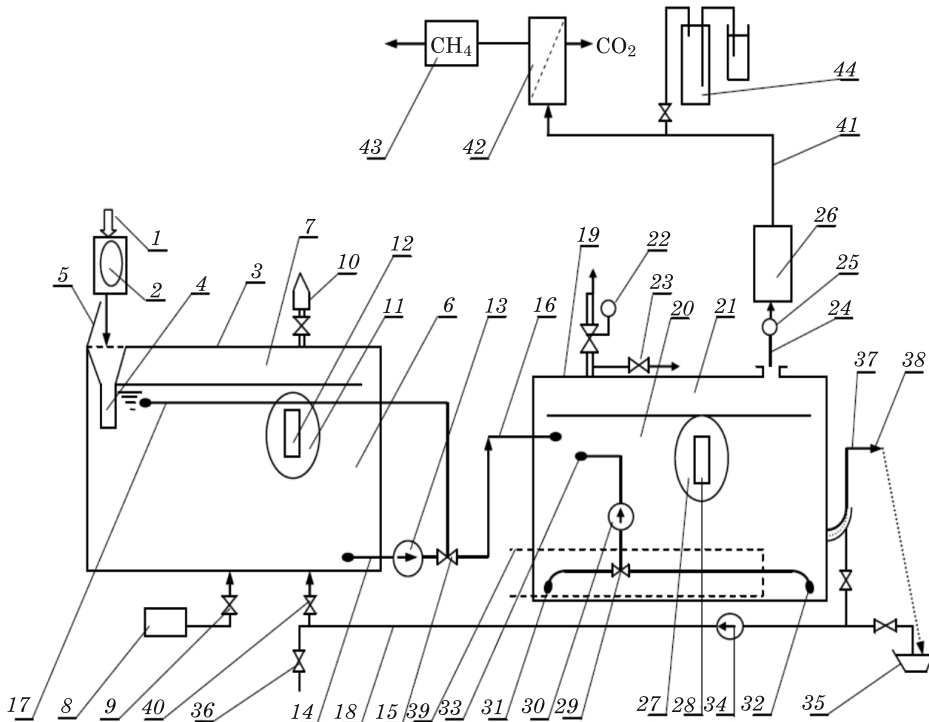
Dane literaturowe (Szewczyk 2010) wskazują, że w trakcie fermentacji metanowej kiszonek kukurydzy oraz kiszonek traw – w zależności od sposobów prowadzenia procesu – otrzymuje się wydajności biogazu dla kiszonek kukurydzy od 0,21 m³/kg s.m.o. do 0,42 m³/kg s.m.o., zaś dla kiszonek traw od 0,1 m³/kg s.m.o. do 0,41 m³/kg s.m.o.

3. Instalacja ćwierćtechniczna do wytwarzania biogazu wg patentu nr 197595

Badania fermentacji metanowej wybranych surowców roślinnych i odpadów z gospodarstw rolnych przeprowadzono w skali ćwierćtechnicznej na instalacji wytwarzania biogazu zbudowanej w Szewni Dolnej według patentu nr 197595, pozwalającej na przeprowadzenie doświadczeń i uzyskanie danych do opracowania założeń projektowych budowy biogazowni o mocy ok. 400 kW.

Instalacja składa się z czterech głównych bloków: węzła przygotowania biomasy, hydrolizera o objętości $V_h = 2 \text{ m}^3$, fermentora o objętości $V_f = 8 \text{ m}^3$, zbiornika na odcieki 2 m^3 . Schemat instalacji przedstawiono na rys. 1.

Dwustopniowa instalacja biogazowa pracuje według następującego schematu: surowiec (1) podawany jest do rozdrabniacza (2), następnie rozdrobniona biomasa kierowana jest przez wlot biomasy (4) do hydrolizera (3). Do hydrolizera może być dodany również odciek pofermentacyjny lub woda w celu uzyskania odpowiedniej zawartości suchej masy w zawieszynie. Odciek pofermentacyjny wraz z bakteriami metanowców zawracany częściowo rurociągiem (18) z fermentora (19) do hydrolizera powoduje przyspieszenie procesu hydrolizy. Z zawartości hydrolizera (3) można usuwać powietrze za pomocą dwutlenku węgla wprowadzanego ze zbiornika sprężonego dwutlenku węgla (8) przez dozownik (9) lub poprzez połączenie przestrzeni gazowej z fermentorem (podczas opróżniania hydrolizera powstaje podciśnienie transportujące biogaz z fermentora). Zhydrolizowana biomasa transportowana jest do fermentora (19) przewodem (16) za pomocą pompy (13) służącej również do mieszania. Zawiesina w komorze fermentacyjnej (20) mieszana jest za pomocą pompy (30). Biogaz (21) z nad powierzchni swobodnej mieszaniny fermentacyjnej odprowadzany jest przez przewód (24) i dalej skraplacz (25) do zbiornika biogazu (26) lub bezpośrednio spalany w piecu gazowym, którego ciepło wykorzystuje się do ogrzewania instalacji. Próbkę biogazu do oznaczenia składu pobierane są przez zawór (23). Przefermentowana biomasa odprowadzana jest przez urządzenie przelewowo-syfonowe (37) do zbiornika (35). Przepływ biogazu może być oznaczany przez licznik gazowy, a także przez urządzenie wyporowe przepływu gazu (44). Istnieje możliwość podłączenia membranowego systemu separacji gazów (42) do wzbogacania biogazu w metan, który następnie kierowany jest do zbiornika metanu (43).



Rys. 1. Schemat instalacji dwustopniowej do produkcji biogazu w Szewni Dolnej

Ważnym elementem prowadzenia procesu jest mieszanie. Zastosowany oraz przebadany w warunkach doświadczalnych w instalacji w Szewni Dolnej system hydrokinetyczny mieszania zawiesiny w hydrolizerze oraz fermentorze zapewnia mieszanie cieczy w całej objętości instalacji. Zawiesina pobierana jest z dna zbiornika i transportowana rurociągiem przy pomocy pompy na powierzchnię cieczy. Struga wypływająca z dysz wylotowych, uderzając w lustro cieczy, wymusza przepływ cyrkulacyjny zawiesiny w zbiorniku oraz zapobiega tworzeniu się kożucha na powierzchni. Zastosowany układ mieszania umożliwia również zawracanie flory bakteryjnej z końca fermentora na jego początek, łącząc mikroorganizmy ze świeżo zhydrolizowaną biomasą.

3.1. Metodyka pomiarów

W celu przeprowadzenia badań fermentor napełniono biomasą zawierającą florę bakterii metanowych. Jako wsad zastosowano mieszanekę składającą się w głównej mierze w 50% z kiszonki kukurydzy i w 50% z obornika krowiego na słomie rzepakowej.

Wyznaczono optymalne parametry procesu załadunku materiałów do instalacji (rozdrobienie – wymiar cząstek poniżej 2 cm, częstotliwość podawania materiałów, częstotliwość i intensywność hydromieszania) oraz zbadano wsad na zawartość suchej masy i suchej masy organicznej. Określono również stosunek węgla do azotu (C:N), wykorzystując analizator elementarny. Codziennie pobierano próbki cieczy z hydrolizera i fermentora dla oznaczenia pH oraz stężenia podstawowych składników wsadu przy użyciu przenośnego fotometru. Zabezpieczono też próbki wody technologicznej używanej przy przygotowywaniu wsadu w celu określenia jej składu chemicznego. Przy użyciu przenośnych mierników gazu mierzono stężenia: CH₄, CO₂, O₂, H₂S, H₂ w uzyskiwanym biogazie oraz zabezpieczono próbki biogazu do analizy chromatograficznej wykonanej na terenie Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej (IChTJ). Instalacja zaopatrzona była w urządzenia pomiarowe do mierzenia temperatury cieczy w hydrolizerze i fermentorze oraz pomiaru ciśnienia biogazu w hydrolizerze i fermentorze.

3.2. Analiza składników wsadu

3.2.1. Oznaczenie suchej masy

Zawartość suchej masy w substracie, wyrażona w procentach, definiowana jest jako stosunek masy suchej pozostałości do masy próbki i jest wskaźnikiem umożliwiającym oszacowanie ilości biogazu, jaką można uzyskać z danego substratu.

Zgodnie z normą PN-EN-12880 badaną biomasę ważono, a następnie suszono w suszarce w temperaturze ok. 105°C do uzyskania stałej masy.

3.2.2. Zawartość suchej masy organicznej i nieorganicznej

Suchą masę, zgodnie z normą PN-EN-12879, prażono w piecu w temperaturze ok. 550°C do otrzymania stałej masy. Część organiczna suchej masy ulegała spaleniowi i pozostawała część nieorganiczna.

Oznaczanie stosunku zawartości węgla do azotu (C:N) w biomacie przeprowadzono przy użyciu analizatora elementarnego Flash 1112 NCS (Thermo Quest, Włochy) w Laboratorium Izotopów Stabilnych IChTJ. Pomiar zawartości węgla i azotu w próbce organicznej prowadzony jest poprzez wydzielenie z substancji organicznej azotu w formie gazowej N₂ i węgla w postaci CO₂. Preparatykę i pomiary wykonano na analizatorze elementarnym, wyposażonym w kolumnę chromatograficzną przeznaczoną do rozdzielania mieszaniny otrzymanych gazów.

W tabeli 2. przedstawiono wyniki oznaczenia suchej masy, suchej masy organicznej i stosunku C:N zabezpieczonych próbek.

Tabela 2

Wyniki badań materiału wsadowego

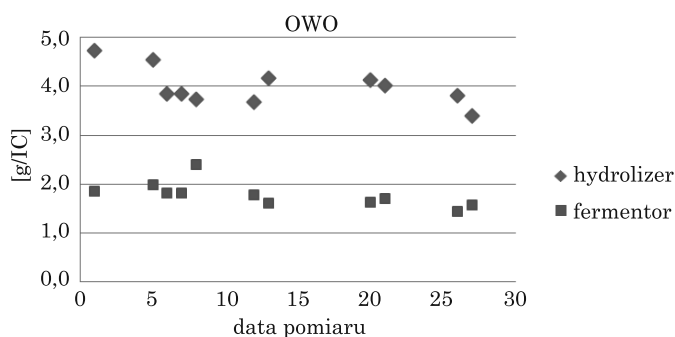
Substrat	Sucha masa [%]	Sucha masa organiczna [%]	C:N
Obornik na słomie rzepakowej	21,7	62,6	24
Kiszonka kukurydzy	36,6	63,4	39
Serwatka	6	80	–
Trawa świeża	18	74	16
Kiszonka trawy	20	75	30
Wysłodki	86	40	–

3.3. Wyniki analizy zabezpieczonych próbek cieczy

Analiza chemiczna obejmowała pomiar stężenia następujących składników: chemiczne zapotrzebowanie na tlen (ChZT), ogólny węgiel organiczny (OWO), amoniak (NH_3 , NH_4^+), kadm (Cd), żelazo (Fe), potas (K), mangan (Mn), azotyny (NO_2^-), lotne kwasy tłuszczowe (LKT), siarczki (S), azot ogólny (N).

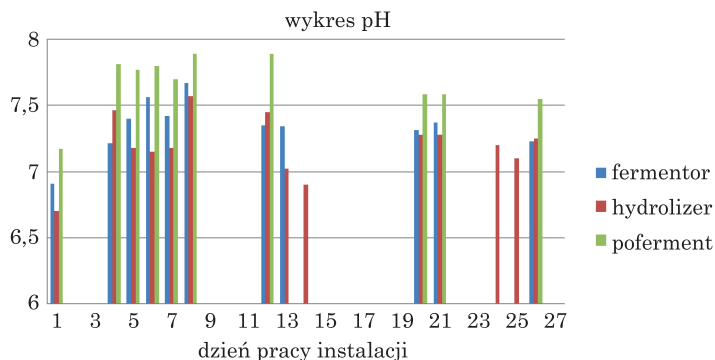
Dla pomiaru składu ilościowego badanych próbek wykorzystywano analizę spektrofotometryczną przeprowadzoną przy użyciu fotometru FOTOMETR PF-12 i odczynników NANOCOLOR firmy Macherey-Nagel.

Na rysunku 2 przedstawiono pomiary stężenia ogólnego węgla organicznego (OWO) zabezpieczonych próbek cieczy pochodzących z hydrolizera i fermentora.



Rys. 2. Wartość OWO zabezpieczonych próbek cieczy

Na rysunku 3 przedstawiono zmierzone wartości pH zabezpieczonych próbek cieczy.



Rys. 3. Wartość pH zabezpieczonych próbek cieczy

Korelacja pomiarów pH z innymi parametrami opisującymi proces wykazała, że najbardziej optymalnie przebiegał on w środowisku lekko zasadowym, co jest zgodne z danymi literaturowymi (Karakshev 2005).

Analiza fotometryczna wykazała spadek wartości ChZT w cieczy pofermentacyjnej w porównaniu z cieczą z hydrolizera (z wartości ok. 20 g O₂/l do wartości ok. 10 g O₂/l), co świadczy o prawidłowym przebiegu procesu fermentacji metanowej.

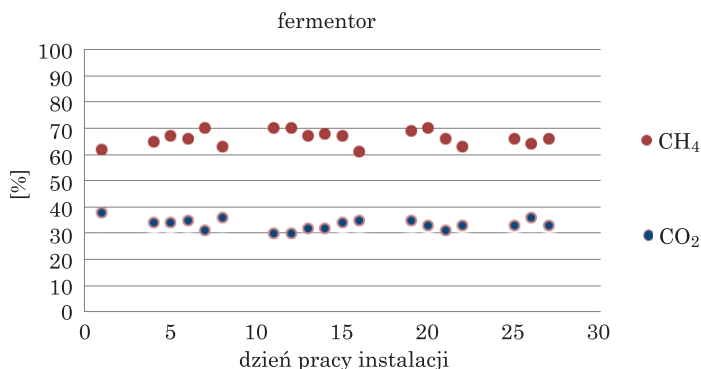
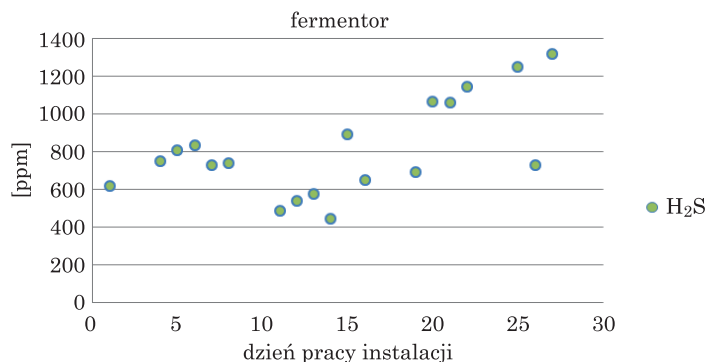
Na podstawie pomiaru stężenia ogólnego węgla organicznego w hydrolizerze i fermentorze stwierdzono, że w procesie fermentacji metanowej nastąpiła redukcja węgla organicznego średnio o 50% w stosunku do zawartości węgla we wsadzie, co jest zgodne z danymi literaturowymi.

Przeprowadzona analiza chemiczna składu substratów wykazała, że należy zachować ostrożność w trakcie komponowania wsadu hydrolizera w celu uniknięcia zasilania instalacji surowcem, w którym mogą wystąpić pierwiastki i związki chemiczne będące inhibitorami fermentacji. Należy śledzić pochodzenie i historię oraz warunki składowania przerabianych substratów.

3.4. Pomiary stężenia CH₄, CO₂, H₂S, H₂ w biogazie

Do pomiaru stężenia poszczególnych składników biogazu użyto następujących mierników: Miernik GasHunter Alter S.A. (S/N: 0800844) oraz Miernik GasHunter Alter S.A. (S/N: 10093113).

Na rysunkach 4 i 5 przedstawiono wartości stężenia poszczególnych składników biogazu zmierzone za pomocą mierników typu GasHunter.

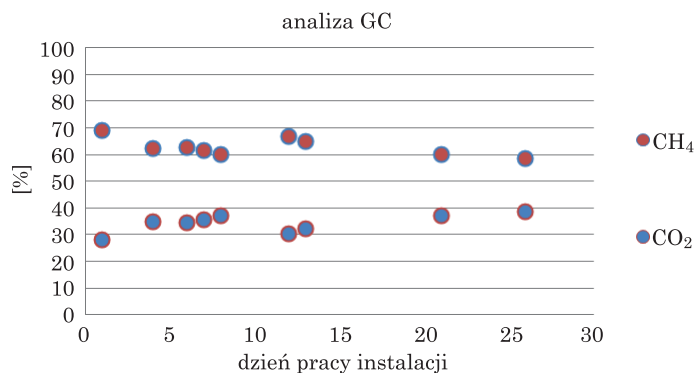
Rys. 4. Stężenie CH₄ i CO₂ w fermentorzeRys. 5. Stężenie H₂S w fermentorze

Przy zastosowaniu mieszanki składającej się w głównej mierze w 50% z obornika krowiego na słomie rzepakowej i w 50% z kisonki kukurydzy otrzymano biogaz o zawartości metanu od 61% do 70%. Stwierdzono także, że w przypadku przerobu obornika krowiego na słomie rzepakowej należy liczyć się ze zwiększeniem stężenia H₂S w biogazie i utrzymywaniem się go na poziomie 1200–1300 ppm.

Analiza składu pobranych próbek gazowych została przeprowadzona w IChTJ z wykorzystaniem chromatografu gazowego Perkin Elmer 8700 zaopatrzonego w detektor ciepłno-przewodnościowy (TCD – *Thermal Conductivity Detector*).

Na rysunku 6 przedstawiono uzyskane w analizie chromatograficznej stężenie CH₄ i CO₂ w biogazie.

Analiza chromatograficzna wykazała, że zawartość CH₄ w zabezpieczonych próbkach wynosiła 58–69%. Badanie wykonano następnego dnia po pobraniu prób biogazu, co ze względu na możliwą nie szczelność pojemników na biogaz



Rys. 6. Wyniki analizy chromatograficznej biogazu

mogło wpłynąć na różnicę wynikającą z porównania z wynikami uzyskiwanymi przy użyciu przenośnych mierników.

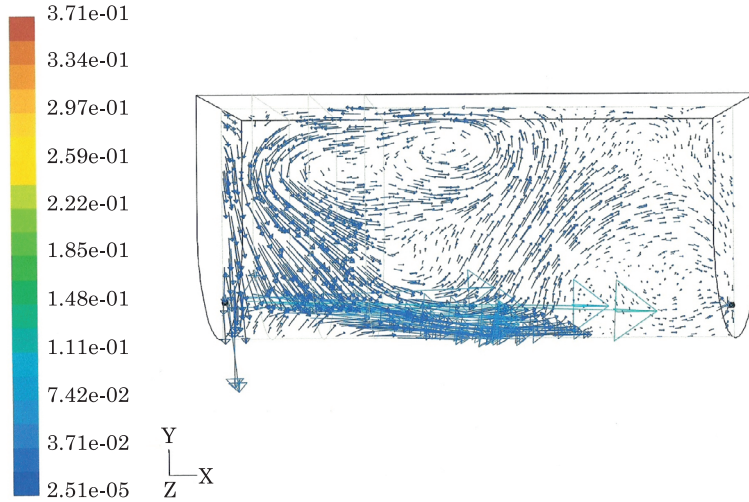
Pomiary ciśnienia biogazu i objętości przestrzeni gazowej pozwoliły oszacować uzysk biogazu, kształtujący się na poziomie ok. 0,35–0,46 m³/kg s.m. Dane literaturowe podają wydajność dla mieszanki obornika krowiego na słomie rzepakowej i kiszonki kukurydzy na poziomie 0,2–0,3 m³/kg, natomiast stężenie metanu na poziomie ok. 60%. Wydajność uzyskiwanego biogazu i zawartość metanu przekraczają zatem dane podawane w literaturze (Kaltschmitt 2005).

4. Założenia projektowe

Na podstawie danych literaturowych oraz wyników otrzymanych z prac badawczych przeprowadzonych w skali ćwierćtechnicznej na instalacji o mocy ok. 10 kW w Szewni Dolnej przygotowano założenia projektowe wysokosprawnej instalacji do produkcji biogazu w procesie mezofilnej fermentacji metanowej.

Dla potrzeb przygotowania założeń projektowych przeprowadzono modelowanie stacjonarnego trójwymiarowego (3D) przepływu strugi cieczy w części wlotowej fermentora (szerokość 5 m, półcylindryczne dno o promieniu 2,5 m, wysokość słupa cieczy w części prostopadłościenną 2,5 m) (Palige i in. 2011). Wlot strugi odbywał się rurą o średnicy 0,1 m. Przepływ cieczy: 10 m³/godz. odpowiada prędkości wlotowej cieczy $u=0,35$ m/s. Na rysunku 7 przedstawiono strukturę przepływu otrzymaną dla wlotu usytuowanego 0,8 m nad najniższym punktem cylindrycznego dna.

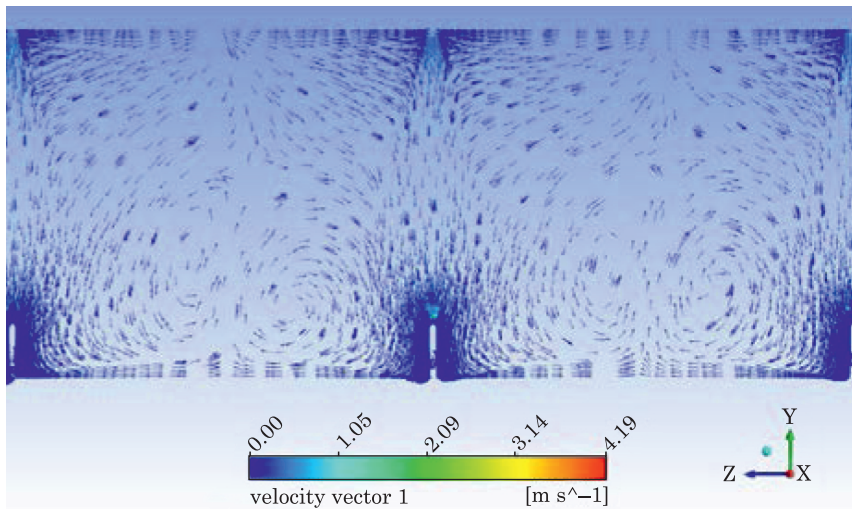
Uzyskane wyniki wskazują, że zasięg oddziaływania strugi wynosi ok. 8–10 m od wylotu oraz obejmuje praktycznie całą wysokość fermentora. Obniżenie wlotu strugi do 0,3–0,4 m w stosunku do płaskiego dna będzie skutkowało praktycznie wynoszeniem osadu z dna fermentora do jego objętości.



Rys. 7. Wykres wektorowy struktury przepływu

Przeprowadzono numeryczną symulację 3D cyrkulacji zawiesiny w fermentorze wywołane układem 10 pomp cyrkulacyjnych. Długość fermentora to 25 m, szerokość 7 m, wysokość słupa cieczy 3,6 m. Natężenie przepływu cieczy wynosi $10 \text{ m}^3/\text{h}$. Rozmieszczenie strug cieczy w fermentorze oraz struktury przepływu przedstawiono na rysunku 8.

Uzyskane obliczenia wskazują, że należy oczekiwać mieszania cieczy praktycznie w całej objętości fermentora. W częściach objętości odległych od strug

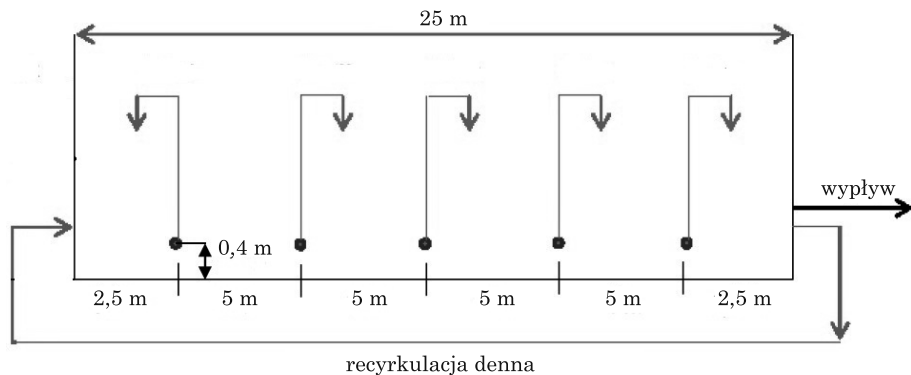


Rys. 8. Wektory prędkości na płaszczyźnie pionowej, przecinającej rurę w dolnej części fermentora (powiększenie)

prędkości cieczy wynoszą ok. 1 cm/s, co przy czasie mieszania ok. 2 min daje przemieszczenie się materiału na odległość ok. 1 m. Jednocześnie wartość prędkości (poza strugą) wskazuje, że nie należy oczekiwać występowania dużych naprężeń stycznych przepływu, które mogłyby powodować niszczenie drobno-ustrojów i ich kolonii.

Lepkość zawiesiny została określona jako 1,25 wartości lepkości dla wody (wzór Einsteina, dla ułamka objętościowego fazy stałej = 10%), zaś wydatek masowy do zasilania i odbioru zawiesiny dla każdej rury – 11,07 kg/s. Przyjęto, że przepływ zawiesiny jest przepływem burzliwym o zmodyfikowanym modelu burzliwości k-4 (Bałdyga i in. 1996).

Poniżej przedstawiono schemat ideowy rozwiązania problemu mieszania (rys. 9).

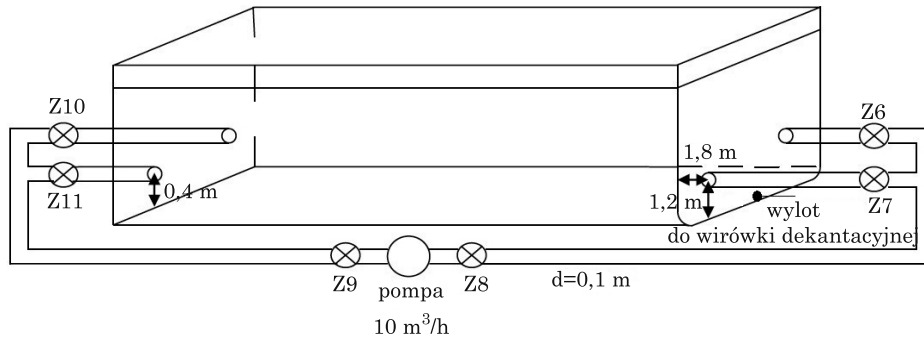


Rys. 9. Schemat ideowy rozwiązania problemu mieszania

Ruch wymuszony zawiesiny uzyskiwany jest wskutek działania 10 pomp cyrkulacyjnych. Rury wylotowe rozmieszczono w dolnej części fermentora. Przetłaczana zawiesina zasila fermentor strugą swobodną spadającą na powierzchnię cieczy. Uzyskane wyniki wskazują na celowość zastosowania w fermentorze pięciu pętli recyrkulacji cieczy. Prędkość cieczy osiąga wartość ok. 2–3 cm/s.

Na rysunku 10 przedstawiono sposób mieszania cyrkulacyjnego z wylotu na wlot w fermentorze.

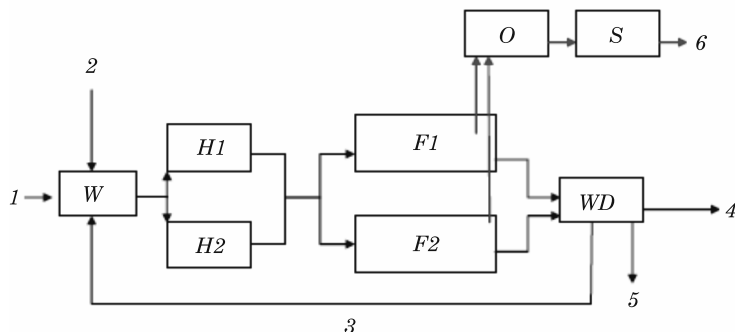
Uzyskane w trakcie modelowania wyniki wskazują, że nałożenie oddziaływania strug zasilających fermentor, strug recyrkulacyjnych oraz strug cyrkulacyjnych pionowych prowadzi do przemieszczania się zawiesiny z obszaru napływu w kierunku wypływu, a charakter przepływu powinien być zbliżony do przepływu korzystnego z punktu widzenia teorii (Bałdyga i in. 1996), uzyskiwanego w kaskadzie reaktorów z mieszaniem idealnym z częściową recyrkulacją materiału.



Rys. 10. Schemat mieszania cyrkulacyjnego z wylotu na wlot w fermentorze

Opisany proces oparty jest na polskim patencie nr 197595 pt. „Sposób i układ wytwarzania metanu i energii elektrycznej i cieplnej”. Do produkcji biogazu przewiduje się wykorzystanie biomasy z obornika krowiego na słomie rzepakowej, z wywaru pogorzelnianego oraz kisonki kukurydzy. Surowce pozyskiwano z gospodarstwa rolniczego w Komorowie. Obornik krowi poprzez urządzenie rozdrabniające jest mieszany z wywarem pogorzelnianym i z innymi składnikami oraz z wodą i odciekami pofermentacyjnymi, a następnie podawany do hydrolizerów. Hydrolizery pracują naprzemiennie w temperaturze ok. $30\text{--}32^\circ\text{C}$, przy czym czas trwania procesu hydrolizy wynosi ok. 36 godz.. Uwodniona biomasa podawana jest do fermentora porcjami. Czas trwania fermentacji biomasy w fermentorach przy temperaturze ok. $35\text{--}37^\circ\text{C}$ to ok. 21 dób. Z fermentora zawiesina pofermentacyjna kierowana jest do wirówki dekantacyjnej, gdzie następuje oddzielenie fazy stałej (uwodniony nawóz organiczny) od fazy ciekłej (odcieki pofermentacyjne). Odcieki pofermentacyjne częściowo służą do przygotowania wsadu, natomiast nadmiar odcieków zostanie skierowany do kanalizacji ściekowej. Uzyskiwany w fermentorach biogaz po osuszeniu i odsiarczeniu może być wykorzystywany w module kogeneracyjnym.

Badania laboratoryjne i ćwierćtechniczne przeprowadzone na wybranych substratach roślinnych i spożywczych wykazały, że w układzie dwustopniowym możliwe jest uzyskiwanie biogazu o zawartości metanu ok. $61\text{--}70\%$. W założeniach dla projektowanej wysokowydajnej instalacji dwustopniowej do obliczeń przyjęto wydajność instalacji $0,3\text{ Nm}^3/\text{kg s.m.}$ o zawartości metanu 65% w biogazie. Zakładany roczny czas pracy instalacji to 8000 godz. Na podstawie obliczeń przyjęto, że hydrolizer o wymiarach (wysokość x szerokość x długość) $4\text{ m} \times 3\text{ m} \times 5\text{ m}$ wypełniony będzie w 80% , zaś fermentor o wymiarach odpowiednio $7\text{ m} \times 5\text{ m} \times 27\text{ m}$ wypełniony będzie zawiesiną w 60% . Zalecana zawartość suchej masy w fermentorze to 9% . Przy zakładanym wsadzie (103 kg/godz. suchej masy pochodzącej z obornika krowiego na słomie rzepakowej)



Rys. 11. Schemat ideowy instalacji z równoległym układem fermentorów: W – węzeł podawania biomasy, H – hydrolyzery, F – fermentory, WD – wirówka dekantacyjna, O – odwadniacz, S – odsiarczanie
 strumienie: 1 – surowiec, 2 – woda procesowa, 3 – zawracany odciek, 4 – odciek, 5 – uwodniony osad, 6 – biogaz

wej oraz 103 kg/godz. suchej masy pochodzącej z wywaru gorzelnianego) ilość wytworzonego biogazu wynosi ok. 62 m³/godz., co przy zakładanej wartości energetycznej biogazu na poziomie 6,5 kWh/m³ daje moc biogazowni ok. 400 kW.

Przyjęte w bilansie strumienie materiałowe pozwalają na utrzymanie dobowego (24-godz.) cyklu pracy hydrolyzatorów (załadunek/rozładunek). W przypadku trudności z uzyskaniem zakładanej ilości biogazu wytwarzanego w projektowanej instalacji istnieje możliwość zwiększenia ilości podawanej do fermentora suchej masy (do ok. 10%) oraz zwiększenie objętości cieczy w fermentorze kosztem przestrzeni gazowej, co pozwala zwiększyć czas retencji materiałów w procesie.

Literatura

- Agencja Rynku Rolnego. 2012. *Aktualny rejestr przedsiębiorstw energetycznych zajmujących się wytwarzaniem biogazu rolniczego*.
- Amon T., Amon B., Kryvoruchko V., Machmüller A., Hopfner-Sixt K., Bodiroza V., Hrbek R., Friedel J., Pötsch E., Wagentristl, H., Schreiner M., Zollitsch W. 2007. *Methane production through anaerobic digestion of various energy crops grown in sustainable crop rotations*. *Bioresource Technol.*, 98: 3204–3212.
- Bałdyga J., Henczka M., Podgórska W. 1996. *Obliczenia w inżynierii bioreaktorów*. Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa.
- Daniel J., Johansson C. 2007. *Scenario based analysis of land competition between food and bioenergy production in the US*. *Climatic Change*, 82: 267–291.
- Fischer G., Prieler S., Velthuisen H., Berndes G., Faaij A., Londo M., Wit M. 2010a. *Biofuel production potentials in Europe: Sustainable use of cultivated land pastures. Part I. Biomass and Bioenergy*, 34: 159–172.
- Fischer G., Prieler S., Velthuisen H., Berndes G., Faaij A., Londo M., Wit M. 2010b. *Biofuel production potentials in Europe: Sustainable use of cultivated land pastures. Part II. Biomass and Bioenergy*, 34: 173–187.

- Jędrzcak A. 2007. *Biologiczne przetwarzanie odpadów*. PWN, Warszawa.
- Kaltschmitt M., Scholwin F., Schattauer A., Weiland P., Gattermann H., Niebaum A. 2005. *Biogas, produkcja, wykorzystanie*. Institut für Energetik und Umwelt.
- Karakshev D., Bastone D., Angelidaki I. 2005. *Influence of environmental conditions on methanogenic compositions in anaerobic biogas reactor*. Appl. Envir. Microbiol., 71: 331–338.
- Leven I., Erriksson A., Schnurer A. 2007. *Effect of process temperature on bacterial and archaeal communities in two methanogenic bio-reactors treating organic household waste*. FEMS Microbiol. Ecol., 59: 683–693.
- Lund P. 2007. *Upfront resource requirements for large-scale exploration scale exploration schemes of new renewable technologies*. Renewable Energy, 32: 442–458.
- Meroney R., Colorado P. 2009. *CFD simulation of mechanical draft tube mixing in anaerobic digester tanks*. Elsevier.
- Nielsen H., Angelidaki I. 2008. *Strategies for optimizing recovery of the biogas process following ammonia inhibition*. Bioresource Technol., 99: 7995–8001.
- Nizami A., Korres N., Murphy J. 2009. *Review of the integrated process for the production of grass bio-methane*, Environ. Sci. Technol., 43: 8496–8508
- Oslaj M., Mursec B., Vindis P. 2010. *Biogas production from maize hybrids*. Biomass Bioenergy, 34: 1538–1545.
- Palige J., Rudniak L., Dobrowolski A., Zalewski M., Chmielewski A. 2011 *Optymalizacja parametrów mieszania biozawiesiny w fermentorze z wykorzystaniem metody CFD*. Inżynieria i Aparatura Chemiczna, 50(5): 82–83.
- Prochnow A., Heiermann M., Plochl M., Linke B., Idler C., Amon T., Hobbs P. 2009. *Bioenergy from permanent grassland*. Biogas, Bioresource Technol., 100: 4931–4944.
- Schittenhelm S. 2008. *Chemical composition and methane yield of maize hybrids with contrasting maturity*, Europ. J. Agron., 29: 72–79.
- Sposób i układ wytwarzania metanu i energii elektrycznej i ciepłej*. 2001. Patent nr 197595. Chrzanowski K., Kryłowicz A., Usidus J.
- Szewczyk W. 2010. *Analiza aspektów procesowych otrzymywania biogazu z surowców roślinnych*. Nr pracy: 501/E/1070/0070/000. Politechnika Warszawska, Wydział Inżynierii Chemicznej Procesowej.
- Wailand P. 2000. *Anaerobic waste digestion in Germany – status and recent developments*. Biodegradation, 11: 415–421.
- Weiland P. 2006. *Biomass digestion in agriculture: a successful pathway for the energy production and waste treatment in Germany*. Eng. Life Sci., 6: 302–309.
- Weiland P. 2010. *Biogas production: current state and perspectives*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 85: 849–860.

ROZDZIAŁ 9

Wzbogacanie biogazu w metan z wykorzystaniem membrany poliimidowej

Methane enrichment of biogas with the aid of a polyamide membrane

Andrzej Grzegorz Chmielewski, Jacek Palige, Agata Urbaniak, Katarzyna Wawryniuk, Monika Szolucha

Institut Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie

Słowa kluczowe: separacja membranowa, poliimid, wzbogacanie biogazu.

Key words: membrane separation, polyimide, biogas enrichment.

Streszczenie

Surowy biogaz musi być poddany oczyszczeniu, a następnie zatężeniu biometanu, po którym zakłada się osiągnięcie parametrów kalorycznych (ciepło spalania, wartość opałowa, liczba Wobbego), zgodnych np. z normami gazu sieciowego lub wymaganych do sprężenia gazu w celu uzyskania paliwa do pojazdów (CNG). Usuwanie dwutlenku węgla z biogazu najczęściej realizuje się za pomocą następujących procesów fizykochemicznych: wodna absorpcja, zmiennociśnieniowa adsorpcja (PSA – *pressure swing adsorption*), procesy kriogeniczne oraz techniki membranowe. Do zalet separacji membranowej w porównaniu z pozostałymi metodami oczyszczania gazów należy prosta, kompaktowa budowa modułów umożliwiająca nieskomplikowane operowanie instalacją i powiększenie skali. Ponadto nie wymaga ona dużego nakładu energetycznego i zapotrzebowania na powierzchnię, nie generuje produktów ubocznych i nie wymaga użycia dodatkowych reagentów. Jednakże współczesne, komercyjne membranowe instalacje do separacji biogazu (np. Evonik Industries, Envitec Biogas, AirLiquid) pracują pod wysokim ciśnieniem (od kilkunastu do kilkudziesięciu bar), co znacząco podwyższa koszty eksploatacyjne. W przeprowadzonych pracach

Summary

Raw biogas must be cleaned and upgraded, after which its parameters achieve values of (heat of combustion, calorific value, Wobbe index), gas compliant with net work gas or required to compress the gas as fuel. Usually, the removal of carbon dioxide from the biogas is carried out using water absorption, Pressure Swing Adsorption (PSA), cryogenic processes, membrane techniques. The advantages of membrane technology in comparison with other methods of gas purification include: simple, compact design of the modules enables simple installation, operation and scale-up, do not require a lot of energy and demand on the surface, do not generate by-products and do not require the use of additional reagents. However, modern commercial membrane for the separation of biogas (e.g. Evonik Industries, Envitec Biogas, AirLiquid) operate at high pressure, several dozen bar, which significantly increases operating costs. The research was carried out using membrane consisting of aromatic polyimide placed in a hollow fiber module of UBE Industries Ltd, inlet pressure did not exceed 1 MPa. Studies were conducted using two gas mixtures: I mixture (53% vol. CH₄, 47% vol. CO₂), II mixture (75% vol. CH₄, 25% vol. CO₂).

badawczych użyto membrany zbudowanej z poliimidu aromatycznego umieszczonego w module typu *hollow fibre* firmy UBE Industries Ltd. Ciśnienie na wejściu do układu nie przekraczało 1 MPa. Badania przeprowadzono z wykorzystaniem dwóch mieszanin gazowych: I mieszanina (53% obj. CH₄; 47% obj. CO₂), II mieszanina (75% obj. CH₄; 25% obj. CO₂). Maksymalną zawartość metanu w retentacie (0,95 ułamka objętościowego) uzyskano przy ciśnieniu 0,6 MPa dla II mieszaniny.

The maximum methane content in the retentate (0.95 vol. fraction) was obtained at a pressure of 0.6 MPa for the II mixture.

1. Wstęp

Oczyszczenie biogazu przed wprowadzeniem go do instalacji membranowej separacji sprowadza się do usunięcia pary wodnej, siarkowodoru, siloksanów, aerozoli i cząstek stałych (Rasi i in. 2007).

W biogazowniach rolniczych wykorzystuje się kilka metod osuszania strumienia gazu. Mogą to być rozwiązania techniczne polegające na wylapywaniu kondensatu (powstałego przez obniżenie temperatury gazu) w najniższych punktach instalacji (klucze hydrauliczne, trójniki); mogą to być również odrębne elementy aparatury chemicznej, takie jak kolumny adsorpcyjne z wypełnieniem (żel krzemionkowy). Przy zastosowaniu dwóch osuszaczy zainstalowanych równolegle wypełnienie jednej kolumny podlegać może regeneracji za pomocą suchego gazu z drugiego osuszacza (Arnold, Stewart 2011).

Odpowiednie warunki prowadzenia procesu i składu wsadu umożliwiają limitowanie obecności siarkowodoru w biogazie. Stężenie siarkowodoru w surowym biogazie zawiera się w zakresie 20–20 000 ppm (Weiland 2010). W celu usunięcia go z biogazu można zastosować skruber wodny lub kolumnę z rudą darniową, węglem aktywnym lub gotowym produktem handlowym (np. Biosulfex®). Stężenie siarkowodoru w biogazie po zastosowaniu powyższych metod wynosi poniżej 100 ppm (Faulstich i in. 2003).

Do podstawowych metod usuwania siloksanów (związków organicznych stosowanych w produkcji środków higieny osobistej i ochrony zdrowia, obecnych także w produktach przemysłowych, składających się z krzemu, tlenu i grup metylowych) zalicza się: adsorpcję na węglu aktywnym, absorpcję w ciekłej mieszaninie węglowodorów, wychładzanie gazu (Soreanu i in. 2011).

Do usunięcia cząstek stałych można stosować wymienne filtry włókninowe, zainstalowane bezpośrednio w rurociągach przesyłowych.

Biogazownie rolnicze posiadają własne układy osuszania, odsiarczania i usuwania cząstek stałych (jeśli jest ryzyko ich wystąpienia w gazie pofermentacyjnym). W zależności od zawartych w biogazie domieszek innych substancji

lub stosowanej technologii korzystania z biogazu (np. ogniwa paliwowe) może okazać się konieczne przeprowadzenie dalszego uzdatniania.

W separacji dwutlenku węgla z biogazu za pomocą instalacji membranowych wykorzystuje się systemy jedno- lub kilkustopniowe. Instalacje jedno-stopniowe wykazują się prostotą, minimalnym zużyciem energii, małym zapotrzebowaniem powierzchni i łatwością przetransportowania całej instalacji membranowej. Jest to odpowiednie rozwiązanie dla małych przepływów gazu. Dla większych wydajności stosuje się natomiast kaskady lub układy z recyrkulacją. Straty metanu w permeacie są niwelowane przez stosowanie powrotu, niemniej takie instalacje muszą posiadać sprężarki, co znacznie podwyższa koszty inwestycyjne i powoduje utrudnienia konstrukcyjne (Porter i in. 1990; Pabby i in. 2009). W celu obniżenia kosztów techniki membranowe łączy się z innymi metodami oczyszczania, np. z klasyczną absorpcją w aminach (Datta, Sen 2006).

Separacja przy użyciu pojedynczego modułu pozwala uzyskać produkt o zawartości metanu nawet do 90% obj. Straty metanu w permeacie są niewielkie i nie przekraczają 10% obj. Wysoki stopień wzbogacenia wiąże się jednak z wysoką wartością współczynnika *stage cut*. Największe stężenie metanu w retentacie wiąże się z wysokim strumieniem objętościowym permeatu. Zaleca się stosowanie niższych wartości *stage cut* i ponowne doczyszczanie retentatu. Modułowa budowa membran nie wymaga dużych przeszczeni, zatem powiększenie skali, jak również dodawanie kolejnych modułów przebiega w sposób nieskomplikowany (Chmielewski i in. 2007).

Wzrost czynnika podziału strumieni wiąże się ze wzrostem stopnia dławienia retentatu. Zwiększa się wówczas siła napędowa całego procesu, wzrasta także stopień wzbogacenia retentatu w metan. Jest to zjawisko jak najbardziej pożądane, niemniej równie ważnym parametrem technologicznym są uzyskiwane wydajności. Przy możliwie maksymalnie zdławionym retentacie uzyskuje się najniższe strumienie objętościowe produktu. Optimum technologiczne powinno znajdować się w obszarze pośrednich wartości współczynnika podziału strumieni $\theta = 0,5$. Kolejnym interesującym zagadnieniem inżynierskim są ograniczenia związane ze zdolnościami separacyjnymi samej membrany. Wielkości strumienia permeatu są ograniczone i ściśle zależne od selektywności i przepuszczalności danej membrany (Chmielewski i in. 2007; Pabby i in. 2009).

Mechanizm membranowej permeacji gazów polega na dyfuzji części składników poprzez membranę, podczas gdy inne pozostają zatrzymane. Transport opiera się na różnicy ciśnień transmembranowych i przepuszczalności składników przez samą membranę. Do separacji gazów wykorzystuje się trzy rodzaje membran: mikroporowate, ultra mikroporowate i nieporowate (gęste) (Javaid 2005).

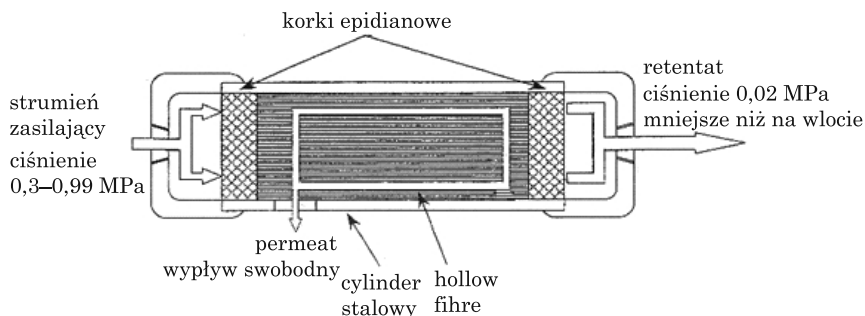
Fizyczny proces transportu i separacji masy przez membranę gęstą opisują trzy następujące po sobie stadia (Kentish 2008; Pabby i in. 2009). Pierwszy etap to sorpcja cząstek na materiale membrany, przy czym wielkość sorpcji zależy od właściwości poszczególnych składników membrany. W wyniku sorpcji membrana pęcznieje i następuje zmiana oddziaływań polimer–polimer, ułatwiająca dyfuzję. Drugi etap to dyfuzja penetranta przez membranę, gdzie dyfundujący składnik plastyfikuje amorficzne części membrany, stężenie penetranta na drodze dyfuzji spada, zmniejsza się efekt plastyfikacji i maleje szybkość dyfuzji. Etap dyfuzji wraz z etapem sorpcji decydują o selektywności całego procesu. Ostatnim etapem jest desorpcja cząstek. Ze względu na obniżone ciśnienie po stronie permeatu jest to proces na tyle szybki, że nie wpływa na ogólną separację i transport składnika.

2. Metodyka prowadzenia badań separacji dwutlenku węgla z biogazu przy użyciu instalacji membranowej

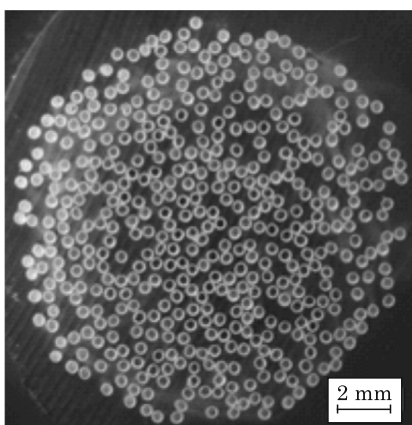
W przeprowadzonych pracach badawczych separacji metanu z biogazu wykorzystano membranę wykonaną z poliimidu aromatycznego umieszczonego w module typu *hollow fiber* firmy UBE Industries Ltd. (rys. 1). Pojedyncze włókna ujęte są w wiązkę i wbudowane w rurę ciśnieniową, końcówki zaś zalane żywicą epoksydową. Rozpatrując biogaz jako mieszaninę składającą się z dwutlenku węgla i metanu, składnikiem przechodzącym przez membranę jest dwutlenek węgla (strumień permeatu), w retencji zaś dochodzi do wzbogacenia biogazu w metan. Rozdzielana mieszanina przepływa równolegle do włókien współprądowo, a siłą napędową procesu jest różnica ciśnienia po stronie zasilania i ciśnienia atmosferycznego po stronie permeatu. Warstwa aktywna znajduje się po zewnętrznej stronie kapilar, co znacznie zwiększa powierzchnię wymiany masy i poprawia gęstość upakowania. Ponadto wykluczona zostaje w ten sposób możliwość uszkodzenia membrany przez ewentualne cząstki znajdujące się w strumieniu gazu. Zakres pracy membrany obejmuje ciśnienie w przedziale 0,3–0,99 MPa i temperaturę w granicach od -10 do +50°C (rys. 2).

Poliimidy należą do grupy polimerów o sztywnych łańcuchach i wysokiej temperaturze zeszklenia. Są otrzymywane przez polikondensację bezwodnika kwasu piromelitowego z diaminami aromatycznymi (Chmielewski i in. 2007; Pabby i in. 2009).

Poliimidy mają stosunkowo małą gęstość, a ich wewnętrzna objętość wolna jest znacznie większa i może osiągać 20% całkowitej obj. polimeru. Polimer ten charakteryzuje się zarówno wysoką selektywnością, jak i przepuszczalnością

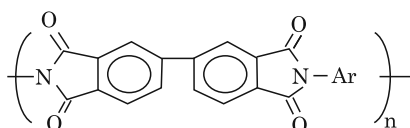


Rys. 1. Moduł membranowy firmy UBE Industries Ltd. z włóknami kanalikowymi (*hollow fibre*)



Rys. 2. Przekrój membranowego modułu kapilarnego

dla dwutlenku węgla. Wynika to ze specyficznej budowy molekularnej poliimidów. Różne właściwości poliimidów zależą od wykorzystanych dwuamin i bezwodników (Chmielewski i in. 2007). Ogólny wzór poliimidu został przedstawiony na rysunku 3.



Rys. 3. Ogólny wzór poliimidu

Membrany wykonane z poliimidów charakteryzują się wysoką odpornością na działanie związków chemicznych, co umożliwia pracę w obecności gazów powodujących korozję. Wyjątkowa wytrzymałość termiczna polimeru pozwala na prowadzenie procesów ciągłych w podwyższonej temperaturze. Poliimidowe

membrany wykazują najlepsze właściwości w oczyszczaniu i separacji wodoru, helu, dwutlenku węgla i innych gazów z przemysłu petrochemicznego (Chmielewski i in. 2007; Pabby i in. 2009).

Rozpuszczalność dwutlenku węgla w polimerach jest z reguły większa niż innych gazów, jednakże ciągle i długotrwałe nasycanie się materiału tym związkem powoduje obniżenie selektywności pracy membrany. Wyjątkiem są poliimidy wykazujące dużą odporność na plastyfikację dwutlenkiem węgla. Ponadto charakteryzują się one wysoką selektywnością względem siarkowodoru i pary wodnej, co pozwala na ich zastosowanie w oczyszczaniu biogazu i gazu ziemnego (Blinka i in. 1995). Do największych dystrybutorów poliimidów należą Medal (Air Liquide), IMS (Praxair) i UBE Industries Ltd.

Membrany poliimidowe wykazują dużą przepuszczalność względem siarkowodoru i pary wodnej. Niemniej dla zabezpieczenia przed korozją i innymi niepożądanymi skutkami należy zastosować oddzielny stopień odsiarczania i odwadniania (Fane i in. 2008).

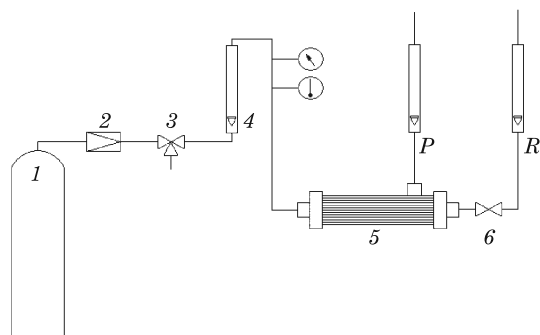
Przeprowadzono badania separacji składników syntetycznych mieszanin biogazowych przy użyciu pojedynczego modułu zawierającego membranę poliimidową, a ich wyniki przedstawiono w tabelach 1 i 2. Badania przeprowadzono w temperaturze otoczenia (23°C), ciśnienie pracy membrany szacuje się na 6 bar, zatem doświadczenia zrealizowano dla 5 i 6 bar. Skład syntetycznych mieszanek gazowych zbliżony jest do składu biogazu uzyskanego podczas fermentacji odpadów lignocelulozowych. Fermentacja surowców, takich jak trawy czy trzcina, prowadzi do uzyskania biogazu o zawartości metanu powyżej 70% obj. Skład mieszaniny uboższej został podyktowany możliwością przeprowadzenia kofermentacji biomasy lignocelulozowej z gnojowicą. Biogaz zawiera wówczas 50–55% obj. metanu. Należy również pamiętać, że fermentacja jest procesem przeprowadzanym przez mikroorganizmy, co tłumaczy możliwość oscylacji i zmian w jakości produkowanego biogazu. Mieszanki gazowe podawane były na układ membranowy przez odpowiednie zawory redukcyjne.

2.1. Laboratoryjna membranowa instalacja do separacji biogazu

Głównymi elementami laboratoryjnej, membranowej instalacji do separacji gazów (rys. 4), na której przeprowadzone zostały badania, są:

- moduł membranowy poliimidowy typu *hollow fibre* firmy UBE Industries Ltd. (typ UMS-A2);
- rotametry firmy Tecfluid S.A. (dwa rotametry o zakresie pomiarowym 0–350 Ndm³/h, jeden rotametr o zakresie pomiarowym 0–180 Ndm³/h);

- dwa manometry firmy KOBOLD Messring GmbH (zakres pomiarowy 0–1 MPa);
- elastyczne przewody do przesyłu gazu.



Rys. 4. Schemat laboratoryjnej instalacji do separacji metanu od dwutlenku węgla: 1 – butla z mieszaniną gazową, 2 – reduktor ciśnieniowy, 3 – zawór do poboru próbek, 4 – rotametr, 5 – moduł membranowy, 6 – zawór dławiący, P – permeat, R – retentat

Mieszanki syntetyczne z butli (1) podawane były na stanowisko pomiarowe przez reduktor (2), którym ustawiane było pożądane ciśnienie zasilania. Ciśnienie to było zmieniane w zakresie $0,2 \div 0,7$ MPa. Przed wejściem do membrany mierzona była prędkość (4) i ciśnienie gazu. W module (5) zachodził rozdział nadawy na dwa strumienie: permeat (P) i retentat (R), przy czym permeat odprowadzany był swobodnie, zaś na drodze retentatu znajdował się zawór dławiący (6), regenerujący siłę napędową procesu. Od stopnia otwarcia zaworu zależało zarówno ciśnienie w układzie, jak i podział strumieni (*stage cut*) – θ , który definiuje się następująco:

$$\theta = QP/QF \quad (1)$$

gdzie:

QP – strumień objętościowy permeatu [dm^3/h]

QF – strumień objętościowy nadawy [dm^3/h]

Zamieszczone poniżej zdjęcie (rys. 5) przedstawia laboratoryjną, mobilną membranową instalację do separacji biogazu uzyskanego z fermentacji i kofermentacji odpadów lignocelulozowych.

Wybrany model manometrów znajduje zastosowanie w trudnych warunkach pracy, przy wstrząsach i wibracjach, co ma duże znaczenie przy projektowaniu mobilnych instalacji do wzbogacania biogazu. Obudowa manometrów jest szczególnie wytrzymała, spełnia europejską normę jakości EN 60 529, wedle której posiada stopień zabezpieczenia IP65. Taki wysoki współczynnik



Rys. 5. Laboratoryjna membranowa instalacja do separacji biogazu

ochrony (IP – *Index of Protection*) gwarantuje całkowitą ochronę przed kurzem i strumieniami wody. Podwyższona wytrzymałość termiczna manometrów pozwala na przeprowadzenie badań eksperymentalnych w szerokim spectrum temperaturowym, zawierającym się od -20 do $+60^{\circ}\text{C}$.

Do pomiaru strumienia objętości badanych gazów wykorzystano rotametry cechowane fabrycznie dla powietrza w warunkach 1 bar abs. i $T = 293\text{ K}$. Przy pomiarze strumienia objętości innego gazu niż powietrze wskazania rotametrów przeliczano zgodnie z zależnością:

$$Q = Q_0 \left(\frac{\rho_1 T_1 p_1}{\rho_2 T_2 p_2} \right) \quad (2)$$

gdzie:

Q_0 – aktualny strumień objętości gazu odczytywany na skali rotametry [dm³/h]

ρ_1 – gęstość powietrza w warunkach odniesienia [kg/m³]

ρ_2 – gęstość gazu w warunkach odniesienia pomiaru [kg/m³]

p_1 – ciśnienie odniesienia = 0,101325 MPa

p_2 – ciśnienie gazu przed rotametrem [MPa]

T_1 – temperatura odniesienia = 293 K

T_2 – temperatura gazu przed rotametrem [K]

Pomiar składu chemicznego mieszanin gazowych prowadzono za pomocą przenośnego analizatora biogazu i gazu wysypiskowego. Miernik firmy NANO-SENS model DP 27 Bio pozwala na kontrolę składu gazów, jak też ich wilgotności, ciśnienia i temperatury. Posiada czujnik metanu, tlenu, dwutlenku węgla i opcjonalnie siarkowodoru. Podział wymienionych składników zachodzi na drodze metod referencyjnych przy użyciu detektorów NDIR, ECH i RF.

2.2. Wyniki badań membranowej separacji biogazu

Tabela 1
Wyniki membranowej permeacji I mieszaniny gazowej (53% obj. CH₄; 46,3% obj. CO₂; O₂ + N₂ + CnHm ≤ 0,7% obj.) na jednym stopniu

Q [Ndm ³ /h]	P [Mpa]	Retentat		Q _R [Ndm ³ /h]	Permeat		Q _P [Ndm ³ /h]
		CH ₄	CO ₂		CH ₄	CO ₂	
28,68	0,5	0,91	0,09	12,96	0,035	0,965	15,72
42,43		0,86	0,14	25,00	0,029	0,971	17,43
51,94		0,84	0,16	34,52	0,028	0,972	17,43
59,41		0,83	0,17	42,85	0,028	0,972	16,56
67,18		0,8	0,2	48,02	0,0267	0,973	19,16
90,28		0,78	0,22	71,11	0,027	0,973	19,16
119,26		0,77	0,23	100,11	0,025	0,975	19,15
149,45		0,75	0,25	130,30	0,025	0,975	19,15
24,85	0,6	0,95	0,05	6,86	0,05	0,95	17,99
30,97		0,93	0,07	13,50	0,035	0,965	17,47
45,04		0,87	0,13	25,83	0,034	0,966	19,21
56,68		0,87	0,13	32,28	0,028	0,972	24,40
65,82		0,86	0,14	44,88	0,032	0,968	20,94
84,29		0,85	0,15	57,30	0,025	0,975	26,99
132,19		0,82	0,18	106,06	0,026	0,974	26,12
172,15		0,81	0,19	142,56	0,024	0,976	29,59

Tabela 2
Wyniki membranowej permeacji II mieszaniny gazowej (74,4% obj. CH₄; 24,3% obj. CO₂; O₂ + N₂ + CnHm ≤ 1,3% obj.) na jednym stopniu

Q [Ndm ³ /h]	P [Mpa]	Retentat		Q _R [Ndm ³ /h]	Permeat		Q _P [Ndm ³ /h]
		CH ₄	CO ₂		CH ₄	CO ₂	
16,40	0,5	0,892	0,108	12,79	0,126	0,874	3,60
26,16		0,865	0,135	22,57	0,129	0,871	3,61
51,19		0,864	0,136	47,62	0,113	0,887	3,59
78,15		0,852	0,148	74,57	0,105	0,895	3,58
90,36		0,848	0,152	86,79	0,112	0,888	3,58
114,67		0,842	0,158	111,10	0,103	0,897	3,57
133,21		0,842	0,158	129,62	0,099	0,901	3,57
7,04	0,6	0,863	0,137	2,57	0,116	0,884	3,59
43,93		0,864	0,136	38,57	0,103	0,897	4,47
94,39		0,848	0,152	89,05	0,103	0,897	5,36
94,86		0,856	0,144	89,51	0,095	0,905	5,35
131,10		0,904	0,096	125,76	0,094	0,906	5,34
127,31		0,850	0,150	127,31	0,093	0,907	5,34

Zastosowanie technik membranowych do wzbogacania biogazu powstałego z biomasy lignocelulozowej dało satysfakcjonujące wyniki. Wzbogacenie biogazu wyniosło od 0,75 do 0,91 ułamka objętościowego metanu w retencji przy ciśnieniu 5 bar i od 0,81 do 0,95 ułamka objętościowego przy ciśnieniu 0,6 MPa dla I mieszaniny (53% obj. CH₄; 47% obj. CO₂) Rozdział II mieszaniny (75% obj. CH₄; 25% obj. CO₂) przedstawia się następująco – przy ciśnieniu 0,5 MPa wzbogacenie biogazu w metan zawiera się w zakresie od 0,842 do 0,892, przy ciśnieniu 0,6 MPa wzbogacenie od 0,850 do 0,864.

3. Założenia projektowe membranowej instalacji do wzbogacania biogazu w metan o wydajności 60 Nm³/h

Substratami dla projektowanej biogazowni rolniczej (w stosunku objętościowym 1:1) są obornik krowi na słomie rzepaczanej oraz wywar gorzelniany. Instalacja do wytwarzania biogazu z surowców rolniczych jest dwustopniowa. Przy obciążeniu komór fermentacyjnych równym 9% s.m. prowadzona jest fermentacja mezofilna (temperatura zawiesiny w fermentorze ok. 35°C). Hydrauliczny czas przebywania zawiesiny w fermentorze wynosi 21 dni. Instalacja pracuje 8000 godz. w roku. Biogaz zajmuje 40% obj. całkowitej objętości bioreaktora, zaś jego pozostała część to ciecz. Biogaz i jego składniki traktowane są jak gaz doskonały w warunkach normalnych ($T = 273,15$ K; $p = 0,1$ MPa).

Tabela 3

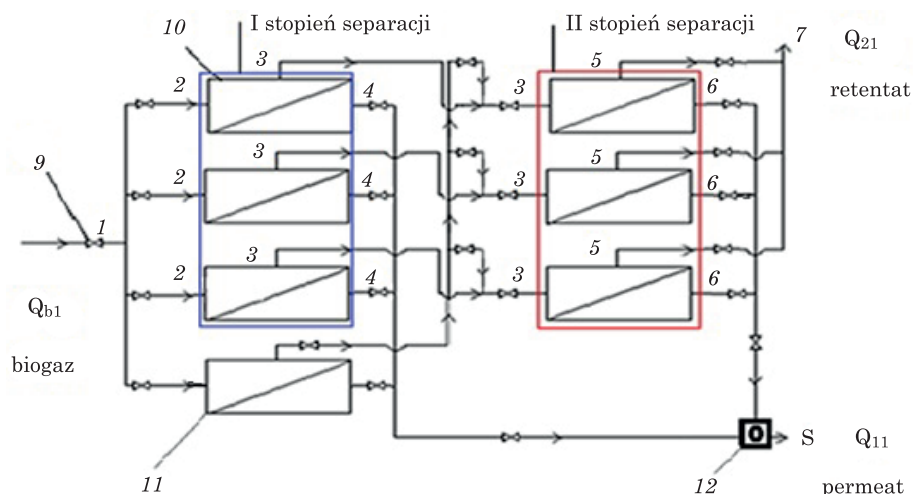
Główne założenia projektowanej instalacji

Moc biogazowni przy założeniu 100% wydajności (P)	400 [kW]
Ułamek objętościowy metanu w biogazie (x_{bCH_4})	0,55 [-]
Ułamek objętościowy dwutlenku węgla w biogazie (x_{bCO_2})	0,45 [-]
Strumień objętościowy wytworzonego biogazu (Q_b)	62 [Nm ³ /h]
Wydajność produkcji biogazu (W)	0,3 [m ³ /kg s.m.]

Dla strumienia objętościowego biogazu równego 60 Nm³/h dobrano moduły membranowe typu CO – C07FH firmy UBE INDUSTRIES LTD. Konfigurację połączeń modułów membranowych przedstawia rysunek 7.



Rys. 6. Wykres Sankeya dla instalacji stacjonarnej, membranowej do wzbogacania biogazu w metan



Rys. 7. Schemat układu modułów membranowych poliimidowych hollow fibers typu CO – C07FH firmy UBE INDUSTRIES LTD w instalacji stacjonarnej, membranowej do wzbogacania biogazu od 55% obj. do 93% obj. metanu w retencie: 1 – strumień biogazu o składzie 55% obj. CH₄, 45% obj. CO₂ na wlocie do układu modułów membranowych, 2 – strumień biogazu o składzie 55% obj. CH₄, 45% obj. CO₂ na wlocie do jednego modułu membranowego, 3 – strumień retentatu o składzie 70% obj. CH₄, 30% obj. CO₂, 4 – strumień permeatu o składzie 40,56% obj. CH₄, 59,44% obj. CO₂ na wylocie z modułu membranowego, 5 – strumień retentatu o składzie 93% obj. CH₄, 7% obj. CO₂ na wylocie z modułu membranowego, 6 – strumień permeatu o składzie 47,90% obj. CH₄, 52,10% obj. CO₂ na wylocie z modułu membranowego, 7 – strumień retentatu o składzie 93% obj. CH₄, 7% obj. CO₂ na wylocie z układu modułów membranowych, 8 – strumień permeatu o składzie 43% obj. CH₄, 57% obj. CO₂ na wylocie z układu modułów membranowych, 9 – zawór kulowy, 10 – moduł membranowy, 11 – zapasowy moduł membranowy, 12 – mikser gazów, Q₂₁ – strumień objętościowy retentatu na wylocie z układu membranowego [Nm³/h], Q₁₁ – strumień objętościowy permeatu na wylocie z układu membranowego [Nm³/h].

Tabela 4
Parametry prowadzenia separacji membranowej biogazu przy zastosowaniu jednego modułu membranowego typu CO – C07FH firmy UBE INDUSTRIES LTD

Parametr	Nadawa	Permeat	Retentat
Strumień objętościowy [Nm ³ /h]	20,0	10,2	9,8
Ciśnienie względne [MPa]	0,6	0	0,55
Temperatura [°C]	20	20	20
Zawartość CH ₄ [% obj. biogazu]	55,00	40,56	70,00
Zawartość CO ₂ [% obj. biogazu]	45,00	59,44	30,00

Głównymi elementami stacjonarnej instalacji membranowej do wzbogacania biogazu w metan są:

1. Moduł membranowy poliimidowy typu hollow fibres firmy UBE INDUSTRIES LTD. Warunki pracy membrany: ciśnienie 0,6 MPa, temperatura 20°C. Za pomocą jednego modułu membranowego o nadawie biogazu 20 Nm³/h można uzyskać retentat o zawartości metanu równej 70% obj. oraz permeat

Tabela 5
Parametry prowadzenia separacji membranowej biogazu przy zastosowaniu dwóch stopni separacji membranowej (moduły membranowe typu CO – C07FH firmy UBE INDUSTRIES LTD)

Numer strumienia	1	2	3	4	5	6	7	8
Strumień objętościowy [Nm ³ /h]	60	20	9,8	10,2	4,8	5	14,4	45,6
Ciśnienie względne [Mpa]	0,6	0,6	0,55	0	0,5	0	0,5	0
Temperatura [°C]	20	20	20	20	20	20	20	20
Zawartość CH ₄ [% obj. biogazu]	55	55	70	40,56	93	47,90	93	43
Zawartość CO ₂ [% obj. biogazu]	45	45	30	59,44	7	52,10	7	57

Tabela 6
Spis aparatury kontrolno-pomiarowej instalacji

Nazwa	Specyfikacja/Firma
Manometr	zakres pomiarowy: 0–1 MPa / KOBOLD Messring GmbH
Głowica pomiarowa	model MGX70 / ALTER S.A.
Czujnik temperatury	termopara model TC10 – B z główką przyłączeniową z cyfrowym wyświetlaczem DIH10, zakres pomiarowy 0–1200°C / WIKA POLSKA S.A.
Rotometr pływakowy	Tecfluid S.A.
Zawór kulowy	ze stali nierdzewnej, ciśnienie robocze: max. 5,5 MPa, temperatura pracy: max. 150°C / PNEUMAT SYSTEM Sp. z o.o.
Zawór redukcyjny ciśnienia	ciśnienie wlotowe: max. 1,6 MPa, przepływ: 2200 dm ³ /min, zakres temperatur: 0–50°C / Pneumatig
Zawór bezpieczeństwa	model SV805 A, ciśnienie otwarcia: 0,05–4,5 MPa / WITT – GASETECHNIK GmbH & Co KG
Zawór iglicowy	ze stali nierdzewnej, ciśnienie robocze: max. 1 MPa, temperatura pracy: max. 60°C / VARIANT S.A.

o zawartości metanu równej 40,56% obj. Strumień biogazu przepływa równolegle do włókien membrany, które w postaci wiązki są wbudowane w rurę ciśnieniową. Siłą napędową procesu jest różnica ciśnień po stronie strumienia zasilającego i ciśnienia atmosferycznego po stronie permeatu.

2. Zbiornik biogazu firmy HOT & SUNNY ART Centrum Techniki Grzewczej.

3. Filtr włókninowy zainstalowany bezpośrednio w rurach przesyłowych firmy AMK Kraków S.A.

4. Chłodnica serii AD 500 firmy PROGRESS KLIMA. Z tyłu osuszacza znajduje się zbiornik na wodę oraz przyłącze do węża umożliwiającego ciągły odpływ skroplin.

5. Kolumna adsorpcyjna firmy HANS ENGINEERING Co. Ltd. W kolumnach tych wypełnieniem może być formowany (prasowny) węgiel aktywny lub impregnowany węgiel aktywny Airpel 1 DS – 1 firmy DESOTEC ACTIVATED CARBON N.V. – S.A.

6. Kompensator firmy Kompensator PPHU
7. Kompresor firmy CompAir Polska Sp. z o. o.
8. Pochodnia firmy AAT BIOGAS POLSKA Sp. z o. o.
9. Kogenerator firmy GE Jenbacher Energie.

Pomiar składu chemicznego biogazu (CH_4 , CO_2 , H_2S , O_2) może być przeprowadzany za pomocą przenośnego analizatora typu GasHunter IR firmy ALTER S.A.

Instalacja wzbogacania biogazu w metan wykonana ze stali kwasoodpornej powinna być przepłukiwana sprężonym, technicznym, suchym azotem przed rozpoczęciem oraz po zakończeniu jej pracy w celu m.in. usunięcia osadów zakłócających prawidłowy przepływ gazu, pozostałości oleju sprężarkowego. Kierunek płukania powinien być odwrotny do kierunku przepływu strumienia gazu w instalacji.

Zawór iglicowy umieszczony na strumieniu retentatu regeneruje siłę napędową separacji membranowej gazów. Od stopnia jego otwarcia zależy ciśnienie w układzie oraz podział strumienia biogazu na retentat i permeat.

Strumień permeatu zostaje zawrócony do hydrolizera, gdyż dwutlenek węgla może wypierać powietrze z biomasy do niego wprowadzonej. Strumień retentatu spalany jest w kogeneratorze, a jego nadmiar w pochodni.

4. Wnioski

- Poliimidowa membrana wykazuje wysoką przepuszczalność dla dwutlenku i siarkowodoru.
- Po pierwszym stopniu możliwe jest uzyskanie produktu o 90% obj. zawartości metanu.
- Największe wzbogacenie gazu w metan zachodzi przy *stage cut* $\leq 0,5$. Niemniej uzyskiwana wtedy wydajność powoduje wzrost zapotrzebowania na powierzchnię membrany (wzrost kosztów inwestycyjnych).
- Najkorzystniejsze wyniki dla prowadzenia procesu separacji membranowej składników biogazu uzyskano przy ciśnieniu 0,6 MPa.
- Rozdział mieszaniny o wysokiej zawartości metanu daje niewielkie, choć stałe w czasie wzbogacenie, co umożliwia standaryzację strumienia retentatu po pierwszym stopniu permeacji. Zaleca się zastosowanie minimum jednego stopnia permeacji retentatu. Większa liczba modułów uwarunkowana jest podziałem strumienia pierwszego stopnia.
- Oczyszczanie strumienia o wysokiej zawartości dwutlenku węgla prowadzi do uzyskania dwutlenku węgla o czystości powyżej 99% obj.
- Na korzyść permeacji przemawia nie tylko wysoki stopień wzbogacenia, ale także niski nakład energetyczny, małe zapotrzebowanie powierzchni i łatwość prowadzenia procesu separacji.

Literatura

- Arnold K. E., Stewart M. 2011. *Gas dehydration field manual*. Elsevier.
- Blinka T. A., Kloczewski H. A., Wang I., White L. S. 1995. *Properties of polyimide gas separation membrane in natura gas streams*. Journal of Membrane Science, 103(1–2): 73–82.
- Chmielewski A. G., Harasimowicz M., Orluk P., Zakrzewska-Trznadel G. 2007. *Application of polyimide membranes for biogas purification and enrichment*. Hazardous Materials Journal, 7: 698–702.
- Datta A. K., Sen P.K. 2006. *Optimization of membrane unit for removing carbon dioxide from natural gas*. Journal of Membrane Science, 283: 291–300.
- Fane A. G., Ho W. S., Li N. N., Matsura T. 2008. *Advanced membrane technology and applications*. John Wiley & Sons. INC, Publication.
- Faulstich M., Quicker P., Schieder, D., Schneider R., Winter H. 2003. *Microbial removal of hydrogen sulfide from biogas by means of separate biofilter system: experience with technical operation*. Water Science and Technology, 48: 2009–2012.
- Javaid A. 2005. *Membrane for solubility-based gas separation applications* Chemical Engineering Journal, 112: 219–226.
- Kentish A. E., Scholes C. A., Stevens G. W. 2008. *Carbon dioxide separation for flue gas applications*. Chemical Engineering, 1: 52–66.
- Pabby A. K. i in. 2009. *Handbook of membrane separations – chemical, pharmaceutical, food, and biotechnological applications*. CRC Press Taylor&Francis Group.
- Porter M. C. i in. 1990. *Handbook of industrial membrane technology*. Noyes Publications, USA.
- Rasi S., Rintala J., Veijanen A. 2007. *Trace compounds of biogas from different biogas production plants*. Energy, 32(8): 1375–1380.
- Soreanu G. i in. 2011. *Approaches concerning siloxanes removal from biogas – A review*. Canadian Biosystems Engineering, 53: 8.1–8.18.
- Weiland P. 2010. *Biogas production: current status and perspectives*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 85: 849–860.

ROZDZIAŁ 10

Zagospodarowanie energetyczne odpadów z biogazowni rolniczej

Use of waste from an agricultural biogas plant for energy purposes

Dariusz Wiśniewski

Katedra Elektrotechniki Energetyki Elektroniki i Automatyki
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Słowa kluczowe: fermentacja metanowa, nawóz, zgazowanie, piroliza, suszenie, syngaz.

Key words: anaerobic digestion, fertilizer, gasification, pyrolysis, drying, syngas.

Streszczenie

Pozostałości z fermentacji metanowej charakteryzują się bogatymi właściwościami odżywczymi, a po zastosowaniu do nawożenia mogą zredukować zużycie nawozów mineralnych i użyźnić glebę. Jednakże odwodnienie i dalsze procesy przetwarzania pofermentu w pewnych sytuacjach mogą być uzasadnione. Ograniczenie zastosowania pofermentu jako nawozu może pojawić się zimą w okresie wegetacji lub kiedy gleba jest w stanie silnej eutrofizacji. Dodatkowym utrudnieniem jest brak właściwych regulacji prawnych, które jednoznacznie definiowałyby status pofermentu z biogazowni rolniczych. Według obecnych regulacji prawnych poferment może być traktowany jako nawóz, osad ściekowy, a czasami odpad. Celem prowadzonych badań było określenie możliwości wytworzenia paliw stałych ze stałej frakcji pofermentu o zawartości suchej masy ok. 25–35% poprzez suszenie, następnie pirolizę i zgazowanie. Piroliza była przeprowadzona w temperaturze ok. 500°C. W trakcie trwania procesu analizowano online i rejestrowano kinematykę powstających gazów palnych oraz ich kaloryczność. Następnie przeprowadzono analizę porównawczą uzyskanego w procesie pirolizy karbonizatu. Zgazowanie osuszonego pofermentu przeprowadzono w temperaturze ok. 850°C z użyciem jako

S u m m a r y

Residues from anaerobic digestion are characterized by rich nutritional properties, and when applied to fertilization can reduce the use of mineral fertilizers and fertilize the soil. However, dehydration and further processing operations of pofermentu in certain situations may be justified. Restricting the use of pofermentu as fertilizer may occur during the growing season in the winter or when the soil is capable of strong eutrophication. An additional difficulty is the lack of appropriate legal regulations that specifically define clearly pofermentu status of agricultural biogas plants. According to current regulations poferment can be treated as a fertilizer, sewage sludge, and sometimes waste. The aim of this study was to determine the possibility of producing solid fuel from the solid fraction of pofermentu dry matter content of approx. 25–35% by drying, followed by pyrolysis and gasification. Pyrolysis was carried out at a temperature of approx. 500°C. During the course of this process, online and recorded kinematics of combustible gases and their calorific value. Then, a comparative analysis obtained by pyrolysis of the char. Gasification of the char was carried out at a temperature of approx. 850°C with a gasifying agent of carbon dioxide. Energy parameters of combustible gases generated in

czynnika zgazowującego dwutlenku węgla. Parametry energetyczne gazów palnych uzyskiwanych w procesie pirolizy i zgazowania były bardzo podobne do analogicznych parametrów uzyskiwanych podczas pirolizy i zgazowania biomasy lignocelulozowej. Analiza uzyskanych paliw stałych i gazowych z procesu pirolizy i gazowych z procesu zgazowania potwierdziła znaczący potencjał energetyczny do wykorzystania.

the process of pyrolysis and gasification were very similar to the corresponding parameters obtained during the pyrolysis and gasification of lignocellulosic biomass. Analysis of the solid and gaseous fuels from pyrolysis and gas from the gasification process confirmed the significant potential energy to use.

1. Wstęp

Biogaz i poferment są produktami fermentacji metanowej odbywającej się w biogazowniach rolniczych. Biogaz jest źródłem energii odnawialnej i jego użycie do generacji energii lub paliwa to zasadniczy cel jego produkcji. Pozostałości z produkcji biogazu, czyli głównie poferment, uważa się za mało interesujący odpad. Możliwości wykorzystania pofermentu nie do końca jeszcze zostały zbadane. Istnieje szereg różnych koncepcji, w jaki sposób poferment może zostać wykorzystany. Sonesson i in. (2000) twierdzą, że ze względów środowiskowych i ekonomicznych naturalną drogą zagospodarowania pofermentu z biogazowni rolniczych powinno być zwrócenie składników odżywczych w nim zawartych bezpośrednio do gleby. To rozwiązanie jest uzasadnione tym, że składowe pofermentu wyprodukowanego podczas acidogenezy: celuloza i lignina nie podlegają całkowitej biodegradacji. Przemawia za tym też fakt, iż podczas metanogenezy wytwarza się dużo składników mineralnych (azot, fosfor, mikroślądniki) stanowiących nawozową wartość pofermentu. Szereg sprawozdań dowodzi, że przynosi to korzystny efekt dla gleby i zwiększa produktywność upraw (Badran 2001; Garg i in. 2005; Zaid i in. 2005).

Jednakże odwadnianie i dalsze procesy obróbki pofermentu mogą być wskazane w pewnych sytuacjach. Wynika to z ograniczeń możliwości zastosowania pofermentu jako nawozu głównie zimą, poza okresem wegetacji lub kiedy występuje zaawansowana eutrofizacja arealu uprawowego i przyległych do niego wód (rzeki, jeziora). Ostatnio rozpoczęto badania nad możliwością wyznaczenia alternatywnych dróg zagospodarowania pofermentu. W prowadzonych badaniach skupiono się głównie na: własnościach pofermentu (obecność lub nieobecność toksycznych związków), wymaganiach ekologicznych (bezpieczne aplikowanie), przygotowaniu nowego produktu (nawozu organicznego), niskiej energochłonności i wysokiej efektywności biogazowni (minimalizacja kosztów działania). Wśród licznych przykładów takich badań nowym podejściem jest rozróżnianie pofermentu o dużej zawartości ligniny, który może zostać wykorzystany do produkcji bioetanolu II generacji (Teater i in.

2011; Yue i in. 2011). Inne koncepcje zakładają rozfrakcjonowanie pofermentu na frakcje stałą i ciekłą, gdzie frakcja stała zostałaby wykorzystana do produkcji biowęgla poprzez torefakcję (Wiśniewski i in. 2013) lub inne termiczne procesy (Wiśniewski i Gołaszewski 2013; Troy i in. 2013).

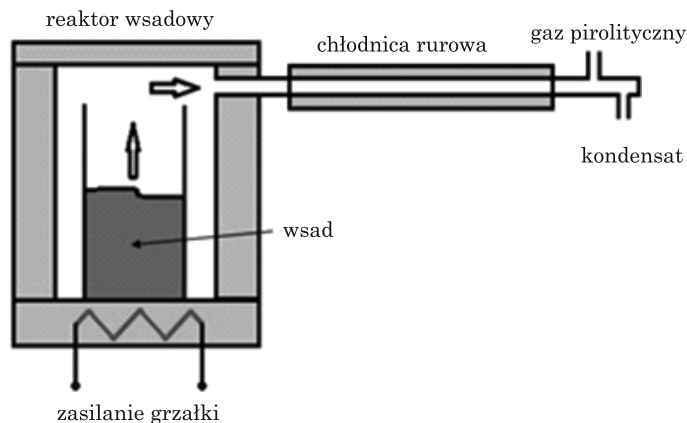
Celem badań nad zagospodarowaniem energetycznym odpadów z biogazowni było dostarczenie informacji nad możliwością wykorzystania osuszonego pofermentu jako źródła paliwa stałego do procesów energetycznych. Przeprowadzono zatem badania nad termicznym przetwarzaniem osuszonego pofermentu poprzez pirolizę i zgazowanie do paliw gazowych II generacji. Analiza właściwości osuszonego i przygotowanego pofermentu do celów energetycznych została przeprowadzona w reaktorze wsadowym wyposażonym w aparaturę określającą skład i kaloryczność otrzymywanego gazu pirolitycznego i generatorowego. W pierwszym etapie wykonano badania nad pirolizą pofermentu. Przebadano rozkład termiczny pofermentu dla temperatur odpowiadających zakresowi pirolizy średnotemperaturowej i w efekcie otrzymano gaz pirolityczny oraz karbonizat. Frakcji olejowej uzyskano zbyt mało, aby możliwe było jej przebadanie. W drugim etapie osuszony poferment poddano zgazowaniu, wykorzystując jako czynnik zgazowujący dwutlenek węgla dozowany z butli.

2. Stanowisko badawcze i przygotowanie pofermentu do badań nad termicznymi metodami przetwarzania

Badania nad zagospodarowaniem energetycznym odpadów z biogazowni metodami termicznymi przeprowadzono na specjalnie zaprojektowanym i wykonanym stanowisku laboratoryjnym do pirolizy i zgazowania. Konstrukcja reaktora została zaprojektowana i wykonana w taki sposób, aby umożliwić jednocześnie badania nad zgazowaniem i pirolizą. Stanowisko to składa się z następujących elementów:

- reaktora wsadowego wraz z układem dostarczania ciepła,
- chłodnicy gazów pirolitycznych,
- układu poboru próby gazowej,
- kondycjonera gazu,
- analizatora gazu,
- szafy sterującej wraz z systemem kontrolno-pomiarowym czasu rzeczywistego,
- układu podawania czynnika zgazowującego.

Na rysunku 1 przedstawiono elementy instalacji badawczej wraz z opisem.



Rys. 1. Widok stanowiska badawczego do zgazowania i pirolizy

Badania nad termicznym przetwarzaniem pofermentu na stanowisku badawczym do pirolizy i zgazowania zostały poprzedzone przygotowaniem materiału wsadowego. Jako materiał wsadowy do procesu zgazowania i pirolizy został wykorzystany poferment z eksperymentalnej biogazowni rolniczej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego.

Eksperymentalna biogazownia w Białdach jako substrat wykorzystuje gnojnicę oraz kiszonkę z kukurydzy. Parametry technologiczne procesu fermentacji były następujące:

- uwodnienie substratu – ok. 90%;
- całkowity wsad doprowadzony do komory fermentacyjnej – $1,2 \text{ m}^3$;
- całkowity ładunek organiczny komponentów – $2,3 \text{ kg VS/m}^3$;
- temperatura pracy podczas procesu – $35\text{--}40^\circ\text{C}$;
- czas przebywania w zbiorniku przedfermentacyjnym – 3 dni;
- czas w komorze fermentacyjnej – 20 dni;
- czas przebywania w komorze pofermentacyjnej – 20 dni.

Z biogazowni została pobrana próba w postaci $0,03 \text{ m}^3$ pofermentu o uwodnieniu ok. 90%. Próba została osuszona wieloetapowo do wilgotności ok. 10% poprzez:

- 1) sedymentację, a następnie separację części przez sito,
- 2) podgrzewanie i odparowanie wody,
- 3) wygrzewanie w piecu komorowym.

W pierwszym etapie przygotowania pofermentu dokonano sedymentacji. Następnie została wydzielona frakcja stała w wyniku filtracji przez specjalnie skonstruowane sito o niewielkim wymiarze oczek. Osad pozostały po sedymentacji wraz z frakcją stałą został następnie zlany do naczynia i poprzez pod-

grzewanie odparowano zawartą wodę. Otrzymano w ten sposób wilgotną frakcję stałą, którą wysuszono do wilgotności ok. 10% w piecu komorowym.

Proces pirolizy jest często określany jako sucha destylacja, kraming, karbonizacja i odbywa się w stosunkowo niskiej temperaturze: 300–650°C. W wyniku procesu pirolizy celuloza zawarta w biomase rozkłada się na metan, wodór, dwutlenek węgla, tlenek węgla, parę i węglowodory wyższych rzędów. Piroliza jest procesem, w którym ruch ciepła odbywa się w kierunku przeciwnym do przepływu jej produktów, tj. gazów i smół. Ciepło przedostaje się do wnętrza kawałków paliwa poprzez przewodzenie ciepła, promieniowanie ciepłe i konwekcję. Rezultatem końcowym takiego oddziaływania jest odgazowanie części lotnych, w wyniku czego pozostaje frakcja stała, tzw. karbonizat, który charakteryzuje się zwiększonym udziałem węgla. Przedstawione w tabeli 1 warianty procesów pirolizy stosuje się w zależności od tego, jaki ma być efekt końcowy procesu. Sterowanie parametrami procesowymi pozwala maksymalizować uzysk takich produktów końcowych, jak gaz, olej czy frakcja stała.

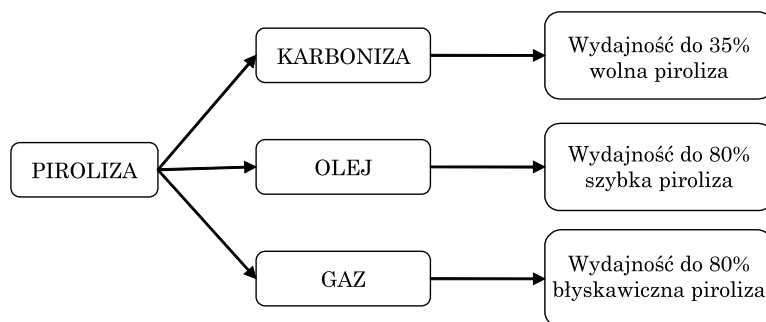
Tabela 1

Parametry procesu dla różnych wariantów pirolizy

Warunki procesu	Konwencjonalna piroliza	Szybka piroliza	Błyskawiczna piroliza
Temperatura [°C]	300–700	600–1000	800–1000
Szybkość nagrzewania [°C/s]	0,1–1	10–200	≥1000
Czas przebywania w temperaturze końcowej [s]	600–6000	0,5–5	<0,5
Rozmiar cząstek [mm]	5–50	<1	pył

Źródło: Wiśniewski, Piechocki, Białowiec 2014.

Na rysunku 2 schematycznie przedstawiono uzysk produktów końcowych w zależności od warunków prowadzenia procesu pirolizy.

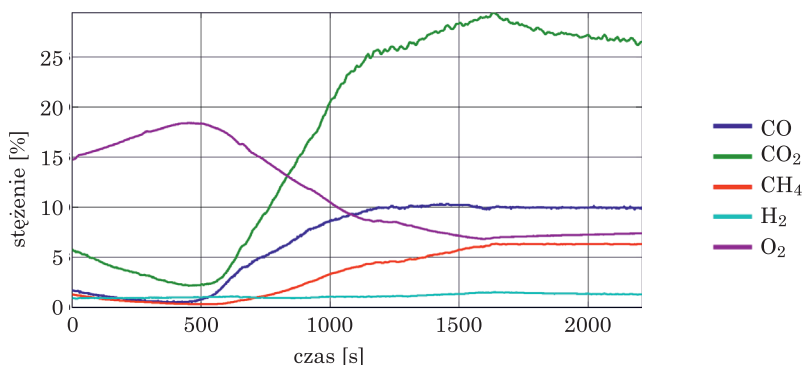


Rys. 2. Uzysk produktów końcowych w zależności od rodzaju pirolizy

Źródło: Wiśniewski, Piechocki, Białowiec 2014.

Wolna piroliza jest tradycyjnie używana do produkcji węgla drzewnego. Proces szybkiej pirolizy stosuje się na szeroką skalę do produkcji paliw, rozpuszczalników, chemikaliów i innych produktów pozyskiwanych z biomasy. Szybka piroliza przeprowadzana w umiarkowanej temperaturze jest metodą otrzymywania wysokiej jakości produktów ciekłych.

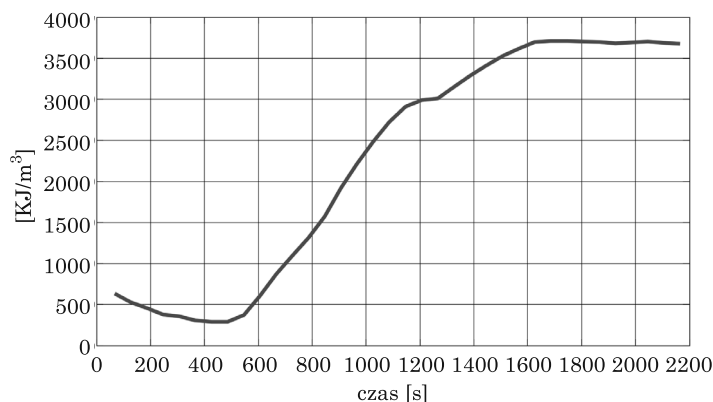
Badania nad pirolizą osuszonego i przygotowanego pofermentu prowadzono poprzez umieszczenie badanej próby w komorze reaktora rozgrzanego do temperatury ok. 580°C, co odpowiada zakresowi pirolizy konwencjonalnej. Na rysunku 3 przedstawiono wyniki zmian stężenia poszczególnych gazów składowych gazu pirolitycznego w czasie trwania eksperymentu, natomiast na rysunku 4 wykres zmian kaloryczności gazu pirolitycznego w czasie.



Rys. 3. Zmiany stężenia poszczególnych gazów składowych gazu pirolitycznego podczas pirolizy osuszonego pofermentu

Przedstawione na rysunku 3 zmiany stężenia poszczególnych składowych gazu pirolitycznego podczas pirolizy osuszonego pofermentu wskazują, że właściwy proces rozpoczął się w czasie $t = 500$ s. W tym momencie w sposób wyraźny rośnie ilość gazów palnych CO, H₂, CH₄, jak również zawartość CO₂, co jest wynikiem utleniania wsadu, spowodowanego dużą zawartością tlenu w reaktorze w stosunku do masy próbki.

Po zakończeniu procesu reaktor został otwarty i pobrano próbę karbonizatu powstałego na skutek odgazowania części lotnych. Osuszony poferment oraz otrzymany karbonizat zostały przebadane pod kątem wykorzystania energetycznego w laboratorium Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego. Zestawienie wyników badań dla osuszonego pofermentu oraz karbonizatu przedstawiono w tabeli 2.



Rys. 4. Wykres zmiany kaloryczności gazu pirolitycznego podczas pirolizy osuszonego pofermentu

Tabela 2
Kaloryczność i chemiczne parametry osuszonego pofermentu i karbonizat uzyskanego w procesie pirolizy

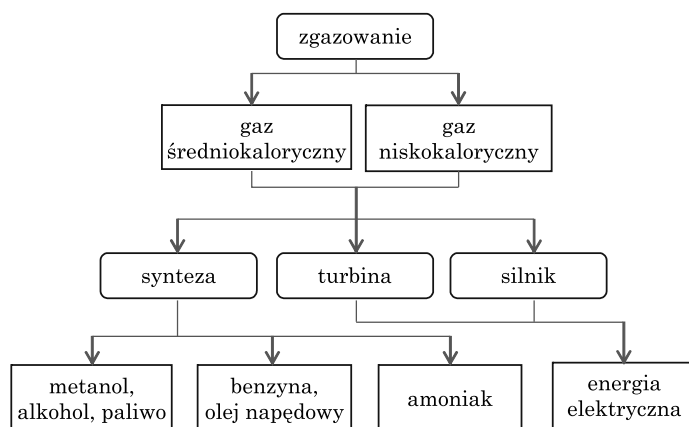
Parametry	Jednostka	Poferment		Karbonizat		Zmiana [%]
		średnia	odchylenie standard.	średnia	odchylenie standard.	
Wilgotność	%	7,85	0,087	3,27	0,021	-58,3
Ciepło spalania	GJ/Mg	16,86	0,038	14,06	0,027	-16,6
Wartość opałowa	GJ/Mg	15,34	0,049	13,52	0,027	-11,9
Węgiel związany	% SM	14,7	0,070	30,27	0,066	+105,9
Części lotne	% SM	58,67	0,273	20,18	0,125	-65,6
Popiół	% SM	26,62	0,336	49,55	0,085	+86,1
C	% SM	39,68	0,078	35,93	0,573	-9,5
H	% SM	4,65	0,029	1,75	0,047	-62,4
S	% SM	0,87	0,006	0,47	0,010	-46,0
N	% SM	3,76	0,040	2,7	0,020	-28,2
Cl	% SM	0,43	0,010	0,31	0,012	-27,9
O	% SM	23,98	0,278	9,29	0,662	-61,3

Wyniki eksperymentu sugerują, iż podczas procesu pirolizy nastąpiła produkcja karbonizatu z osuszonego pofermentu o zawartości wilgoci 7,85%. Zauważono znaczący wzrost popiołu (z 26,62% do 49,55%) i węgla związanego (z 14,7% do 30,27%). Koncentracja obserwowana w tych parametrach może być konsekwencją dużej ilości węgla w biodegradowalnej frakcji materii organicznej podczas fermentacji metanowej, a zatem silnie ulegający degradacji węgiel (np. lignina) pozostał w pofermencie. Podczas procesu pirolizy nastąpiła redukcja związanej wilgoci, odparowały lotne frakcje i węgiel przekształcił się

do cząstek o wyższej masie cząsteczkowej. Karbonizat charakteryzuje niższa wartość opałowa niż osuszony poferment (spadek z 13,52 MJ/kg do 15,34 MJ/kg). Zawartość siarki, azotu i chloru wzrosła znacząco podczas procesu pirolizy (odpowiednio o 0,47%, 2,7% i 0,31%).

3. Badania nad zgazowaniem osuszonego pofermentu

Zgazowanie termiczne to proces polegający na zamianie ciała stałego w gaz pod wpływem temperatury. Substratami niezbędnymi do przeprowadzenia procesu są: ciało stałe o dużej zawartości węgla oraz czynnik zgazowujący w postaci najczęściej tlenu, powietrza, pary wodnej, wodoru lub dwutlenku węgla. Produktem tego procesu jest tzw. gaz syntezowy. Cały proces wymaga temperatury ok. 800°C, a więc jest energochłonny. Wprowadzony czynnik pod wpływem podwyższonej temperatury reaguje z karbonizatem, powodując powstanie palnych gazów procesowych, a pozostałości są jedynie substancjami mineralnymi. Na rysunku 5 przedstawiono możliwości wykorzystania gazu syntezowego.



Rys. 5. Sposoby wykorzystania gazu generatorowego ze zgazowania
Źródło: Ściażko, Zieliński 2003.

Sam proces zgazowania odbywa się w reaktorach zwanych gazogeneratorami. To w nich następuje przekształcenie energii chemicznej biomasy na energię chemiczną gazu przy udziale czynnika zgazowującego. W samym reaktorze na skutek reakcji chemicznych zachodzi cały cykl przemian prowadzących do wytworzenia gazu, chociaż praktycznie zgazowanie to wyłącznie proces, w którym realizowane są endotermiczne reakcje chemiczne w warunkach podstechiomet-

rycznych (przy niedostatku tlenu) z udziałem pierwiastka węgla, dwutlenku węgla, tlenku węgla, wodoru, pary wodnej i metanu. Oprócz wytworzonego gazu palnego składającego się z takich związków palnych, jak tlenek węgla, wodór i metan, powstają również substancje ciekłe i smoliste oraz stałe, jak koksik i żużel. Podstawowe zalety technologii zgazowania w stosunku do innych metod energetycznego wykorzystania biomasy to:

- 1) możliwość różnorodnego wykorzystania wytworzonego gazu (produkcja ciepła, energii elektrycznej lub jako surowiec do produkcji metanolu);
- 2) obniżenie emisji dwutlenku węgla do atmosfery;
- 3) możliwość znacznego zwiększenia sprawności wytwarzania energii elektrycznej;
- 4) możliwość stosowania biomasy w formie nieprzetworzonej, np. o dużej zawartości wilgoci (reaktory ze złożem fluidalnym).

W procesie zgazowania biomasy w reaktorach można wyróżnić kilka etapów. Pierwszy to suszenie biomasy. Biomasa w przeciwieństwie do węgla charakteryzuje się dużą zawartością wilgoci, a zawilgocenie sprzyja koncentracji wodoru i metanu. Następnym etapem jest proces pirolizy, w którym następuje odgazowanie z biomasy części lotnych w podwyższonej temperaturze (200–600°C) bez dostępu tlenu. Produktami pirolizy są części lotne w postaci mieszaniny CO, CO₂, H₂, CH₄, pary wodnej i aromatów. W gazie występują również węglowodory wyższych rzędów, które tworzą substancje smoliste. Produktami stałymi pirolizy są węgiel drzewny, koks oraz balast mineralny. Podczas ostatniego etapu zgazowania następuje szereg egzotermicznych i endotermicznych reakcji chemicznych. Reakcje te zachodzą w warunkach podstechiometrycznych, czyli niedostatku tlenu (współczynnik $0 < \lambda < 1$). Oprócz tego obserwuje się wówczas procesy wymiany ciepła i masy, w wyniku czego powstają gazy palne: CO, H₂, CH₄. Aby mogła zajść zamiana produktów pirolizy na gaz syntezowy, niezbędna jest temperatura wyższa niż 750°C.

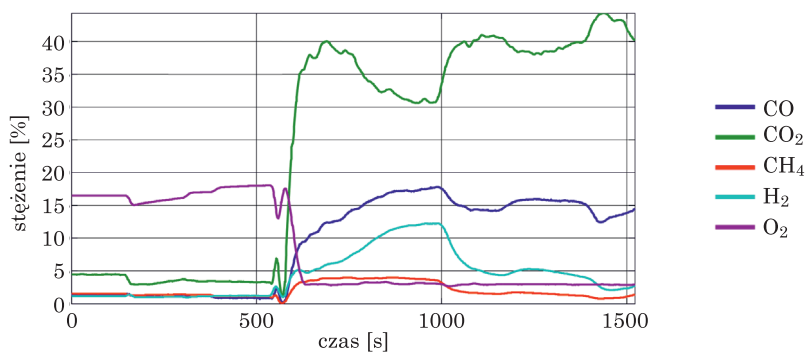
Reakcje występujące podczas procesu zgazowania dzielą się na endotermiczne i egzotermiczne. W zależności od pokrywania potrzeb reakcji endotermicznych wyróżnia się dwa typy procesów zgazowania:

- 1) autotermiczny, w którym reakcje egzotermiczne pokrywają potrzeby reakcji endotermicznych;
- 2) alotermiczny, w którym energia dostarczona z zewnątrz pokrywa potrzeby reakcji endotermicznych.

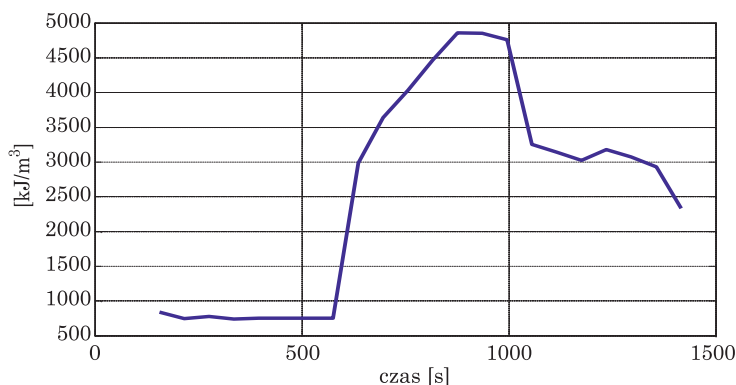
Podczas autotermicznego zgazowania biomasy (tlenem, powietrzem), energia potrzebna na suszenie, odgazowanie i zgazowanie karbonizatu jest uzyskiwane przez częściowe spalanie uzyskanego w strefie pirolizy karbonizatu (Kordylewski 2008).

Zgazowanie pofermentu przeprowadzono na stanowisku przedstawionym na rysunku 1, wprowadzając jako czynnik zgazowujący dwutlenek węgla. Przed

włożeniem do reaktora pofermentu reaktor został rozgrzany do temperatury 850°C. Następnie przygotowano złożę występujące w typowych reaktorach ze złożem stałym. W reaktorze w warstwie dolnej umieszczono rozgrzany węgiel drzewny, który stanowi strefę redukcji. Na wierzchu umieszczono wsad właściwy w postaci osuszonego pofermentu. Po umieszczeniu próbki odczekano do momentu rozpoczęcia procesu pirolizy, a następnie podano czynnik zgazowujący w ilości ok. 0,004 m³/h. Na rysunku 6 przedstawiono wyniki zmian stężenia poszczególnych gazów składowych gazu generatorowego w czasie trwania eksperymentu, natomiast na rysunku 7 wykres zmian kaloryczności gazu generatorowego w czasie.



Rys. 6. Zmiany stężenia poszczególnych gazów składowych gazu generatorowego podczas zgazowania osuszonego pofermentu



Rys. 7. Wykres zmiany kaloryczności gazu generatorowego podczas zgazowania osuszonego pofermentu

Na wykresach obrazujących kinetykę procesu zgazowania (rys. 6 i 7) widać, że właściwy proces zaczyna się w przybliżeniu w chwili $t = 600$ s, wtedy bowiem rozpoczynają się właściwe reakcje typowe dla zgazowania, czyli odgazowanie wsadu w strefie pirolizy. Dwutlenek węgla został podany w momencie rozpoczęcia

procesu pirolizy. W momencie tym w złożu wyraźnie rośnie stężenie gazów palnych, głównie CO i H₂, w mniejszym stopniu CH₄. Wyraźnie maleje stężenie tlenu oraz CO₂. Dla próbki pofermentu o masie 43 g proces zgazowania kończy się w chwili $t = 1000$ s. Utrzymujące się dalsze wysokie stężenie CO wynika z faktu, że podawany był nadal czynnik zgazowujący CO₂, który w strefie redukcji utworzonej z rozgrzanego węgla drzewnego redukował CO₂ do CO. Otrzymana maksymalna kaloryczność gazu generatorowego (rys. 7) zbiega się z maksymalnym stężeniem wszystkich gazów palnych CO, H₂, CH₄ dla $t = 900$ s. Maksymalna kaloryczność zarejestrowanego gazu to ok. 5 MJ/mn³, co jest wartością typową dla zgazowania biomasy w reaktorach atmosferycznych.

4. Wnioski

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że w masie pofermentacyjnej jest duży potencjał. Sposób wykorzystania tego potencjału w dużej mierze będzie zależał od lokalnych uwarunkowań, jednakże analizy wskazują na konieczność technologicznego rozwoju biogazowni rolniczych w Polsce. Wynika to w głównej mierze z dostępności substratów oraz możliwości efektywnego i uzasadnionego ekonomicznie zagospodarowania odpadów generowanych.

Rozfrakcjonowanie pofermentu wydaje się atrakcyjną koncepcją z punktu widzenia recyklingu wody procesowej, produkcji nawozów organicznych i energetycznego wykorzystania pozostałej w pofermencie masy organicznej. Z zaprezentowanych wyników badań nad energetycznym zagospodarowaniem pofermentu wynika, że zawartość masy organicznej w rozfrakcjonowanym i osuszonym pofermencie umożliwia jego dalsze wykorzystanie energetyczne w procesach termicznych. Możliwe jest zatem wytwarzanie paliw II generacji z osuszonego pofermentu, a pozostałości z przetwarzania termicznego pofermentu mogą służyć do produkcji nawozów organicznych. Ewentualne trudności może sprawiać bezpośrednio ich spalanie w kotłach rusztowych ze względu na dużą zawartość popiołów. Podobne trudności mogą występować podczas zgazowania w reaktorach dolnociągowych ze złożem stałym. Duża zawartość popiołów, które w przypadku biomasy pochodzenia rolniczego charakteryzują się niską temperaturą mięknięcia, powoduje problemy ze szlakowaniem w kotłach czy też w reaktorach zgazowania ze złożem stałym. Technologia zgazowania i spalania w reaktorach ze złożem fluidalnym eliminuje wskazane problemy.

W wyniku przeprowadzonych badań nad pirolizą i zgazowaniem osuszonego pofermentu stwierdzono, że otrzymane paliwo gazowe nie odbiega jakością od paliw uzyskiwanych z przetwarzania termicznego innych rodzajów biomasy. Wartość opałowa otrzymanych gazów palnych, odpowiednio ok. 5 MJ/mn³ dla zgazowania i ok. 4 MJ/mn³ dla pirolizy, klasyfikuje te paliwa jako niskokalorycz-

ne. Paliwa tego typu można wykorzystywać do spalania w układach silnikowych lub turbinowych, chociaż wymagają one odpowiedniego kondycjonowania. Analiza porównawcza osuszonego pofermentu i karbonizatu z procesu pirolizy pozwoliła stwierdzić, że możliwe jest wykorzystanie tych produktów do celów energetycznych. Wartość opałowa na poziomie odpowiednio 15,34 MJ/kg i 13,52 MJ/kg nie jest wysoka, ale stanowi potencjał energetyczny.

Literatura

- Badran N.M. 2001. *Residual effect of nutrient-enriched organic residues on growth and nutrient utilization by corn plants grown on a sandy soil*. Ann. Agricult. Sci. Moshtohor., 39(1): 717–736.
- Garg R.N., Pathak H., Das D.K., Tomar R.K. 2005. *Use of fly ash and biogas slurry for improving wheat yield and physical properties of soil*. Environ. Monit. Assessment, 107(1/3): 1–9.
- Kordylewski W. (red.). 2008. *Spalanie i paliwa*. Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław.
- Sonesson B., Bjorklund A., Carlsson M., Dalemo M. 2000. *Environmental and economic analysis of management systems for biodegradable waste*. Res. Conser. Rec., 28: 29–53.
- Ściążko M., Zieliński H. 2003. *Termochemiczne przetwórstwo węgla i biomasy*. Wydawnictwo Instytutu Chemicznej Przeróbki Węgla, Zabrze.
- Teater C., Yue Z., MacLellan J., Liu Y., Liao W. 2011. *Assessing solid digestate from anaerobic digestion as feedstock for ethanol production*. Bioresource Technology, 102: 1856–1862.
- Troy S., Nolana T., Leahy J., Lawlor P., Healy M., Kwapinski W. 2013. *Effect of sawdust addition and composting of feedstock on renewable energy and biochar production from pyrolysis of anaerobically digested pig manure*. Biomass and Bioenergy, 49: 1–9.
- Wiśniewski D., Gołaszewski J., Białowiec A., Gołaszewski M. 2013. *Torrefaction of Turkey Manure and Energy Value of the Product* [w druku].
- Wiśniewski D., Gołaszewski J. 2013. *Thermal treatment of dewatered digestate for energy use*. Nat. Conf. International Anaerobic Digestion Symposium at Biogas World 2013, Berlin [w druku].
- Yue Z., Teater C., MacLellan J., Liu Y., Liao W. 2011. *Development of a new bioethanol feedstock – anaerobically digested fiber from confined dairy operations using different digestion configurations*. Biomass and Bioenergy, 35: 1946–1953.
- Zaid M.S., Ghozali M.A., Lamhy M.A. 2005. *Residual effect of some organic residues produced from biogas on growth and nutrients utilization by wheat plants*. Ann. Agricult. Sci. Moshtohor., 43(2): 955–972.
- Wiśniewski D., Piechocki J., Białowiec A. 2014. *Sustainable energy solution in agriculture. Thermal gasification of waste biomass from agriculture production for energy purposes*. CRC Press: 355–382.