

Univerza  
v Ljubljani

Fakulteta  
za gradbeništvo  
in geodezijo



Jamova cesta 2  
1000 Ljubljana, Slovenija  
<http://www3.fgg.uni-lj.si/>

**DRUGG** – Digitalni repozitorij UL FGG  
<http://drugg.fgg.uni-lj.si/>

To je izvirna različica zaključnega dela.

Prosimo, da se pri navajanju sklicujete na bibliografske podatke, kot je navedeno:

Kržišnik, T., 2016. Anaerobna presnova biološko razgradljivih substratov. Diplomaska naloga. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za gradbeništvo in geodezijo. (mentorica Bokan Bosiljkov, V., somentorica Kolbl, S.): 41 str.

Datum arhiviranja: 22-08-2016

University  
of Ljubljana

Faculty of  
Civil and Geodetic  
Engineering



Jamova cesta 2  
SI – 1000 Ljubljana, Slovenia  
<http://www3.fgg.uni-lj.si/en/>

**DRUGG** – The Digital Repository  
<http://drugg.fgg.uni-lj.si/>

This is original version of final thesis.

When citing, please refer to the publisher's bibliographic information as follows:

Kržišnik, T., 2016. Anaerobna presnova biološko razgradljivih substratov. B.Sc. Thesis. Ljubljana, University of Ljubljana, Faculty of civil and geodetic engineering. (supervisor Bokan Bosiljkov, V., co-supervisor Kolbl, S.): 41 pp.

Archiving Date: 22-08-2016

Univerza  
v Ljubljani

Fakulteta za  
*gradbeništvo in  
geodezijo*



Jamova 2  
1000 Ljubljana, Slovenija  
telefon (01) 47 68 500  
faks (01) 42 50 681  
fgg@fgg.uni-lj.si

**UNIVERZITETNI ŠTUDIJSKI  
PROGRAM PRVE STOPNJE  
VODARSTVO IN OKOLJSKO  
INŽENIRSTVO**

Kandidatka:

**TEJA KRŽIŠNIK**

**ANAEROBNA PRESNOVA BIOLOŠKO  
RAZGRADLJIVIH SUBSTRATOV**

Diplomska naloga št.: 58/B-VOI

**ANAEROBIC DIGESTION OF BIODEGRADABLE  
SUBSTRATES**

Graduation thesis No.: 58/B-VOI

**Mentorica:**

prof. dr. Violeta Bokan-Bosiljkov

**Somentorica:**

asist. dr. Sabina Kolbl

Ljubljana, 18. 08. 2016

Stran z napako	Vrstica z napako	Namesto	Naj bo

Spodaj podpisana študentka TEJA KRŽIŠNIK, vpisna številka 26300341, avtorica pisnega zaključnega dela študija z naslovom: ANAEROBNA PRESNOVA BIOLOŠKO RAZGRADLJIVIH SUBSTRATOV

### IZJAVLJAM

1. *Obkrožite eno od variant a) ali b)*

a) da je pisno zaključno delo študija rezultat mojega samostojnega dela;

b) da je pisno zaključno delo študija rezultat lastnega dela več kandidatov in izpolnjuje pogoje, ki jih Statut UL določa za skupna zaključna dela študija ter je v zahtevanem deležu rezultat mojega samostojnega dela;

2. da je tiskana oblika pisnega zaključnega dela študija istovetna elektronski obliki pisnega zaključnega dela študija;

3. da sem pridobil/-a vsa potrebna dovoljenja za uporabo podatkov in avtorskih del v pisnem zaključnem delu študija in jih v pisnem zaključnem delu študija jasno označil/-a;

4. da sem pri pripravi pisnega zaključnega dela študija ravnal/-a v skladu z etičnimi načeli in, kjer je to potrebno, za raziskavo pridobil/-a soglasje etične komisije;

5. soglašam, da se elektronska oblika pisnega zaključnega dela študija uporabi za preverjanje podobnosti vsebine z drugimi deli s programsko opremo za preverjanje podobnosti vsebine, ki je povezana s študijskim informacijskim sistemom članice;

6. da na UL neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravico shranitve avtorskega dela v elektronski obliki, pravico reproduciranja ter pravico dajanja pisnega zaključnega dela študija na voljo javnosti na svetovnem spletu preko Repozitorija UL;

7. da dovoljujem objavo svojih osebnih podatkov, ki so navedeni v pisnem zaključnem delu študija in tej izjavi, skupaj z objavo pisnega zaključnega dela študija.

V/Na: Ljubljani

Datum: 12.08.2016

Podpis študenta/-ke:

\_\_\_\_\_

## **BIBLIOGRAFSKO – DOKUMENTACIJSKA STRAN IN IZVLEČEK**

<b>UDK:</b>	<b>62-634.5:696.135(497.4)(043.2)</b>
<b>Avtor:</b>	<b>Teja Kržišnik</b>
<b>Mentorica:</b>	<b>prof. dr. Violeta Bokan - Bosiljkov</b>
<b>Somentorica:</b>	<b>asist. dr. Sabina Kolbl</b>
<b>Naslov:</b>	<b>Anaerobna presnova biološko razgradljivih substratov</b>
<b>Tip dokumenta:</b>	<b>diplomsko delo</b>
<b>Obseg in oprema:</b>	<b>41 str., 12 pregl., 9 sl., 13 graf., 3 pril.</b>
<b>Ključne besede:</b>	<b>anaerobna presnova, biometanski potencial, AMPTS II, pilotni reaktor, surovo blato, odpadno jedilno olje</b>

### **Izveček:**

Namen diplomske naloge je ugotoviti razgradljivost odpadnega jedilnega olja in njegov biometanski potencial. Za anaerobno presnovo smo najprej uporabili šaržno napravo Automatic Methane Potential Test System (AMPTS II). Z eksperimentom smo želeli ugotoviti pri katerem substratu ali kombinaciji substratov je biometanski potencial največji. V kontrolni reaktor smo dozirali le surovo blato in v vseh reaktorjih ustvarili enake pogoje kot na Centralni čistilni napravi Domžale – Kamnik. Rezultati so pokazali, da je produkcija metana v primerjavi s kontrolnim reaktorjem največja pri odpadnem jedilnem olju. Za primerjavo z realnim reaktorjem smo spremljali tudi delovanje anaerobnega reaktorja na CČN Domžale – Kamnik. Ugotovitev iz šaržnega eksperimenta, da je največja produkcija metana pri odpadnem jedilnem olju, smo želeli dokazati tudi na večjem, skoraj 200 L semi-kontinuirnem pilotnem reaktorju.

**BIBLIOGRAPHIC – DOCUMENTALISTIC INFORMATION AND ABSTRACT**

**UDK:** 62-634.5:696.135(497.4)(043.2)  
**Author:** Teja Kržišnik  
**Supervisor:** Prof. Violeta Bokan – Bosiljkov, Ph.D.  
**Cosupervisor:** Assist. Prof. Sabina Kolbl, Ph.D.  
**Title:** Anerobic digestion of biodegradable substrates  
**Document type:** Graduation Thesis – University studies  
**Scope and tools:** 41 p., 12 tab., 9 fig., 13 graph., 3 ann.  
**Keywords:** anaerobic digestion, biomehane potential, AMPTS II, pilot reactor, primary sludge, leftover cooking oil

**Abstract:**

The purpose of this thesis is to research the decomposition of leftover cooking oil and biomethane potential. To determine the anaerobic digestion we first used batch device Automatic Methane Potential Test System (AMPTS II). The methane production was significantly different when we used just the leftover cooking oil compared to controlled reactor. The latter was dosed the primary sludge and we created the same conditions as they have in the central cleaning plant Domžale - Kamnik. To be able to compare it to the real reactor we monitored the function of the anaerobic reactor in CCP Domžale – Kamnik. We wanted to confirm the results obtained from the batch mode also on the bigger, almost 200L semi-continuous pilot reactor.

## **ZAHVALA**

Iskreno se zahvaljujem mentorici prof. dr. Violeti Bokan – Bosiljkov za trud in čas, ki ga je namenila ob nastajanju diplomske naloge, ter somentorici asist. dr. Sabini Kolbl za nasvete in pomoč.

Posebno bi se zahvalila vsem zaposlenim v Javnem podjetju Centralna čistilna naprava Domžale – Kamnik, ki so sodelovali pri raziskovanju, še posebej Marjetki Levstek za strokovno pomoč ter Mateju Mlakarju in Ivanki Vode za pomoč pri izvajanju eksperimentalnega dela.

Hvala tudi staršema in fantu Klemnu za vzpodbujanje in finančno podpiranje tekom celotnega študija.

**KAZALO VSEBINE**

1	UVOD.....	1
2	MIKROBIOLOGIJA.....	2
2.1	Hidroliza.....	2
2.2	Acidogeneza.....	3
2.3	Acetogeneza.....	3
2.4	Metanogeneza.....	3
3	PARAMETRI ANAEROBNE DIGESTIJE.....	5
3.1	Vrsta substrata.....	5
3.2	Temperatura.....	5
3.3	Vrednost pH, alkaliniteta in kratkoverižne maščobne kisline.....	6
3.4	Kisik O <sub>2</sub> .....	8
3.5	Razmerje ogljik C : dušik N.....	8
3.6	Amonijak NH <sub>3</sub> .....	8
3.7	Vodikov sulfid H <sub>2</sub> S.....	9
3.8	FOS/TAC.....	10
3.9	Parametri delovanja reaktorja.....	10
3.9.1	Organska obremenitev.....	10
3.9.2	Hidravlični zadrževalni čas.....	11
3.10	Študije razgradnje olja v anaerobnem procesu in produkcija bioplina.....	12
4	CENTRALNA ČISTILNA NAPRAVA DOMŽALE – KAMNIK.....	13
5	MATERIALI IN METODE.....	17
5.1	Inokulum in substrati.....	17
5.2	Meritev metanskega potenciala z AMPTS II.....	17
5.3	Meritev bioplinskega potenciala na pilotnem reaktorju.....	18
5.4	Meritve.....	19
5.4.1	pH.....	19
5.4.2	KPK.....	20
5.4.3	Alkaliniteta.....	20



---

5.4.4	Kratkoverižne maščobne kisline.....	21
5.4.5	Amonijev dušik.....	21
5.4.6	Kjeldahlov dušik.....	21
5.4.7	Suha in organska snov .....	21
6	EKSPERIMENTALNI DEL .....	23
6.1	EKSPERIMENT 1: Test uporabe surovega blata, odpadnega jedilnega olja in njunih kombinacij za pridobivanje bioplina na šaržnem AMPTS II .....	23
6.2	EKSPERIMENT 2: Test uporabe surovega blata in odpadnega jedilnega olja za pridobivanje bioplina na semi-kontinuirni pilotni napravi.....	26
6.2.1	Hipotetična produkcija metana.....	34
7	PRIMERJAVA REZULTATOV .....	37
8	ZAKLJUČEK.....	38
	VIRI.....	39

**KAZALO PREGLEDNIC**

Preglednica 1: Povezava med temperaturo in zadrževalnim časom (Praβl, H., cit. po Al Seadi, T. et al., 2010)	6
Preglednica 2: Vrednotenje delovanja anaerobnega reaktorja glede na vrednosti FOS/TAC (Mezes, L., Biro, G., et. al., 2011)	10
Preglednica 3: Sestava bioplina anaerobnih reaktorjev na CČN Domžale-Kamnik	14
Preglednica 4: Lastnosti vhodnega surovega blata v anaerobni reaktor na CČN Domžale-Kamnik	15
Preglednica 5: Lastnosti pregnitega blata iz anaerobnega reaktorja na CČN Domžale-Kamnik	15
Preglednica 6: Lastnosti en teden termostatiranega inokuluma	23
Preglednica 7: Lastnosti vhodnih substratov	23
Preglednica 8: Razmerje in doziranje substratov pri eksperimentu 1	24
Preglednica 9: Lastnosti pregnitega blata po šaržnem poskusu	25
Preglednica 10: Obremenitev reaktorja po tednih	26
Preglednica 11: Delež metana v bioplenu 31. dan eksperimenta	27
Preglednica 12: Vrednosti sušine in organske snovi v anaerobnem reaktorju	33

## KAZALO GRAFIKONOV

Grafikon 1: Biometanski potencial določen na šaržni AMPTS II	25
Grafikon 2: Produkcija bioplina na semi-kontinuirni napravi	27
Grafikon 3: Dnevna produkcija bioplina	28
Grafikon 4: Dnevna produkcija bioplina glede na dozirano organsko snov	29
Grafikon 5: Dnevna produkcija bioplina glede na doziran KPK	29
Grafikon 6: Dnevne vrednosti pH in produkcija bioplina	30
Grafikon 7: Dnevne vrednosti alkalinitete in produkcija bioplina	31
Grafikon 8: Dnevne vrednosti kratkoverižnih maščobnih kislin in produkcija bioplina	31
Grafikon 9: Dnevne vrednosti topnega KPK in produkcija bioplina	32
Grafikon 10: Dnevne vrednosti razmerja FOS/TAC in produkcija bioplina	32
Grafikon 11: Hipotetična kumulativna produkcija metana s 65% deležem metana v R1 in 35% deležem metana v R2	34
Grafikon 12: Hipotetična kumulativna produkcija metana s 65% deležem metana v R1 in 55% deležem metana v R2	35
Grafikon 13: Hipotetična kumulativna produkcija metana s 65% deležem metana v R1 in 65% deležem metana v R2	36

**KAZALO SLIK**

Slika 1: Proces anaerobne razgradnje (Mata-Alvarez, 2003 cit. po Vögeli, Y. et al., 2014)	2
Slika 2: Odvisnost vrednosti pH od koncentracije bikarbonatov (Mackenzie, 2010)	7
Slika 3: Vpiv pH in temperature glede na vsebnosti prostega amonijaka in amonijevega iona (Orhon and Artan, 1994)	9
Slika 4: Pogled na CČN Domžale - Kamnik iz zraka	13
Slika 5: Maščoba v kanalizacijskem omrežju	17
Slika 6: Merilna naprava AMPTS II za določanje BMP	18
Slika 7: Pilotni reaktor z označenimi deli naprave	19
Slika 8: Spektrofotometer in kivete za merjenje parametrov, kot so KPK, amonijev dušik, fosfor	20
Slika 9: Vzorec po sušenju iz reaktorja 1 (levo) in iz reaktorja 2 (desno)	22

## **KAZALO PRILOG**

PRILOGA A: Shema čistilne naprave Domžale – Kamnik

PRILOGA B: Meritve v anaerobni pilotki R1 (surovo blato)

PRILOGA C: Meritve v anaerobni pilotki R2 (odpadno jedilno olje)

**OKRAJŠAVE IN SIMBOLI**

KPK	Kemijska potreba po kisiku
BPK	Biokemijska potreba po kisiku
CO <sub>2</sub>	Ogljikov dioksid
CaCO <sub>3</sub>	Kalcijev karbonat
H <sub>2</sub> S	Vodikov sulfid
OS	Organska snov
HRT	Hidravlični zadrževalni čas
CČN	Centralna čistilna naprava
CH <sub>4</sub>	Metan
BMP	Biometanski potencial
AMPTS II	Automatic Methane Potential Test System
SS	Suha snov
L	Liter
FOS/TAC	Razmerje med kratkoverižnimi maščobnimi kislinami in alkaliniteto

## 1 UVOD

O alternativnih virih energije smo začeli razmišljati ob naraščanju cen surove nafte. Na voljo so različne tehnologije pridobivanja energije s pomočjo obnovljivih virov. V današnjem svetu se spopadamo z vse večjimi količinami odpadkov. Na srečo pa obstaja rešitev za ravnanje z organskimi odpadki. Imenuje se anaerobna razgradnja, s pomočjo katere pridobivamo iz organskih odpadkov obnovljive vire energije in organska gnojila.

Več kot eno tretjino vseh odpadkov v Sloveniji predstavljajo organski (biološki) odpadki. Ti se lahko ponovno uporabijo na tri načine: za krmljenje živali, za izboljšanje tal (kompostiranje) ali za proizvodnjo energije (anaerobna razgradnja). Kompostiranje je aerobni proces, ki poteka ob prisotnosti kisika, medtem ko proces anaerobne razgradnje poteka ob odsotnosti kisika. Pri slednjem poleg digestata nastane bioplin, ki vsebuje 60 – 65% metana, 30 – 35% ogljikovega dioksida ter nekaj vodikovega sulfida in ostalih plinskih produktov.

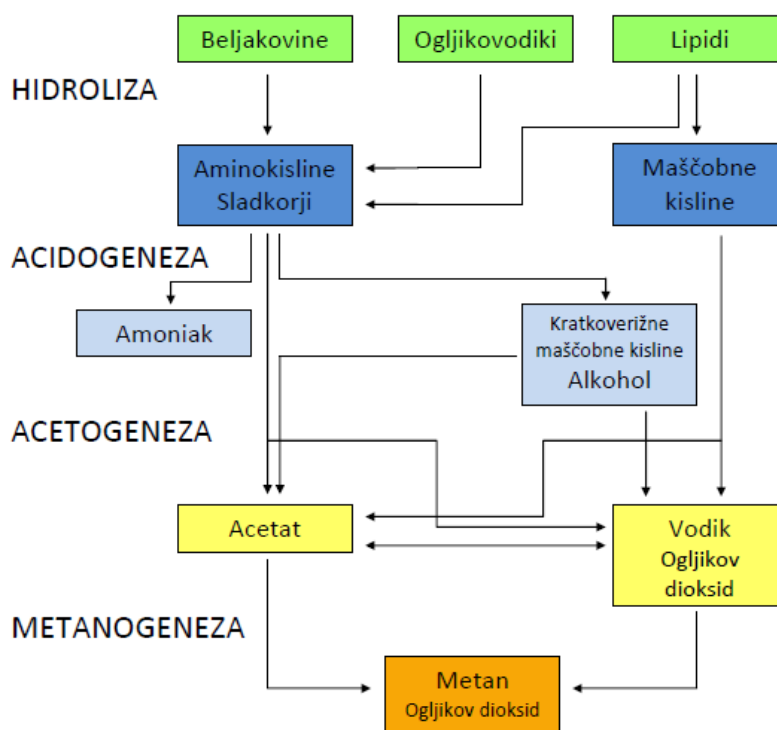
Najpomembnejša sestavina bioplina je metan, ki se uporablja za proizvodnjo energije na plinskih motorjih.

Proces anaerobne razgradnje je prakticiran že desetletja, poročila o prvem anaerobnem digestorju pa najdemo že iz leta 1859. Uporabljali so ga v mestu Mumbai v Indiji za čiščenje odplak. Od takrat naprej se je ta tehnologija razširila po vsej Aziji. Z različnimi programi so se tamkajšnje države osredotočale na podeželske družine, kjer so živalski gnoj in človeške iztrebke uporabljali kot surovino, zraven pa so dodali še kuhinjske odpadke. S takim ukrepom so želeli zmanjšati porabo drv, krčenje gozdov in izboljšati kakovost tal. (Vögeli, Y. et al., 2014)

Louis Pasteur je leta 1884 iz konjskih iztrebkov poskušal proizvesti bioplin. Skupaj z njegovim učencem mu je uspelo proizvesti 100L metana iz 1m<sup>3</sup> gnoja. Trdil je, da bi tolikšna proizvodnja metana utegnila zadoščati energetskim zahtevam za ulično razsvetljavo v Parizu. To je bil začetek uporabe obnovljivih virov energije. (Deublein and Steinhauser, 2008)

## 2 MIKROBIOLOGIJA

Anaerobna presnova je mikrobiološki proces razgradnje organskih snovi (zelena biomasa in odpadki, živalska gnojevka in blato, organski odpadki in odplake, kanalizacijska gošča) v metan, ogljikov dioksid, vodikov sulfid, vodo in amonijak. V procesu razgradnje se vršijo štiri glavne faze: hidroliza, acidogeneza, acetogeneza in metanogeneza (Slika 1). (Lemos Chernicharo, 2007)



Slika 1: Proces anaerobne razgradnje (Mata-Alvarez, 2003 cit. po Vögeli, Y. et al., 2014)

Proces nastajanja bioplina (plin, ki je primarno sestavljen iz metana in ogljikovega dioksida) je posledica povezanih procesnih korakov, pri katerih se prvotna snov stalno deli na manjše enote. V vsakem posameznem koraku sodelujejo specifične skupine mikroorganizmov. Ti organizmi zaporedno razkrajajo proizvode prejšnjih korakov. (Al Seadi, T. et al., 2010)

### 2.1 Hidroliza

Hidroliza je prvi korak v anaerobnem procesu, kjer se kompleksne organske snovi (polimeri) razkrojijo v enostavnejše raztopljene snovi (monomere in oligomere). Polimeri kot so beljakovine, ogljikovi hidrati in lipidi (maščobe) se preoblikujejo v aminokisliline, monosaharide in maščobne kisline. (Arnell et al., 2007, Murphy and Polaficio. 2007, cit. po Vögeli, Y. et al., 2014)



Običajno je hidroliza najpočasnejša reakcija v procesu razgradnje organskih snovi. Hidroliza ogljikovih hidratov poteče v nekaj urah, hidroliza proteinov in maščob pa v nekaj dneh. Lignoceluloza in lignin se razgradita počasi in nepopolno. (Deublein and Steinhauser, 2008)

## 2.2 Acidogeneza

V drugi fazi anaerobnega procesa mikroorganizmi pretvarjajo enostavne sladkorje, aminokislino in maščobne kisline v acetat, vodik in ogljikov dioksid (70%), deloma pa tudi v kratkoverižne maščobne kisline in alkohole (30%). (Al Seadi, T. et al., 2010)

Razgradnja aminokislin privede tudi do nastanka amonijaka. (Vögeli, Y. et al., 2014)

## 2.3 Acetogeneza

Snovi, nastalih v fazi acidogeneze, metanogeni mikroorganizmi ne morejo direktno pretvoriti v metan, zato jih acetogene bakterije najprej oksidirajo v očetno kislino, vodik in ogljikov dioksid. Tako so acetogene bakterije vmesni del, ki iz kratkoverižnih maščobnih kislin in alkoholov proizvajajo substrat za metanogene mikroorganizme. (Lemos Chernicharo, 2007)

Acetogeneza in metanogeneza ponavadi potekata vzporedno, zato morajo organizmi, ki sodelujejo pri obeh procesih, živeti v sožitju. Acetogene bakterije lahko dobijo potrebno energijo za rast in preživetje le pri zelo nizkih koncentracijah vodika, medtem ko metanogene bakterije lahko preživijo le pri visokem delnem tlaku vodika. Zato slednje nenehno odstranjujejo presnovljene snovi acetogenih bakterij in tako ohranjajo nizek nivo delnega tlaka vodika.

Ko je delni tlak vodika nizek, acetogeni mikroorganizmi tvorijo pretežno vodik, ogljikov dioksid in acetat. Če pa je delni tlak vodika višji, nastajajo butanojska, kapronska, propionska ter valerianska kislina in etanol, kar je neugodno, saj metanogeni organizmi lahko proizvedejo le vodik, ogljikov dioksid in acetat. (Deublein and Steinhauser, 2008)

Pri tej reakciji se kemijska potreba po kisiku (KPK) in biokemijska potreba po kisiku (BPK) zmanjšata, pade pa tudi pH. (Bischofsberger et al., 2005, Bekker, 2007, cit. po Vögeli, Y. et al., 2014)

## 2.4 Metanogeneza

Zadnjo fazo anaerobne razgradnje v metan in ogljikov dioksid omogoča bakterija arheja.

Metanogeni mikroorganizmi so razdeljeni v dve skupini:

- Mikroorganizmi, ki porabljajo acetat (iz očetne kisline ali metanola proizvajajo metan): samo nekaj metanogenih vrst je sposobnih pretvoriti acetat v metan, vendar ti

mikroorganizmi kljub temu prevladujejo v anaerobni razgradnji, saj proizvedejo okoli 60 do 70% vsega metana.

- Mikroorganizmi, ki porabljajo vodik (iz vodika in ogljikovega dioksida proizvajajo metan): praktično vse znane metanogene vrste lahko proizvedejo iz vodika in ogljikovega dioksida metan. (Lemos Chernicharo, 2007)

Aktivni metanogeni organizmi se sicer pojavijo že v drugi fazi anaerobne razgradnje (faza acidogeneze), a se število metanogenih arhej očitneje poveča šele v fazi metanogeneze. (Deublein and Steinhauser, 2008)

### 3 PARAMETRI ANAEROBNE DIGESTIJE

Pri vseh bioloških procesih je pomembna nespremenljivost življenjskih razmer. Zaradi temperaturnih sprememb, sprememb vhodnih snovi ali koncentracij substrata lahko pride do zaustavitve nastajanja plina. V kolikor se mora sistem vzpostaviti sam, so za ponoven zagon proizvodnje bioplina in prilagoditev ekološkega sistema na nove razmere potrebni trije ali celo več tednov. V primeru človekovega posredovanja pa pride do ponovne vzpostavitve procesa v največ treh tednih. Postopki mikrobiološke presnove so odvisni od številnih parametrov, zato je za optimalen proces anaerobne presnove potrebno upoštevati številne izmed njih ter jih imeti pod nadzorom. (Deublein and Steinhauser, 2008)

V surovinah za proizvodnjo bioplina so lahko snovi, ki so inhibitorne ali pa toksične za anaerobne mikroorganizme. Inhibicija pomeni poslabšanje ali prenehanje rasti mikroorganizmov, toksičnost pa povzroča njihovo smrt. Mikroorganizmi se do določene mere lahko na inhibitorne snovi prilagodijo (Wellinger, A. et al., 2013), vendar je za to potreben čas (Kolbl et al., 2014).

#### 3.1 Vrsta substrata

Od vrste substrata je odvisna hitrost anaerobne razgradnje. Razgradnja celuloze naprimer poteka zelo počasi. V kolikor ključnega substrata zmanjka, mikroorganizmi prenehajo s presnovo. V takšnem primeru moramo manjkajoče snovi (ogljikove hidrate, maščobe, beljakovine, mineralne snovi in elemente v sledovih) dodati skupaj s substratom. Glede na sestavo substrata lahko vmesni produkti razgradnje nadaljnjo razgradnjo omejujejo ali zavirajo. Tako lahko na primer razgradnja maščob povzroči dvig maščobnih kislin, ki omejujejo nadaljnjo razgradnjo. (Deublein and Steinhauser, 2008)

#### 3.2 Temperatura

Tehnologija anaerobne presnove je izvedljiva pri skoraj vseh klimatskih pogojih, vendar pa delovanje procesa ni zadovoljivo pri temperaturah nižjih od 15°C. (Košmann et al., brez datuma, cit. po Vögeli, Y. et al., 2014)

V hladnih podnebnih razmerah mora biti zato v reaktorju nameščen ogrevalni sistem ali pa mora biti zgrajen večji anaerobni reaktor, da se hidravlični zadrževalni časi povečajo. (Buysman, 2009, cit. po Vögeli, Y. et al., 2014)

Pri optimalni razgradnji se proces lahko odvija v dveh različnih temperaturnih območjih: v mezofilnem in termofilnem območju. Mezofilni mikroorganizmi delujejo v temperaturnem območju med 30 in 40°C (optimalna temperatura 37°C), termofilni organizmi pa med 45 in 60°C (optimalna temperatura 55°C) (Mata - Alvarez, 2003, cit. po Vögeli, Y. et al., 2014).

Večina metanogenih mikroorganizmov je mezofilnih, manjšina je termofilnih. Na splošno je najnižja temperatura, pri kateri mikroorganizmi še lahko rastejo,  $-11^{\circ}\text{C}$ . Mezofilni metanogeni mikroorganizmi so občutljivi na hitre temperaturne spremembe. Občutljivost termofilnih mikroorganizmov pa je še bistveno večja, saj že majhna temperaturna nihanja za  $\pm 2^{\circ}\text{C}$  povzročijo upadanje aktivnosti in posledično tudi do 30% manjšo produkcijo metana. Kisik je manj topen v termofilnem temperaturnem območju, tako da so optimalni anaerobni pogoji obratovanja v takšnih razmerah hitreje doseženi. Za mezofilne mikroorganizme so še posebej kritične temperature v območju od  $40$  do  $45^{\circ}\text{C}$ , zato večina mezofilnih reaktorjev vzdržuje temperaturo med  $35$  in  $40^{\circ}\text{C}$ . (Deublein and Steinhauser, 2008)

Obratovanje anaerobnega reaktorja je bolj stabilno v mezofilnem območju, saj lahko ti mikroorganizmi prenašajo večje spremembe in s tem porabijo manj energije. So pa mezofilni mikroorganizmi počasnejši in potrebujejo daljši zadrževalni čas v reaktorju, da maksimizirajo donos bioplina. Topnost  $\text{CO}_2$  je nižja pri višjih temperaturah, zato je v termofilnem okolju v bioplinu mogoče opaziti za 2 do 4 % višjo koncentracijo  $\text{CO}_2$ . Zaradi potrebnega dodatnega vnosa energije in zaradi slabše stabilnosti procesa je kljub nekaterim prednostim delovanja reaktorja pri termofilnih pogojih tako delovanje manj izvedljivo v državah v razvoju. (Vögeli, Y. et al., 2014)

Mezofilno območje je bolj obvladljivo, a je tu razvoj metanogenih bakterij počasnejši. Posledično je potreben daljši zadrževalni čas v reaktorju (Preglednica 1) (Ivanc, M., Hrast, K., 2005), čeprav je v nekaterih primerih zadrževalni čas lahko tudi 2 do 3 krat krajši. (Kolbl et al., 2016)

Preglednica 1: Povezava med temperaturo in zadrževalnim časom (Pražl, H., cit. po Al Seadi, T. et al., 2010)

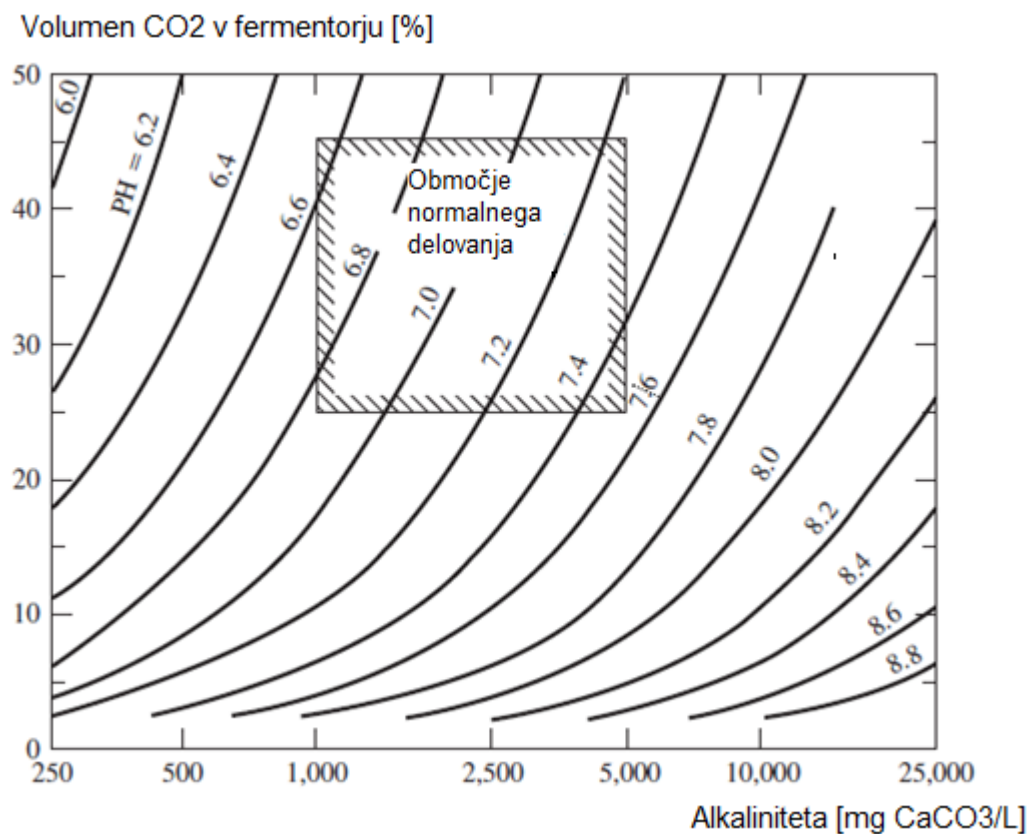
Toplotno območje	Procesne temperature	Minimalen čas zadrževanja
Psihofilno	$< 20^{\circ}\text{C}$	70 do 80 dni
Mezofilno	$30$ do $42^{\circ}\text{C}$	30 do 40 dni
Termofilno	$43$ do $55^{\circ}\text{C}$	15 do 20 dni

### 3.3 Vrednost pH, alkaliniteta in kratkoverižne maščobne kisline

Optimalen pH za anaerobne mikroorganizme je v območju  $6,7 - 7,5$ . V primeru pH vrednosti nižjih od  $6,5$ , produkcija organskih kislin privede do še dodatnega znižanja pH vrednosti, kar lahko povzroči zaustavitev procesa. (Deublein and Steinhauser, 2008)

Procesi hidrolize in acidogeneze potekajo pri kislih pH vrednostih od 5,5 do 6,5, v primerjavi z metanogeno fazo, kjer so pH vrednosti od 6,5 do 8,2. Za dvig pH vrednosti se običajno uporablja apno. Alternativno se lahko uporablja tudi natrijev hidrogenkarbonat. (Vögeli, Y. et al., 2014)

Območje delovanja je odvisno od razmerja med alkaliniteto (v obliki bikarbonatov), pH in ogljikovega dioksida (Slika 2).



Slika 2: Odvisnost vrednosti pH od koncentracije bikarbonatov (Mackenzie, 2010)

Inhibiran in dokončno zaustavljen sistem je posledica naslednjih zaporednih dogodkov:

- povečanje kratkoverižnih maščobnih kislin in nizka alkaliniteta, ki imata za posledico zmanjšanje vrednosti pH,
- zaviranje metanogenih organizmov, ki vodi do zmanjšanja proizvodnje metana.

Alkaliniteta, kratkoverižne maaščobne kisline in analiza plina so pomembni parametri pri oceni delovanja gnilišča. Padanje alkalinitete in povečanje koncentracije kratkoverižnih maščobnih kislin so opozorilni znaki bližajočih se težav.

Merila, ki nas lahko opozarjajo na težave:

- če se koncentracija kratkoverižnih maščobnih kislin razlikuje od koncentracije alkalinitete za več kot 1000 mg/L, obstaja nevarnost padca pH;
  - koncentracije kratkoverižnih maščobnih kislin morajo biti v razponu od 50 do 300 mg/L;
  - alkaliniteta od 500 do 1000 mg/L CaCO<sub>3</sub> pomeni zelo majhno stopnjo varnosti;
  - alkaliniteta od 2500 do 5000 mg / L CaCO<sub>3</sub> zagotavlja veliko stopnjo varnosti.
- (Mackenzie, 2010)

Visoke koncentracije kratkoverižnih maščobnih kislin so pogosto povezane s toksičnostjo in inhibicijo procesa. Velja prepričanje, da do zaviranja procesa pride zaradi zmanjšanja pH vrednosti, ki je posledica kopičenja kratkoverižnih maščobnih kislin. (Ducan and Nigel, 2003)

### 3.4 Kisik O<sub>2</sub>

Metanogeni mikroorganizmi so anaerobni, zato se že pri majhni koncentraciji kisika 0,1 mg/L O<sub>2</sub> začne proces slabšati. Mikroorganizmi kisik izločijo iz nitratom, sulfatom ali karbonatom. Bakterije, v prisotnosti katerih rastejo metanogene bakterije, lahko živijo v prisotnosti ali odsotnosti kisika. Prisoten kisik takoj porabijo in s tem ohranjajo anaerobne pogoje v zaprtih reaktorjih. Majhna količina zraka, ki pride v reaktor zaradi razžvepljevanja bioplina, ne zavira tvorbe metana. (Deublein and Steinhauser, 2008)

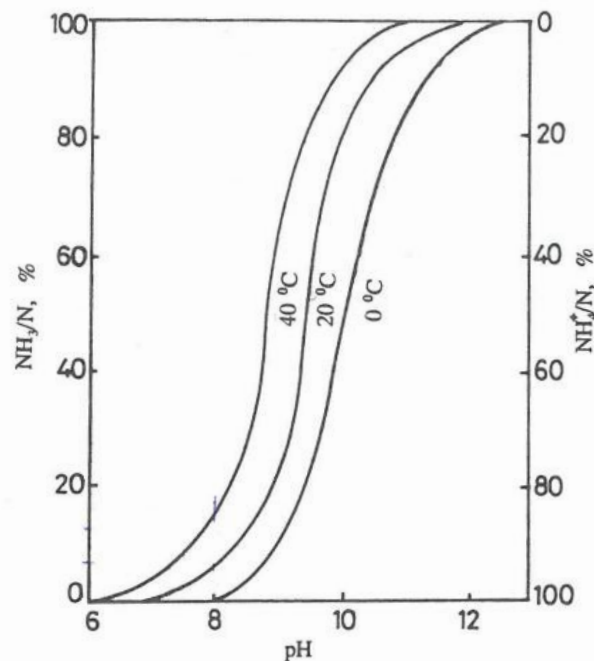
### 3.5 Razmerje ogljik C : dušik N

Razmerje med količino ogljika in dušika v organskih materialih predstavlja C:N razmerje. To razmerje je pomemben parameter pri ocenjevanju pomanjkanja hranil in inhibicije amonijaka. Optimalno C:N razmerje v anaerobnih digestorjih je med 16 in 25. Višje razmerje je pokazatelj hitre porabe dušika metanogenih organizmov, ki ima za posledico nižjo proizvodnjo plina. Po drugi strani pa nizko razmerje pomeni kopičenje amonijaka in takrat pH vrednosti lahko presegajo 8.5. Taki pogoji so lahko toksični za metanogene bakterije. Čeprav se metanogene bakterije lahko prilagodijo na visoke koncentracije amonijaka, se to zgodi le, če se koncentracije postopoma zvišajo. (Vögeli, Y. et al., 2014)

### 3.6 Amonijak NH<sub>3</sub>

Amonijak je produkt anaerobne biološke razgradnje dušikovih spojin. Amonijak tvori amonijeve ione v substratu, njihova vsebnost pa je odvisna od pH vrednosti. Pri večjih koncentracijah amonijaka pride do škodljivih učinkov (toksičnosti), medtem ko je amonijev ion neškodljiv. (Deublein and Steinhauser, 2008)

Zaradi visokega pH, visoke koncentracije kratkoverižnih maščobnih kislin pride do presežka prostega amonijaka, kar ustavi proizvodnjo bioplina. Inhibitorne koncentracije amonijevega dušika so v območju od 1500 do 3000 mg/L pri pH nad 7.4. Pri koncentracijah nad 3000 mg/L je amonijak toksičen pri kateremkoli pH. (Mackenzie, 2010)



Slika 3: Vpiv pH in temperature glede na vsebnosti prostega amonijaka in amonijevega iona (Orhon and Artan, 1994)

Poleg vpliva temperature in pH na inhibicijo amonijaka je pomemben dejavnik tudi prilagoditev mikrobov na visoke koncentracije amonijaka. V praksi surovine z veliko dušika pogosto pomenijo težave za stabilnost procesov v bioplinarnah, še posebej so lahko problematične hitre spremembe koncentracije dušika. Za stabilnost anaerobnega procesa pri visokih koncentracijah amonijaka so predpogoj naslednji parametri: dobra prilagoditev mikroorganizmov, dostopnost elementov v sledovih in nizke do srednje koncentracije vodikovega sulfida. (Wellinger, A. et al., 2013)

### 3.7 Vodikov sulfid H<sub>2</sub>S

Vodikov sulfid nastane pri anaerobni razgradnji iz žvepljenih komponent. Tako kot amonijak je tudi H<sub>2</sub>S inhibitoren. Poleg tega S obori kovinske ione, kar lahko negativno vpliva na elemente v sledovih. Izkušnje so pokazale, da lahko H<sub>2</sub>S postane problematičen že pri nizkih koncentracijah, še posebej v kombinaciji z drugimi inhibitornimi komponentami kot sta amonijak (Chen et al., 2008) ali železo v nizkih koncentracijah. (Wellinger, A. et al., 2013)

Kopičenje raztopljenega vodikovega sulfida v reaktorju med 150 - 200 mg/L negativno vpliva na anaerobni proces, prav tako ima negativen vpliv prisotnost H<sub>2</sub>S v bioplinu na bioplinske motorje. Z uporabo FeCl<sub>2</sub> se odstrani H<sub>2</sub>S, kar vpliva na višje vsebnosti metana v bioplinu. Železo je tako kot hranilo v sledovih za vzdrževanje procesa.

### 3.8 FOS/TAC

Vrednost FOS/TAC predstavlja razmerje med kratkoverižnimi maščobnimi kislinami, merjenimi v mg/L in alkaliniteto, merjeno v mg CaCO<sub>3</sub>/L. Razmerje je že dolgo priznано kot orientacijska vrednost za ocenjevanje anaerobnih procesov, saj omogoča odpravljanje težav že v zgodnji fazi.

Preglednica 2: Vrednotenje delovanja anaerobnega reaktorja glede na vrednosti FOS/TAC (Mezes, L., Biro, G., et. al., 2011)

Vrednosti FOS/TAC	Vzrok	Ukrepi
>0,6	Doziranje biomase je zelo previsoko	Zaustavitev doziranja biomase
0,5 – 0,6	Doziranje biomase je previsoko	Zmanjšamo doziranje biomase
0,4 – 0,5	Reaktor je obremenjen	Bolj pozorno spremljanje
0,3 – 0,4	Maksimalna produkcija bioplina	Vzdržujemo enako doziranje biomase
0,2 – 0,3	Doziranje biomase je premajhno	Počasi povišujemo doziranje biomase
<0,2	Doziranje biomase je zelo premajhno	Hitro povišamo doziranje biomase

### 3.9 Parametri delovanja reaktorja

Volumen reaktorja mora biti prilagojen na količino substrata in stopnjo razgradnje vhodnih snovi. Mikroorganizmi morajo imeti dovolj časa za proces razgradnje, po drugi strani pa koncentracija organske snovi ne sme biti toliko visoka, da bi se mikroorganizmi prenajedali in s tem zavirali proces. Pri zagotavljanju ravnotežja procesa sta uporabljena dva parametra za izračun prostornine reaktorja: organska obremenitev (OLR – Organic Loading Rate) in hidravlični zadrževalni čas (HRT – Hydraulic Retention Time). (Wellinger, A. et al., 2013)

#### 3.9.1 Organska obremenitev

Organska obremenitev je pomemben parameter, ki nakazuje kolikšno količino organske snovi (OS) (angleško volatile solids – VS) lahko doziramo v reaktor. Izražena je v kilogramih



organske snovi na dan, glede na prostornino reaktorja (Wellinger, A. et al., 2013). Organska obremenitev pri čistilnih napravah je lahko izražena tudi kot KPK. (Murovec et al., 2015)

Organska obremenitev je še posebej pomemben parameter v sistemih, kjer predoziranje vodi do precejšnjega povečanja hlapnih maščobnih kislin, ki lahko povzročijo zakisanje in sistemske okvare. Študije anaerobne obdelave bioloških odpadkov v industrializiranih državah so pokazale organsko stopnjo v območju od 4 - 8 kg OS/m<sup>3</sup> reaktorja na dan. Odstranjevanje organske snovi je v območju od 50 - 70%. To je idealno pri reaktorjih, kjer je zagotovljeno stalno mešanje. Za sisteme, kjer ni mešanja, pa je priporočljiva obremenitev 2 kg OS/m<sup>3</sup> reaktorja na dan. (Vögeli, Y. et al., 2014)

Enačba za izračun organske obremenitve:

$$OLR = \frac{Q * S}{V}$$

OLR – Organska obremenitev [kg OS/m<sup>3</sup> reaktorja na dan]

Q – Vtočna količina substrata [m<sup>3</sup>/dan]

S – Koncentracija substrata na dotoku [kg OS/m<sup>3</sup>]

V – Volumen reaktorja [m<sup>3</sup>]

### 3.9.2 Hidravlični zadrževalni čas

Hidravlični zadrževalni čas je časovni interval, ko je substrat v reaktorju. Izračuna se kot razmerje med volumnom reaktorja (aktivno blato) in volumnom dovedenega substrata na dan. (Vögeli, Y. et al., 2014)

$$HRT = \frac{V}{Q}$$

HRT – Hidravlični zadrževalni čas

V – Volumen reaktorja [m<sup>3</sup>]

Q – Volumen dovedenega substrata [m<sup>3</sup>/dan]

HRT se spreminja glede na različne tehnologije, procesno temperaturo in sestavo odpadkov. Priporočen HRT obdelanih odpadkov v mezofilnem območju je od 10 do 40 dni. V termofilnem območju pa so zadrževalni časi nižji za nekaj dni (Verma, 2002, cit. po Vögeli, Y. et al., 2014).

### 3.10 Študije razgradnje olja v anaerobnem procesu in produkcija bioplina

Študija odpadkov bogatih z maščobami je ob najnižji organski obremenitvi 0,86 g VS/ L inokuluma pokazala v primerjavi s kontrolo povečanje skupne produkcije bioplina za 55 %, povečano produkcijo CH<sub>4</sub> v bioplinu za 113% in povečano razmerje med CH<sub>4</sub> in bioplinom za 38 %. (Shannon, C. T. 2016)

V študiji biorazgradljivosti maščob, olja in masti je bila pričakovana teoretična produkcija bioplina 890 mL bioplina/g VS, ter biometanski potencial 670 mL CH<sub>4</sub>/g OS, kar predstavlja 75% metana v bioplinu. Eksperiment je izveden pri različnih razmerjih inokuluma in substrata od 0,2 do 0,4 (razmerje 1 predstavlja 160 mL inokuluma in 2 g substrata). Ugotovljeno je bilo tudi, da z dodajanjem večjih količin substratov pride do kasnejše produkcije metana. S tem se celoten postopek presnove podaljša. Po 60 dneh eksperimenta je bil zabeležen največji biometanski potencial 741 mL CH<sub>4</sub>/g OS pri razmerju 1,0, bioplin pa je vseboval 89% metana. Pri višjem razmerju substrata in inokuluma 2,0, ter 4,0 je biometanski potencial 250,2 mL CH<sub>4</sub>/g OS in delež metana v bioplinu nižji od 60%. (Nzataitulshila, R. et al., 2015)

#### 4 CENTRALNA ČISTILNA NAPRAVA DOMŽALE – KAMNIK

Centralna čistilna naprava Domžale – Kamnik (CČN Domžale – Kamnik) je klasična mehanska dvostopenjska biološka čistilna naprava z anaerobno stabilizacijo blata in uporabo bioplina za proizvodnjo električne in toplotne energije. Čisti komunalne in druge odpadne vode s področja občin Domžale, Kamnik, Mengeš, Komenda ter Trzin, čiščena voda pa se izteka v Kamniško Bistrico. Postopki za čiščenje odpadne vode si sledijo v naslednjem vrstnem redu: predčiščenje, primarno čiščenje in sekundarno čiščenje. Na CČN Domžale – Kamnik trenutno še nimajo terciarne stopnje čiščenja (Priloga 1 – shema čistilne naprave), vendar je objekt že v izgradnji. Nadgradnja vključuje dodatne procese za čiščenje dušika in fosforja ter sprejem večje količine odpadne vode na dotoku.



Slika 4: Pogled na CČN Domžale - Kamnik iz zraka

##### AEROBNI DEL

Na CČN Domžale-Kamnik priteka voda iz gospodinjstev, industrij in tuje vode. Tu se najprej odstranijo delci na grobih (delci večji od 15 mm) in finih grabljah (delci večji od 3 mm). Delci, ki niso bili odstranjeni na grabljah se posedejo v peskolovu in odstranijo. Hkrati se odstranijo tudi maščobe, katere se dvignejo na površino in posnamejo s strgalom. V primarnem usedalniku se usedejo delci večji od 1 mm. Usedlino imenujemo primarno blato, ki ga s talnimi strgali odstranimo v zgoščevalce blata. Preostala voda odteče naprej do sekundarne stopnje čiščenja. V aeracijskih bazenih se z dovajanjem zraka ustvarijo aerobni pogoji in tako se s pomočjo mikrobne združbe (t. i. aktivno blato) odstrani večji del organskih snovi. V nakasnih usedalnikih se aktivno blato usede in čiščena voda odteče v Kamniško Bistrico.

Usedeno blato, imenovano tudi sekundarno blato, se odvede nazaj v aeracijski bazen, višek pa se skupaj s primarnim blatom predela v anaerobni stopnji čiščenja.

#### ANAEROBNI DEL

Anaerobno stopnjo čiščenja sestavljajo štiri gnilišča, v katere se dovaja surovo blato, torej mešanica primarnega blata in sekundarnega blata. Zadrževalni čas blata je 45 dni v mezofilnem območju, torej pri 40°C. Blato v tem času delno pregnije do bioplina, ostali del blata se centrifugira in odpelje na uničenje. Bioplin, ki ga sestavljajo metan (65%), ogljikov dioksid (35%), vodikov sulfid, kisik in ostali plini v sledovih, se uporabi na bioplinskih motorjih za proizvodnjo električne in toplotne energije. V letu 2015 je bilo iz bioplina proizvedene toliko energije, da je zadostila 96% celotne lastne porabe električne energije.

Preglednica 3: Sestava bioplina anaerobnih reaktorjev na CČN Domžale-Kamnik

Parameter	Datum	6.11.2015	11.11.2015	16.11.2015	20.11.2015	25.11.2015
<b>CH<sub>4</sub> [%]</b>		66,4	68,0	67,4	65,6	66,7
<b>CO<sub>2</sub> [%]</b>		33,3	33,4	32,6	33,2	36,0
<b>H<sub>2</sub>S [ppm]</b>		91,0	93,0	28,0	31,0	41,0
<b>O<sub>2</sub> [%]</b>		0,3	0,3	0,3	0,2	0,2



$$OLR = \frac{Q * S}{V} = \frac{174 * \left(\frac{7416}{174}\right)}{7200} = 1,03 \frac{kg OS}{m^3 reaktorja na dan}$$

$$HRT = \frac{V}{Q} = \frac{7200}{174} = 41,4 dni$$

Območje organske obremenitve, kot jo kažejo študije, se giblje med 4 do 8 kg OS/m<sup>3</sup> dan, iz zgornjih izračunov pa opazimo, da je na CČN Domžale –Kamnik kar nekajkrat nižja organska obremenitev (1,03 kg OS/m<sup>3</sup> dan). Izračun hidravličnega zadrževalnega časa je pokazal 41 dnevno zadrževanje.

## 5 MATERIALI IN METODE

### 5.1 Inokulum in substrati

Osnovni materiali za poskuse so bili inokulum, kot substrat smo uporabili surovo blato ter odpadno jedilno olje. V poskusih smo inokulumu kot substrat dodajali surovo blato, odpadno jedilno olje ali pa kombinacijo obeh.

Inokulum je blato iz anaerobnega gnilišča CČN Domžale-Kamnik.

Surovo blato, uporabljeno v poskusih, je mešanica primarnega in sekundarnega blata iz CČN Domžale-Kamnik.

Opadno jedilno olje je kuhinjski odpadek, ki se uvršča med ločeno zbrane frakcije komunalnih odpadkov s klasifikacijsko številko 20 01 25. Odpadek je prepovedano mešati z ostalimi odpadki ter odvajati v kanalizacijo ali greznice.



Slika 5: Maščoba v kanalizacijskem omrežju

### 5.2 Meritev metanskega potenciala z AMPTS II

Test biometanskega potenciala (BMP) predstavlja vrednost maksimalne količine metana, proizvedenega na gram organske snovi. S testom BMP izmerimo količino nastalega metana ali bioplina iz znane količine odpadkov v šaržnih sistemih pri anaerobnih pogojih. Izvedba testa BMP je preprosta, saj organski substrat zmešamo z anaerobnim inokulumom.

Sproščen plin določimo s posebno metodo merjenja. (Esposito, G. 2012, Kolbl et al., 2014)

Za ko-presnovo odpadnega jedilnega olja v različnih kombinacijah s surovim blatom smo uporabili napravo AMPTS II (Automatic Methane Potential Test System). Naprava je bila razvita za odčitavanje majhnih volumnov bioplina, proizvedenega iz anaerobne presnove biološko razgradljivega substrata. Merilni pristopi so podobni kot pri ostalih testih biometanskega potenciala, zaradi česar so rezultati povsem primerljivi. Analiza in beleženje rezultatov pa sta pri AMPTS II povsem avtomatična, kar poenostavi in skrajša proces analiziranja. AMPTS II lahko razdelimo na tri enote. Prva enota vključuje 15 steklenic s prostornino 500 mL, v katere doziramo manjše količine anaerobnega inokuluma. Vsaka steklenica je opremljena s počasi vrtečim mešalom in gumijastim tesnilom. Potopljene so v termo regulirano vodno kopel, kar omogoča vzdrževanje temperaturnega območja. Druga enota vključuje 15 stekleničk s prostornino 100 mL. Nastali bioplin iz prve enote prehaja v drugo enoto preko cevke. Tu se s pomočjo alkalne raztopine (NaOH) ujame  $\text{CO}_2$  in  $\text{H}_2\text{S}$ , tako da do zadnje enote prehaja le  $\text{CH}_4$ . V tretji enoti se meri volumen metana vsake stekleničke po principu izpodrivanja tekočine in vzgona. (Bioprocess Control, 2014)



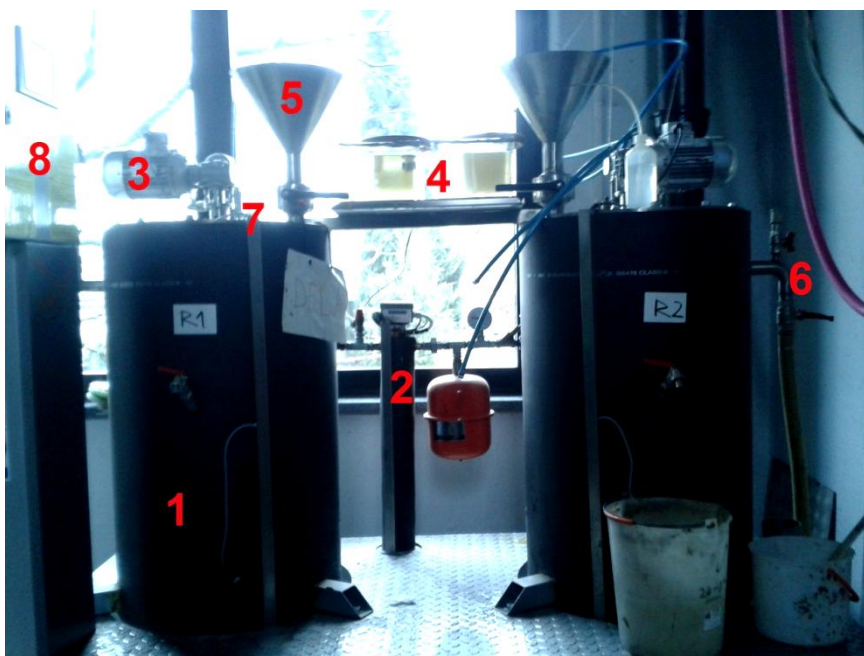
Slika 6: Merilna naprava AMPTS II za določanje BMP

### 5.3 Meritev bioplinskega potenciala na pilotnem reaktorju

Pilotna reaktorja (Talisman) sta reaktorja s popolnim premešanjem, ki ga omogoča elektromotor, vendar pa njegove hitrosti ni mogoče regulirati. Prostornina vsakega reaktorja je 197 L, od tega je 170 L delovnega volumna. Zunanost reaktorja je obdana z izolacijskim materialom in napravo za vzdrževanje in uravnavanje temperature. Sam reaktor je izdelan iz



nerjavečega jekla. Na zgornjem delu reaktorja najdemo dozirni lijak, ki omogoča dodajanje substrata tudi med njegovim delovanjem. V primeru prevelike količine doziranega substrata se preko prelivnega ventila nivo inokuluma zniža. Nastali plin v reaktorju preko cevke prehaja v merilec pretoka plina, ki deluje po principu vzgona plina v vodnem mediju. Tu se nahaja posoda z dvema prekatoma prostornine 100 mL. Prekat poln bioplina se prevrne in izprazni, kar se zabeleži v nadzornem sistemu ob reaktorju. Takrat se začne polniti drugi prekat. (Mlakar, 2014)



Slika 7: Pilotni reaktor z označenimi deli naprave

Legenda:

- 1 – reaktor
- 2 – grelec
- 3 – elektromotor za mešalo
- 4 – merilec plina
- 5 – lijak za doziranje
- 6 – prelivni ventil
- 7 – temperaturni senzor
- 8 – nadzorna plošča

## 5.4 Meritve

### 5.4.1 pH

Vrednost pH predstavlja stopnjo kislosti ali bazičnosti. V vzorec smo dali pH meter in odčitali vrednost.

### 5.4.2 KPK

Kemijska potreba po kisiku (KPK) je definirana s količino kisika, ki je ob določenih pogojih in v določeni opazovalni dobi potrebna za razkroj primesi. Za določanje vrednosti KPK smo uporabili metodo LCK 514, proizvajalca Hach Lange. Priprava vzorcev je bila različna, saj za določitev KPK vzorcev ni bilo potrebno filtrirati, za razliko od določitve topnega KPK, kjer smo centrifugirane vzorce morali filtrirati skozi filter s porami v velikosti 0,45  $\mu\text{m}$ . Zaradi pričakovanih vrednosti smo vzorce redčili, saj so testi določljivi le v območju 100 – 2000 mg/L  $\text{O}_2$ . Vrednost KPK predstavljajo snovi, ki se oksidirajo s kalijevim dikromatom. Pri testu so prisotne še žveplene kisline ter srebrov in živosrebni sulfat. Kivete smo dobro premešali, vanje dodali 2 mL vzorca ter jih postavili v grelno aparaturo HT 200S na 170°C za 15 min. Ohlajene na sobno temperaturo smo nato vstavili v spektrofotometer in odčitali rezultat.



Slika 8: Spektrofotometer in kivete za merjenje parametrov, kot so KPK, amonijev dušik, fosfor

### 5.4.3 Alkaliniteta

Za merjenje alkalinitete smo vzorce najprej centrifugirali 10 min na 5000 obratov/min. 5 mL vzorca smo dozirali v čašo in ga razredčili s 95 mL destilirane vode. Alkaliniteto smo določili s potenciometrično titracijo do pH 4,5, katera zajema hidrokside, hidrogenkarbonate in

karbonate v vodi. Višja kot je alkaliniteta, višja je puferska kapaciteta. Za titracijo se uporablja žveplena kislina ( $H_2SO_4$ ). V čašo smo dodali še magnetno mešalo ter vstavili pH meter.

Titrimna enota 785 DMP (Metrohm) izračuna alkaliniteto v mg  $CaCO_3/L$ .

#### **5.4.4 Kratkoverižne maščobne kisline**

Kivete, ki smo jih uporabili za določitev kratkoverižnih maščobnih kislin so LCK 365. Vzorce smo centrifugirali in filtrirali skozi filter z velikostjo por 0,45  $\mu m$ . Razredčevanje je bilo potrebno, kadar so vrednosti presegle območje meritve, ki je od 50 do 2500 mg/L. V kivete smo dodali priloženo tekočino A in 4 mL vzorca ter jih postavili v grelni aparat LT 100 (Hach Lange GMBH) na 100°C za 10 min. V ohlajene vzorce smo dodali tekočino B, C in D. Po 3 minutah smo s pomočjo spektrofotometra odčitali rezultat.

#### **5.4.5 Amonijev dušik**

Amonijev dušik smo merili s kivetnimi testi LCK 302, ki imajo območje meritve od 47 do 130 mg/L  $NH_4 - N$ . Centrifugirane in filtrirane vzorce smo morali redčiti. Iz pokrovčka kivet smo odstranili zaščitno folijo in v kivete dodali 0,2 mL vzorca. Pokrovček smo iz zgornje strani navili nazaj na kiveto in dobro pretresli vsebino. Po 15 minutah smo kivete vstavili v spektrofotometer in odčitali rezultat.

#### **5.4.6 Kjeldahlov dušik**

Kjeldahlov dušik se ugotavlja po enakem postopku kot organski dušik, vendar s to razliko, da se pred pričetkom analize amonijaka ne odstrani. Kjeldahlov dušik je vsota organskega dušika in amonijevega dušika. Metoda za določitev Kjeldahlovega dušika pretvori ves organski dušik v amonijevega. Vzorec se razklopi pri 400°C ob prisotnosti katalizatorja in žveplene kisline. V bazični raztopini se parno destilira v titracijsko posodo z borovo kislino in titrira do pH 4,65. Vzorce smo nato prenesli v avtomatično titrimno enoto 785 DMP, kjer se s titracijo določi dušik.

#### **5.4.7 Suha in organska snov**

Za določitev suhe snovi (SS) in organske snovi (OS) smo potrebovali keramične žarilne lončke. Slednje smo oštevilčili in jih posušili v sušilniku, ohladili v eksikatorju ter jih stehali. S pomočjo merilnega valja smo nato odmerili 50 mL vzorca in prelili v žarilne lončke. Valj smo dobro sprali z destilirano vodo. Žarilne lončke smo postavili v sušilnik na 105°C za 24 ur. Naslednji dan smo jih postavili v eksikator in ohlajene stehali. Suho snov smo določili po spodnji enačbi.

$$SS = \frac{m_s - m_p}{V}$$

SS – suha snov [g/L]

$m_s$  – masa žarilnega lončka in vzorca po sušenju [g]

$m_p$  – masa žarilnega lončka [g]

V – volumen [L]

Za določitev organske snovi smo lončke s suho snovjo žarili v žarilni peči na 600°C za 6 ur. Lončke smo nato postavili v eksikator, da so se ohladili ter jih stehali.

$$\text{žarina [g/L]} = \frac{m_{\text{ž}} - m_p}{V}$$

$m_{\text{ž}}$  – masa lončka in vzorca po žarenju [g]

Kvocien med žarino in suho snovjo predstavlja anorganski del. Torej moramo za izračun organske snovi v suhi snovi od 1 odšteti dobljeni rezultat.

$$OS (\% SS) = 1 - \frac{\text{žarina}}{SS}$$

OS – organska snov [%]



Slika 9: Vzorec po sušenju iz reaktorja 1 (levo) in iz reaktorja 2 (desno)

## 6 EKSPERIMENTALNI DEL

### 6.1 EKSPERIMENT 1: Test uporabe surovega blata, odpadnega jedilnega olja in njihovih kombinacij za pridobivanje bioplina na šaržnem AMPTS II

#### HIPOTEZA

H0: S kombinacijo substratov ne izboljšamo produkcije metana.

H1: S kombinacijo substratov izboljšamo produkcijo metana.

#### POSTOPEK ANALIZE

V 500 mL stekleničke smo dozirali 400 mL inokuluma, ki smo ga predhodno en teden termostatalirali pri 40°C. Za slepi vzorec smo uporabili 3 reaktorje, 2 pa za kontrolo, kjer je bila uporabljena glukoza. V ostale reaktorje smo dodali surovo blato, odpadno jedilno olje ali pa kombinacijo obeh v različnih razmerjih. Doziranje je preračunano na obremenitev 0,79 g OS/L inokuluma na šaržo (Preglednica 6).

Preglednica 6: Lastnosti en teden termostatiranega inokuluma

pH	KPK [mg/L]	Sušina [g/L]	Organska snov [%]	Alkaliniteta [mg CaCO <sub>3</sub> /L]	HMK [mg/L]	Amonijev dušik [mg/L]	Celotni fosfor [mg/L]
7,4	23850	24,7	60,6	3167	93	663	463

Preglednica 7: Lastnosti vhodnih substratov

Parameter	Substrat	Surovo blato	Odpadno jedilno olje
KPK [g/L]		54,4	2301,6
Sušina [mg/L]		41	905

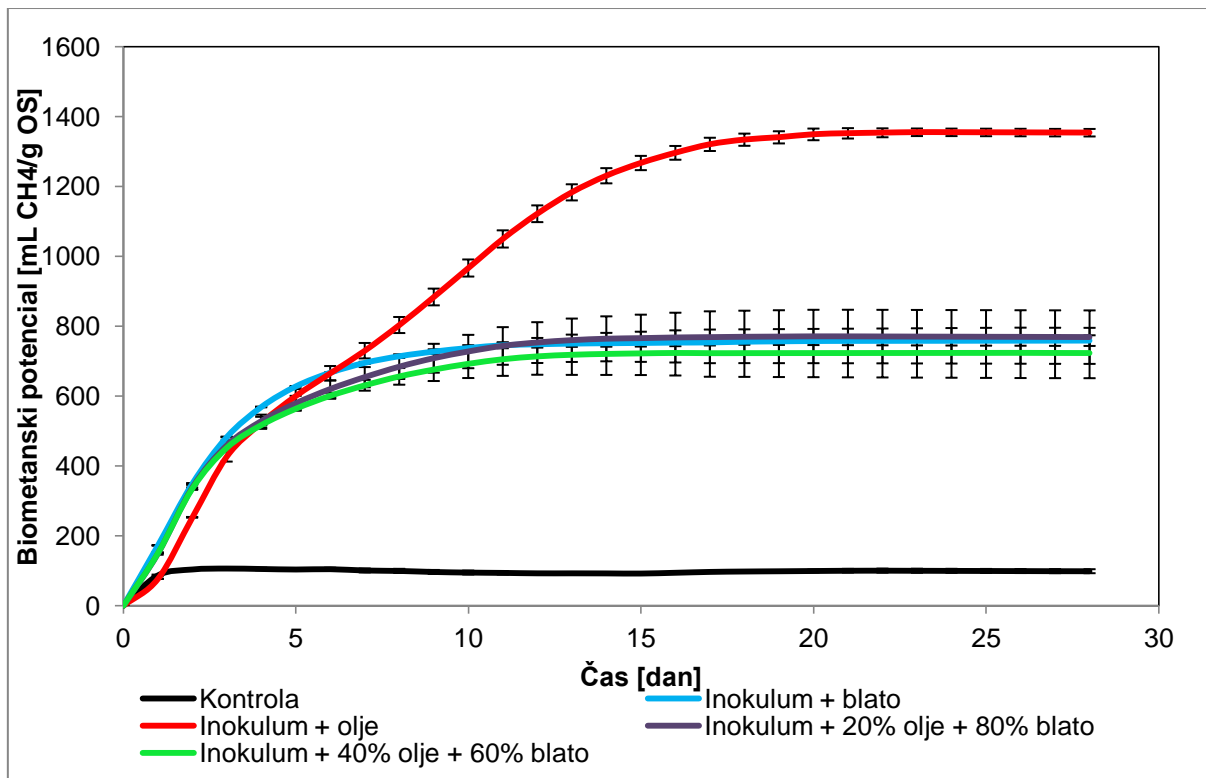
Preglednica 8: Razmerje in doziranje substratov pri eksperimentu 1

Številka reaktorja	Vzorec	Inokulum [mL]	Glukoza [g]	Surovo blato [mL]	Jedilno olje [mL]
1	Slepa	400			
2	Slepa	400			
3	Slepa	400			
4	Standard	400	24		
5	Standard	400	24		
6	Inokulum+blato	400		30,8	
7	Inokulum+blato	400		30,8	
8	Inokulum+olje	400			1,4
9	Inokulum+olje	400			1,4
10	Inokulum+20%olje+80%blato	400		24,7	0,3
11	Inokulum+20%olje+80%blato	400		24,7	0,3
12	Inokulum+20%olje+80%blato	400		24,7	0,3
13	Inokulum+40%olje+60%blato	400		18,5	0,6
14	Inokulum+40%olje+60%blato	400		18,5	0,6
15	Inokulum+40%olje+60%blato	400		18,5	0,6

Reaktorje smo sestavili po navodilih proizvajalca, jih prepihali z dušikom in sistem zagnali. Termostatsko kopel za uravnavanje temperature reaktorjev smo nastavili na 40°C. Mešanje je potekalo eno minuto z dvominutnimi premori. Po 34 dnevih smo pridobili podatke o dnevni produkciji metana.

## REZULTATI

Grafikon 1: Biometanski potencial določen na šaržni AMPTS II



Grafikon 1 prikazuje produkcijo metana glede na organsko obremenitev. Večji del metana je nastal v prvih dneh eksperimenta, z izjemo olja. Tu je večji del metana nastajal do prve polovice poskusa in je imel tudi največji biometanski potencial 1354 mL CH<sub>4</sub>/g OS. Za okrog 45% manj metana je nastalo pri blatu, ter pri kombinacijah blata in olja.

Preglednica 9: Lastnosti pregnitega blata po šaržnem poskusu

Vzorec	pH	KPK	Sušina [g/L]	Organska snov [%]
Slepa	7,8	21610	25	58
Standard	7,7	21830	25	57
Inokulum+blato	7,7	21155	24	54
Inokulum+olje	7,7	22255	24	57
Inokulum+20%olje+80%blato	7,7	22820	24	57
Inokulum+40%olje+60%blato	7,7	24007	24	59

Parametri, kjer smo dodali samo olje so v enakem območju kot pri ostalih vzorcih (Preglednica 7).

## SKLEP

Glede na izmerjene vrednosti metanskega potenciala s kombinacijo substratov ne izboljšamo produkcije metana, torej lahko potrdimo ničelno hipotezo. Pri kombinaciji surovega blata in odpadnega jedilnega olja je produkcija metana v enakem območju kot pri blatu. V primeru, ko smo dozirali samo olje, pa je bil metanski potencial bistveno večji. Da bi se prepričali, če nastane več metana pri dodajanju olja kot pri dodajanju surovega blata, smo poskus opravili še na pilotni napravi.

## 6.2 EKSPERIMENT 2: Test uporabe surovega blata in odpadnega jedilnega olja za pridobivanje bioplina na semi-kontinuirni pilotni napravi

### HIPOTEZA

H0: Produkcija bioplina pri preobremenitvi začne upadati.

H1: Produkcija bioplina pri preobremenitvi ne začne upadati.

### POSTOPEK ANALIZE

Testna snov v eksperimentu 2 je bilo odpadno jedilno olje. V kontrolni reaktor smo dodali inokulum in surovo blato, v eksperimentalni reaktor pa inokulum in odpadno jedilno olje.

V vsako pilotno napravo smo dozirali 170 L inokuluma iz gnilišča CČN Domžale – Kamnik. V reaktor 1 (R1) smo preko lijaka dodajali surovo blato, z dnevno obremenitvijo 3,2 g OS/L inokuluma. Odpadno jedilno olje smo dodajali v reaktor 2 (R2) z različnimi obremenitvami (Preglednica 8). Prvi teden smo reaktor obremenjevali enako kot R1, vendar se je stanje v reaktorju začelo slabšati. Vrednost pH je padala, KRATKOVERIŽNE MAŠČOBNE KISLINE so naraščale, prav tako razmerje FOS/TAC (razmerje med hlapnimi maščobnimi kislinami in alkaliteto). Da ne bi prišlo do inhibicije, smo v naslednjih dveh tednih zmanjšali obremenitev za 50%, to je 1,6 g OS/L. V četrtem tednu smo dodajanje olja povečali na 75% obremenitve (2,4 g OS/L), peti teden pa smo dosegli 100% obremenitev (3,2 g OS/L).

Preglednica 10: Obremenitev reaktorja po tednih

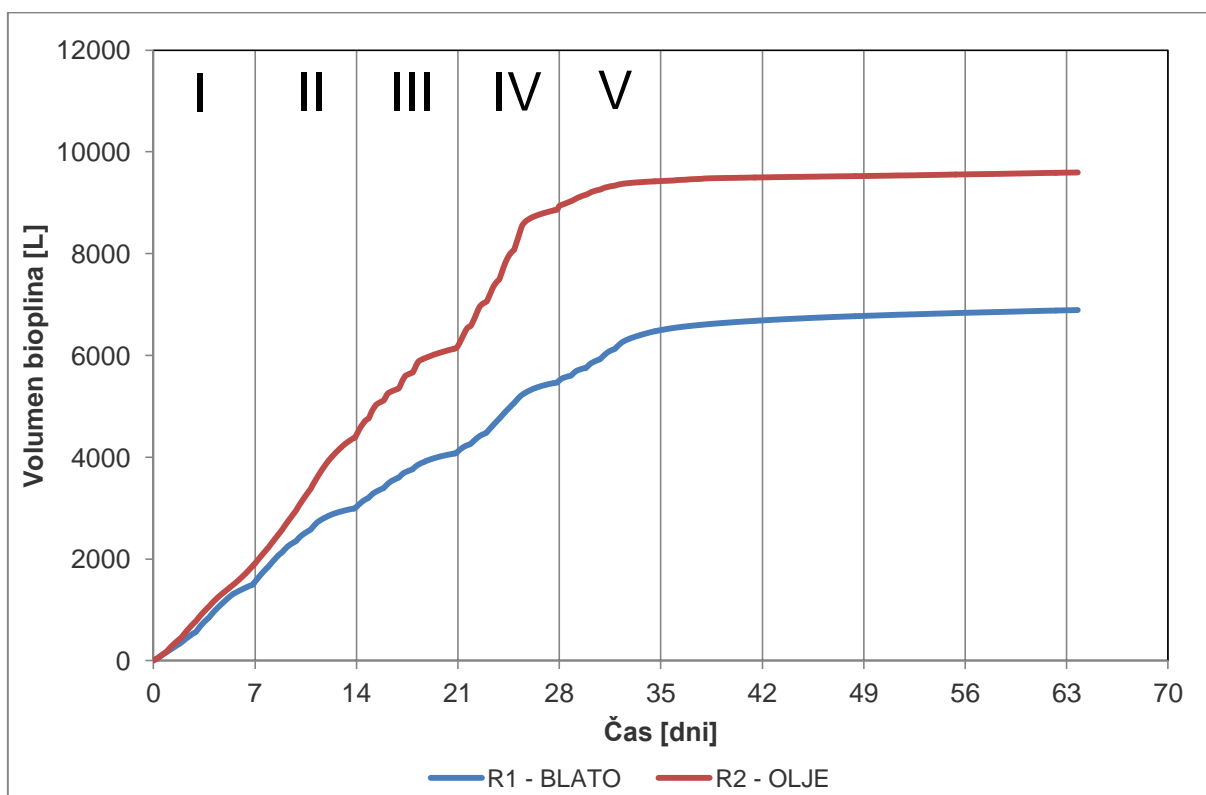
Oznaka	Teden	Obremenitev [gOS/L dan]	
		R1	R2
I	1	3,2	3,2
II	2	3,2	1,6
III	3	3,2	1,6
IV	4	3,2	2,4
V	5	3,2	3,2



Pred vsakodnevnim dodajanjem substratov v reaktor smo vzeli vzorec iz kontrolnega in eksperimentalnega reaktorja ter naredili analize. Vzorcju smo izmerili pH vrednost, topni KPK, kratkoverižne maščobne kisline, alkaliniteto ter sušino in žarino.

## REZULTATI

Grafikon 2: Produkcija bioplina na semi-kontinuirni napravi



Preglednica 11: Delež metana v bioplinu 31. dan eksperimenta

Oznaka vzorca	Delež metana v bioplinu [%]
R1	63,9
R2	38,1

Analiza bioplina je bila izvedena 31. dan eksperimenta, ko je bila dnevna produkcija bioplina že nižja. V tem dnevu so bile izmerjeni naslednji parametri:

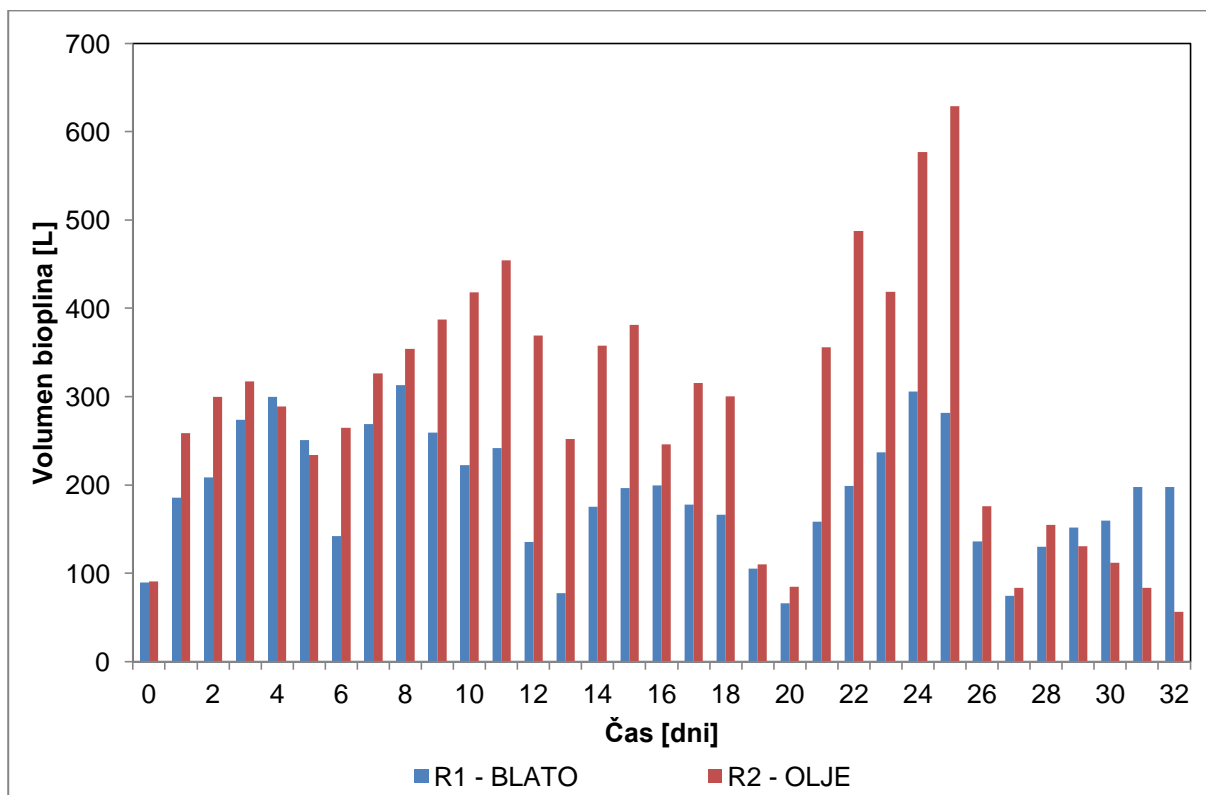
### KONTROLNI REAKTOR (R1)

- pH = 7,4
- Topni KPK = 449 mg/L
- Kratkoverižne maščobne kisline = 92 mg/L
- Alkaliniteta 3298 mg CaCO<sub>3</sub>/L

### EKSPERIMENTALNI REAKTOR (R2)

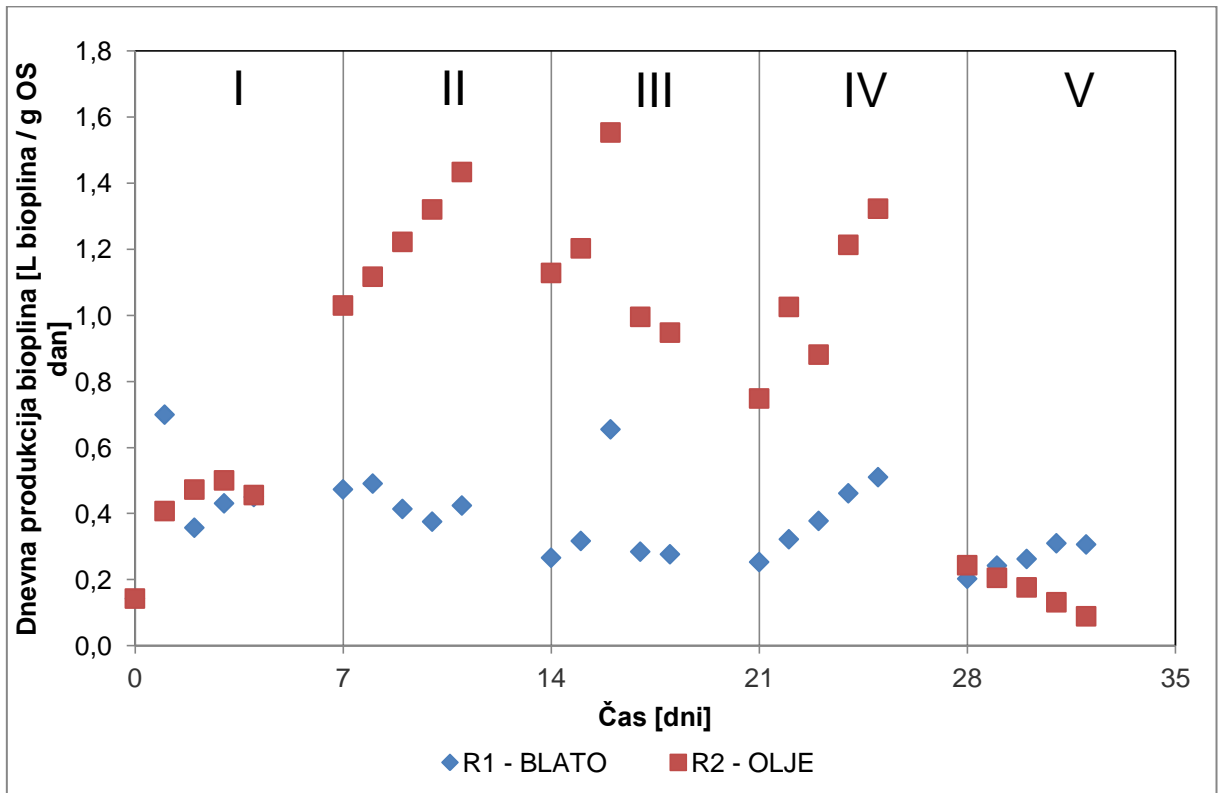
- pH = 6,8
- Topni KPK = 3030 mg/L
- Kratkoverižne maščobne kisline = 1558 mg/L
- Alkaliniteta 2020 mg CaCO<sub>3</sub>/L

Grafikon 3: Dnevna produkcija bioplina

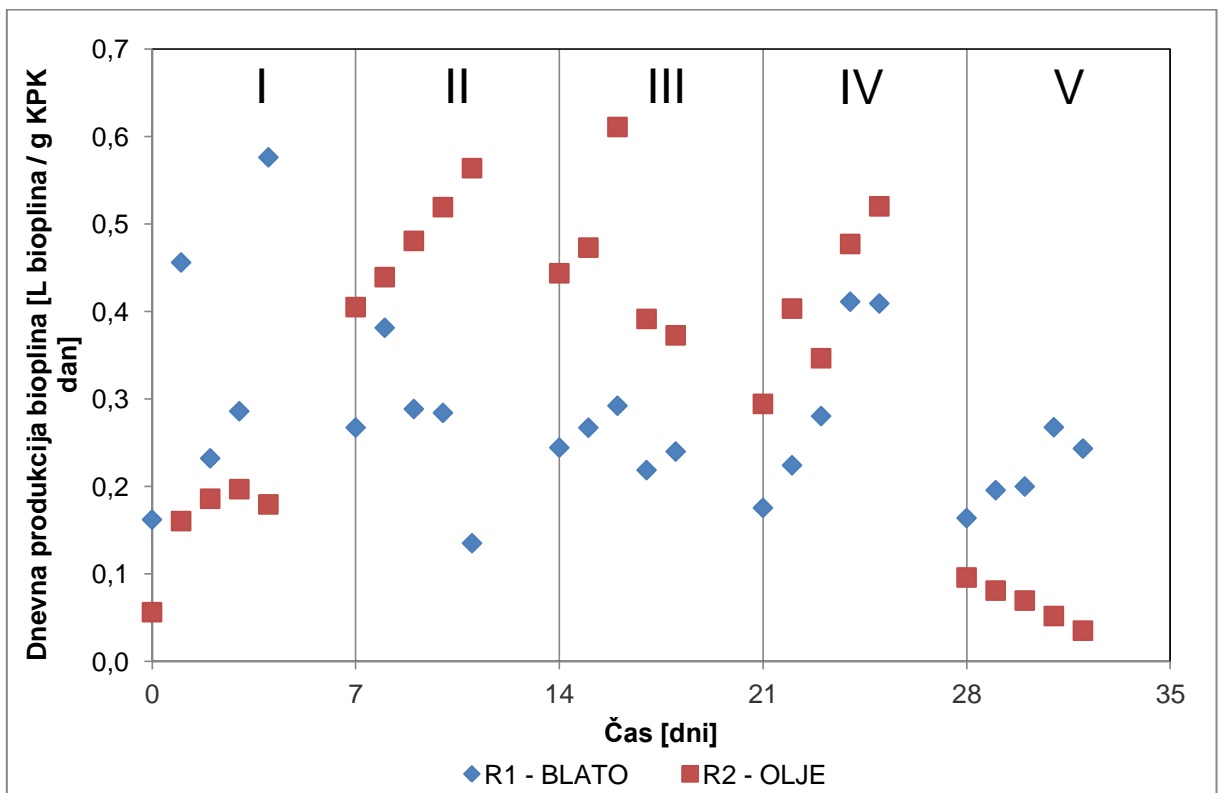


Iz grafikona 3 je razvidno, da je dnevna produkcija plina pri olju velikokrat večja kot pri kontrolnem reaktorju. Največja dnevna količina plina je nastala v R2, kar 630 L/dan (pri obremenitvi 2,4 g OS/L dan), medtem ko je bila v R1 največja dnevna količina 310 L/dan. Na grafikonu se vidi tudi, da je bilo doziranje dva dneva v tednu prekinjeno, saj je produkcija v tem času upadla. V prvem in zadnjem tednu je bila produkcija v R1 celo višja kot v R2.

Grafikon 4: Dnevna produkcija bioplina glede na dozirano organsko snov

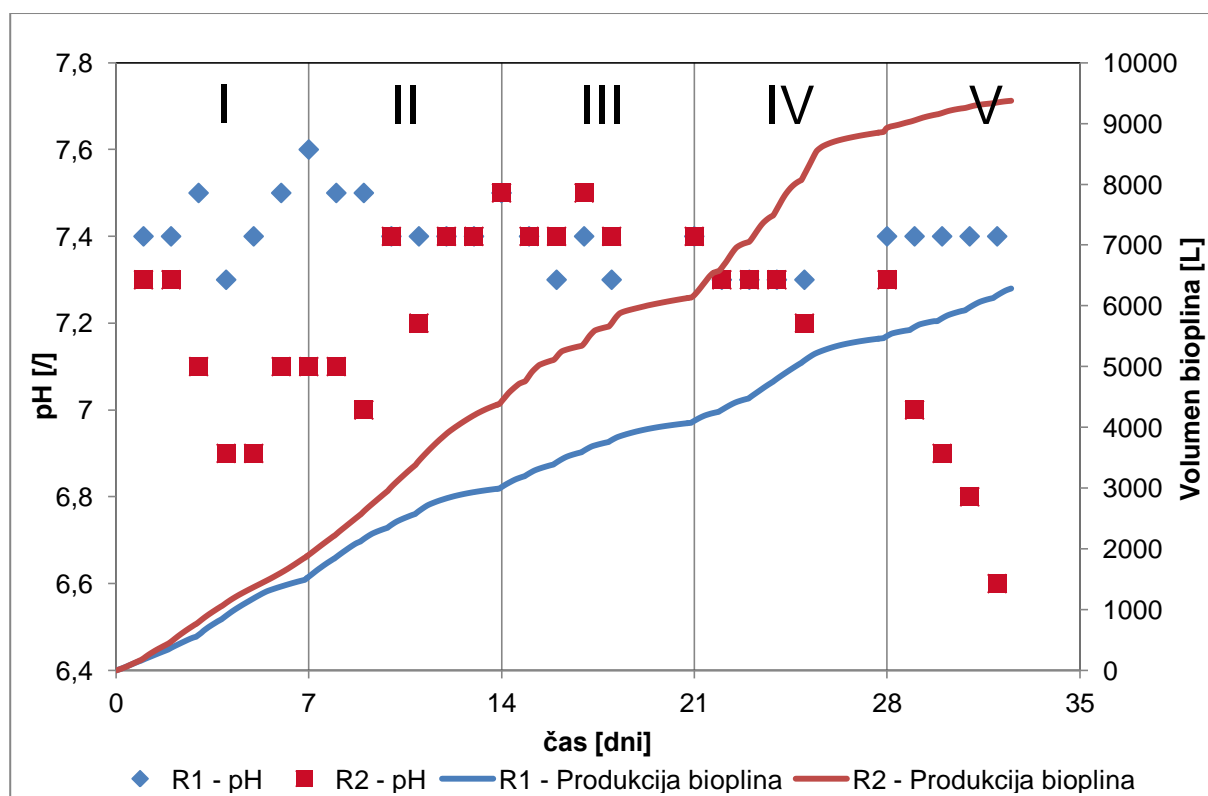


Grafikon 5: Dnevna produkcija bioplina glede na doziran KPK

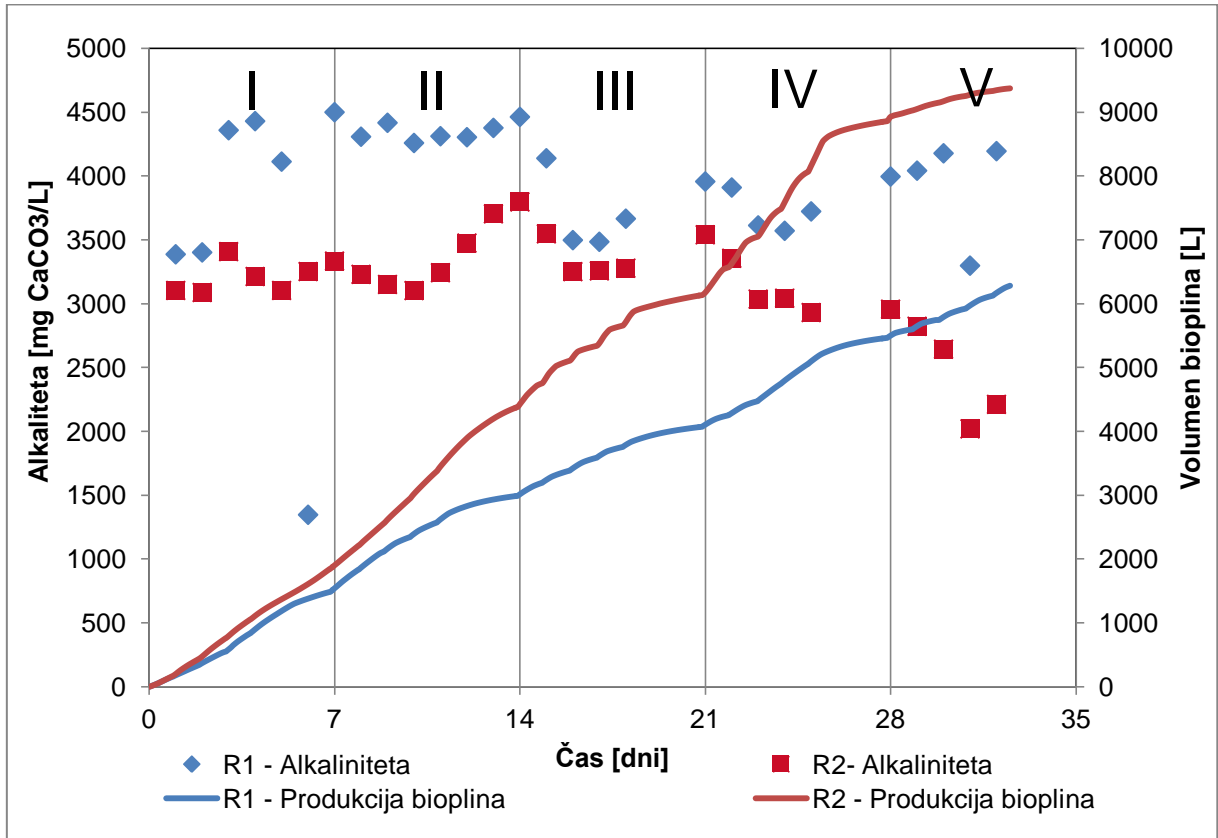


Opazimo, da je dnevna produkcija bioplina glede na doziran KPK prvi teden v R2 manjša kot v R1 (Grafikon 5). Iz tega lahko sklepamo, da je prišlo do preobremenitve reaktorja. Padel je tudi pH, povišale so se kratkoverižne maščobne kisline in naraslo je razmerje FOS/TAC. Od 7. do 27. dneva je v R2 dnevna produkcija glede na organsko obremenitev višja kot pri kontrolnem reaktorju. V tem času je bila vrednost pH znotraj optimalnega območja za anaerobne organizme (Grafikon 6), tudi koncentracija kratkoverižnih maščobnih kislin se je stabilizirala pod 500 mg/L. Razmerje FOS/TAC nakazuje, da je po 11 dnevih delovanja to razmerje prešlo iz preobremenjenega območja (od začetka eksperimenta do 11. dne je bilo to razmerje nad 0,6 (Grafikon 10)) v podobremenjeno območje (pod 0,1). Za območje pod 0,2 je značilno, da je podobremenjeno (Kolbl et al., 2016), vendar sistem še vseeno deluje stabilno. Ob povečani organski obremenitvi z oljem v R2 (od 28. dne naprej) je prišlo do kopičenja kratkoverižnih maščobnih kislin, posledično do upada pH, padca alkalitete, dviga razmerja FOS/TAC, slabše organske razgradljivosti (povečana vsebnost organske snovi in KPK na iztoku), večje koncentracije CO<sub>2</sub> v bioplínu in zmanjšanja produkcije metana (Preglednica 9). Vsi parametri skupaj potrjujejo organsko preobremenitev v R2 zadnjih 7 dni.

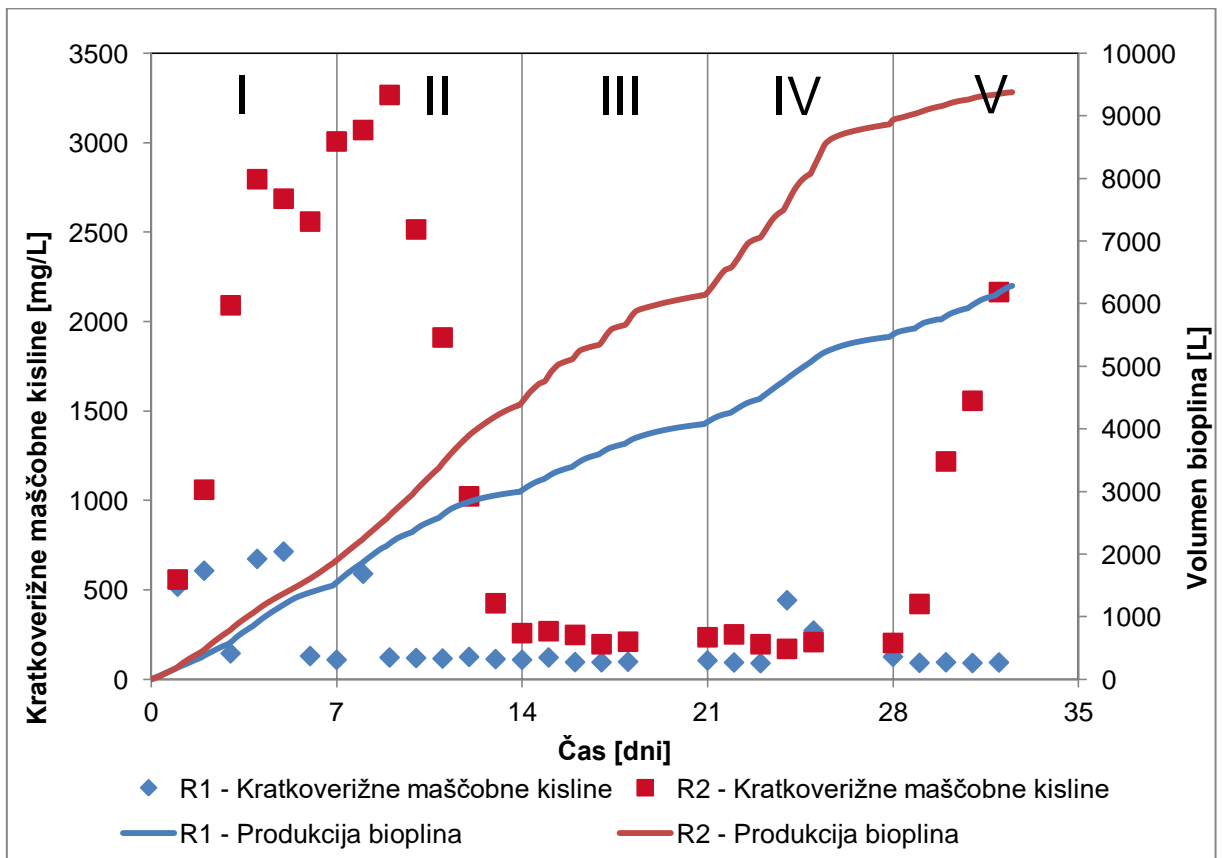
Grafikon 6: Dnevne vrednosti pH in produkcija bioplina



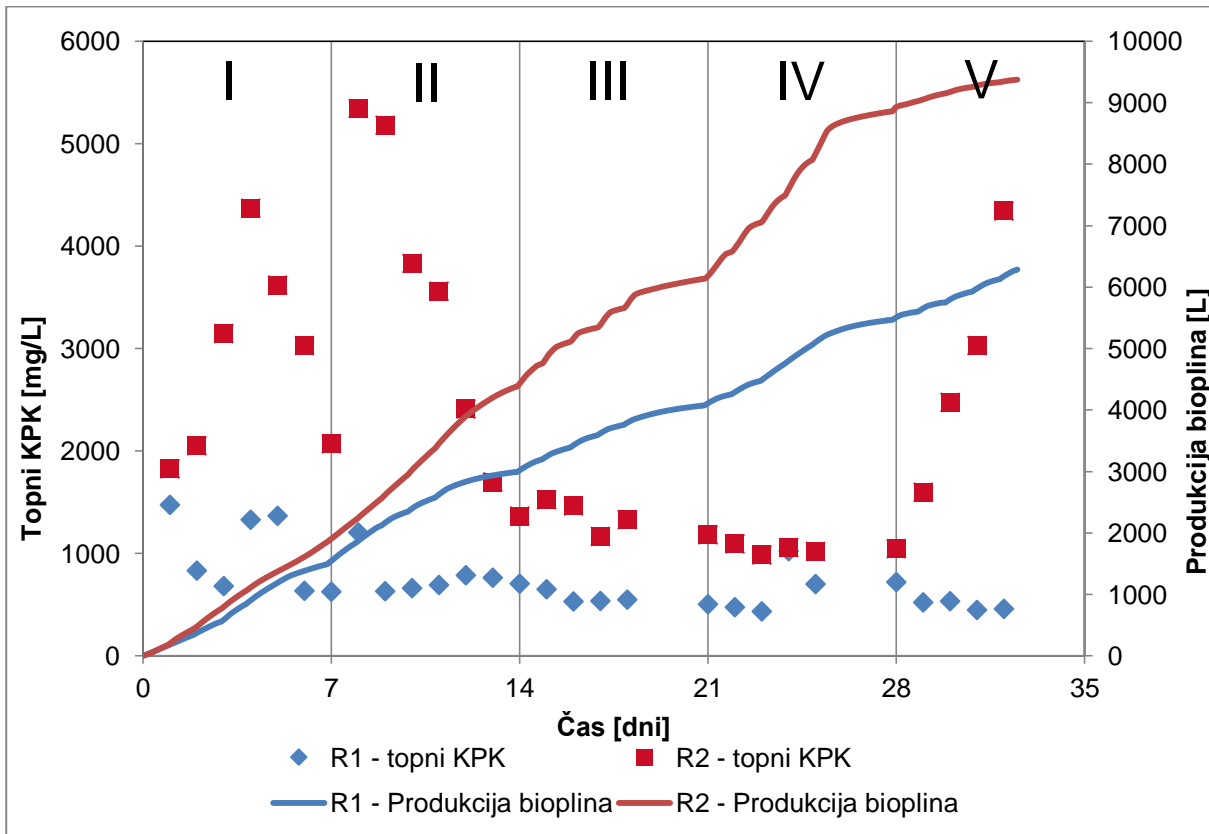
Grafikon 7: Dnevne vrednosti alkalitete in produkcija bioplina



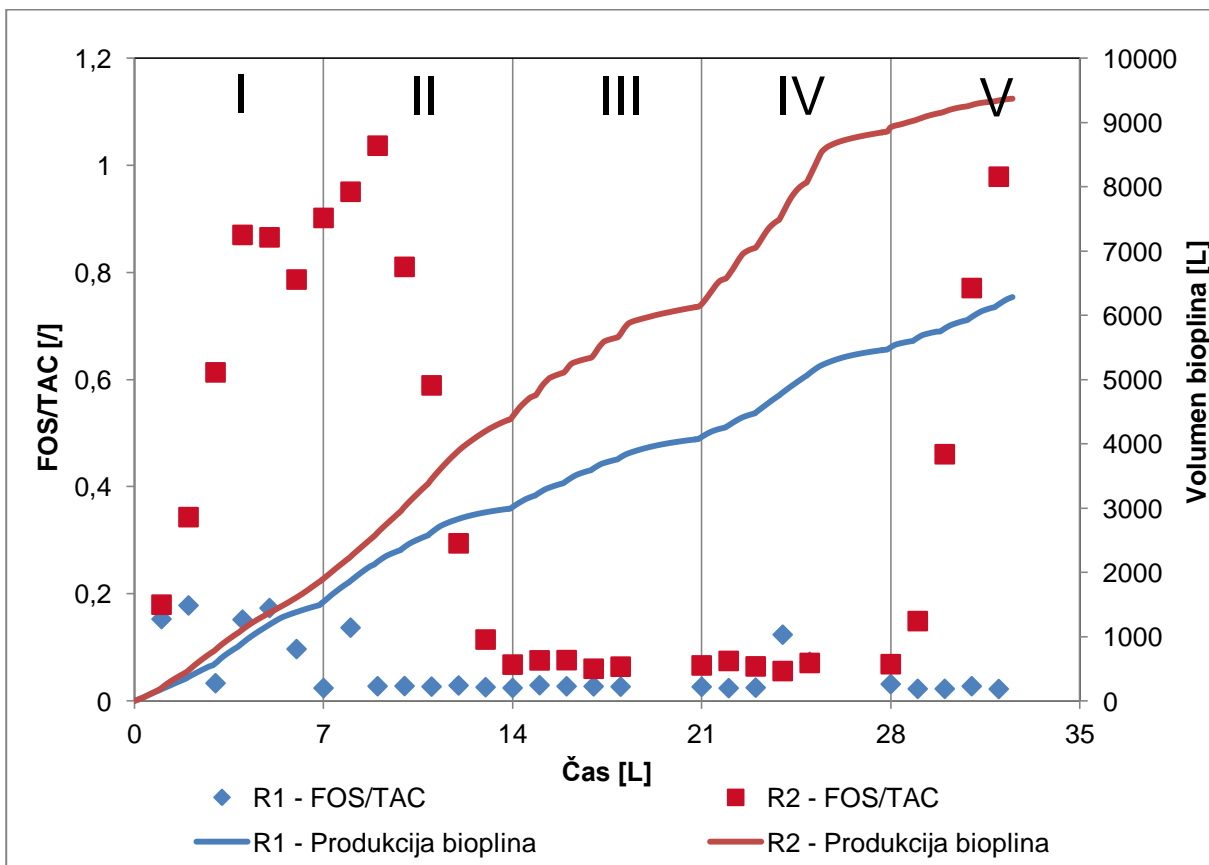
Grafikon 8: Dnevne vrednosti kratkoverižnih maščobnih kislin in produkcija bioplina



Grafikon 9: Dnevne vrednosti topnega KPK in produkcija bioplina



Grafikon 10: Dnevne vrednosti razmerja FOS/TAC in produkcija bioplina



Preglednica 12: Vrednosti sušine in organske snovi v anaerobnem reaktorju

	R1	R2	R1	R2
Teden	SS (g/L)		OS (% SS)	
2	25,6	25,8	65,2	71,8
3	24,4	23,4	64,8	70,2
4	24,1	24,0	64,0	72,0
5	25,5	27,2	64,2	76,1
6	26,4	35,3	60,0	79,0

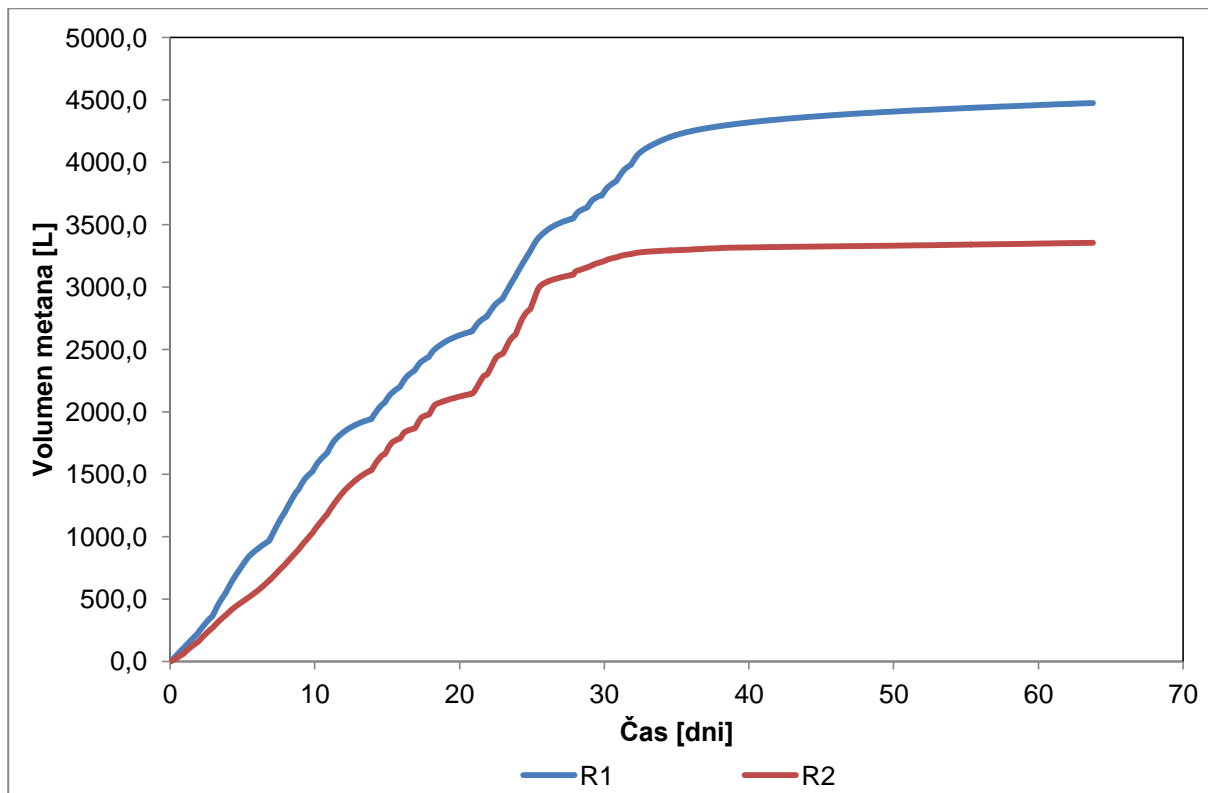
Rezultati analiz so pokazali, da imata sušina in organska snov v eksperimentalnem reaktorju višje vrednosti (Preglednica 10). Na CČN Domžale – Kamnik pa se organska snov na iztoku giblje okoli 60%, kar lahko potrdimo tudi pri kontrolnem reaktorju. Eksperimentalni reaktor je imel organsko snov na iztoku iz reaktorja vedno višjo od 70%, torej sklepamo na slabšo razgradljivost organske snovi v reaktorju.

#### SKLEP

Produkcija bioplina je pri preobremenitvi začela upadati, zato lahko potrdimo ničelno hipotezo. Posledica upada produkcije je upad pH in povišanje parametrov kot so kratkoverižne maščobne kisline, topni KPK, razmerje FOS/TAC in organska snov. Stanje v reaktorju 2, kjer smo dodajalo olje, je bilo stabilno do obremenitve 2,4 g OS/L. V primerjavi s kontrolnim reaktorjem lahko sklepamo, da je pri 100% obremenitvi 3,2 g OS/L v R2 prišlo do preobremenitve.

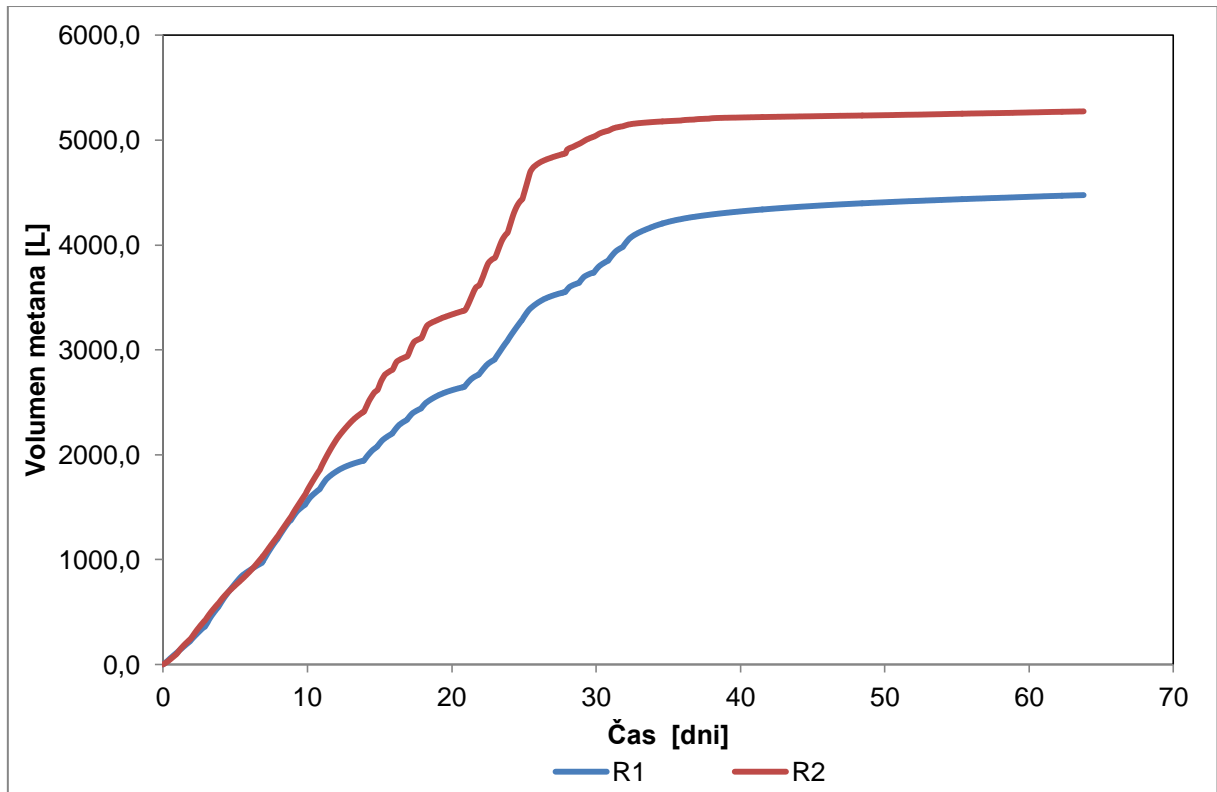
### 6.2.1 Hipotetična produkcija metana

Grafikon 11: Hipotetična kumulativna produkcija metana s 65% deležem metana v R1 in 35% deležem metana v R2

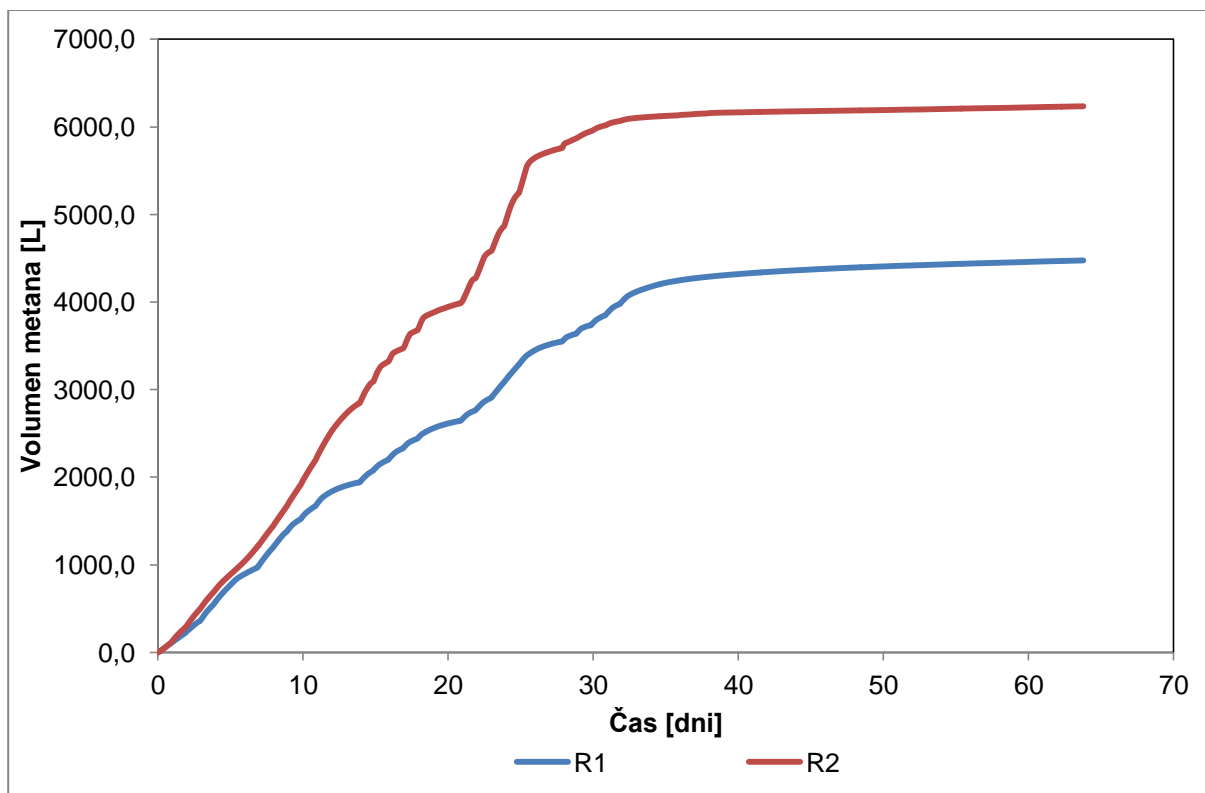




Grafikon 12: Hipotetična kumulativna produkcija metana s 65% deležem metana v R1 in 55% deležem metana v R2



Grafikon 13: Hipotetična kumulativna produkcija metana s 65% deležem metana v R1 in 65% deležem metana v R2



Hipotetično kumulativno produkcijo metana smo prikazali v zgornjih grafikonih (Grafikon 11 do 13), saj v eksperimentu nismo pridobili dovolj podatkov o sestavi bioplina. Za sestavo bioplina iz R1 smo glede na našo meritev predpostavili 65% delež metana in 35% delež ogljikovega dioksida, prav tako pa opazimo primerljivo sestavo bioplina na CČN Domžale – Kamnik iz Preglednice 2. V R2 smo opazili bistveno manjši delež metana, rezultat naše meritve je pokazal 38,1% metana. Zrisali smo grafikon 11 in opazili, da je hipotetična kumulativna produkcija biometana olja nižja kot pri blatu. Torej, če predpostavimo, da je bil ves čas eksperimenta delež metana 35%, je olje slabši substrat za proizvodnjo energije kot blato, hkrati pa ima še slabšo razgradljivost. V ostalih dveh primerih (grafikon 12 in grafikon 13), ko je delež metana v R2 55% oziroma 65%, je kumulativna produkcija biometana olja višja kot pri blatu.

## 7 PRIMERJAVA REZULTATOV

Primerjava rezultatov iz študije maščob, olja in masti z rezultati eksperimenta 1 je pri slednjem biometanski potencial bistveno večji. V študiji je ta dosegel vrednost 741 mL CH<sub>4</sub>/g OS, v našem eksperimentu pa kar 1354 mL CH<sub>4</sub>/g OS.

Parametra pH in organska snov imata na iztoku po šaržnem poskusu primerljive vrednosti kot na iztoku anaerobnega reaktorja na CČN, medtem ko imata vrednosti KPK in sušina nižje vrednosti.

Obremenitev kontrolnega reaktorja je bila v eksperimentu 2 štirikrat večja kot na CČN. V kontrolnem reaktorju pilotnega poskusa je nastalo 373 L bioplina/kg OS, kar je manj od letnega povprečja na CČN (503 L bioplina/kg OS). V R2, kamor smo dozirali olje, je nastalo 799 L bioplina/kg OS.

Razgradljivost eksperimentalnega reaktorja pa je bila slabša, saj je odstopala od rezultatov kontrolnega reaktorja, ki so primerljivi s povprečjem na CČN.

Rezultate iz eksperimenta 1 in eksperimenta 2 lahko primerjamo le hipotetično, saj je pri eksperimentu 2 bilo izvedenih premalo meritev sestave plina.

## 8 ZAKLJUČEK

Biometanski potencial odpadnega jedilnega olja je bil v šaržnem eksperimentu za 45% večji kot pri kontrolnem reaktorju, kjer smo dodali samo surovo blato.

Produkcija bioplina v semi-kontinuirnem reaktorju 2 ob obremenitvi 1,6 g OS/L oz. 2,4 g OS/L je višja kot v R1, kjer je bila ves čas obremenitev 3,2 g OS/L. Vendar pa je razgradljivost organske snovi slabša. Meritve deleža metana v bioplinu so pokazale nižje vrednosti metana v R2, kot v R1, ki je primerljiv z vrednostmi na CČN. Razlog za nižje vrednosti je bila preobremenitev reaktorja, zaradi tega je tudi produkcija metana začela padati. Da bi se prepričali kolikšen delež metana je v bioplinu, če inokulumu kot substrat dodajamo samo odpadno jedilno olje, bi poskus morali ponoviti in meritve bioplina izvajati vsaj enkrat na teden.

## VIRI

Lemos Chernicharo, C. A. 2007. Anaerobic Reactors. New Delhi, Aptara Inc.

Deublein, D., Steinhauser, A. 2008. Biogas from waste and renewable resources. Weinheim, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA

Al Seadi, T., Rutz, D., Prassl, H. et al. 2010. Priročnik o bioplinu. Ljubljana, Agencija za prestrukturiranje energitike d.o.o.

Vögeli, Y., Lohri, C. R., Gallardo, A. et al. 2014. Anaerobic digestion of biowaste in developing countries. Dübendorf, Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology (Eawag)

Ivanc, M., Hrast, K. 2005. Anaerobna razgradnja organske frakcije komunalnih odpadkov. Gospodarjenje z odpadki. 14, 54: 8-11.

Wellinger, A., Murphy, J., Baxter, D. 2013. The biogas handbook. Cambridge, Woodhead Publishing Limited

Burke, D. A. 2001. Dairy waste anaerobic digestion handbook. Washington, Environmental Energy Company. <http://www.makingenergy.com/Dairy%20Waste%20Handbook.pdf> (Pridobljeno 20. 08. 2015. )

<http://www.opinio.si/vprasanja-odgovori/cistilne-naprave/31-glavni-parametri-odpadnih-vod> (Pridobljeno 03. 05. 2016. )

Gerardi, M. H. 2003. The microbiology of anaerobic digesters. New Jersey, John Wiley & Sons, Inc.

Ducan, M., Nigel, H. 2003. Handbook of water and wastewater microbiology. London, Academic Press.

<http://w3.ualg.pt/~hgalvao/MicroMarinha/REadingMaterial/Handbook%20of%20Water%20and%20Wastewater%20Microbiology.pdf> (Pridobljeno 09. 05. 2016. )

Mackenzie, L. D. 2010. Water and wastewater engineering. United States, The McGraw-Hill Companies.

Shannon, C. T., 2016. Effect of fat, oil and grease (FOG) and inoculum source on co-digestion in batch anaerobic digesters.

<https://ir.library.oregonstate.edu/xmlui/bitstream/handle/1957/56941/ShannonCeiliT2015.pdf.pdf?sequence=1> (Pridobljeno 19. 07. 2016. )

Brečko, J. 2014. Vpliv dodajanja različnih koncentracij glukoze v fermentacijski medij na proizvodnjo bioplina. Diplomaska naloga. Domžale, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta (Samozaložba J. Brečko)

Mlakar, M. 2013. Vpliv dodatkov na produkcijo bioplina pri razgradnji odvečnega blata v pilotnem anaerobnem reaktorju. Diplomaska naloga. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo (Samozaložba M. Mlakar)

Kolbl, S. 2014. Izboljšava anaerobne presnove blata iz komunalnih čistilnih naprav in lignoceluloznih substratov pri pridobivanju bioplina. Doktorska disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za gradbeništvo in geodezijo (Samozaložba S. Kolbl)

Esposito, G., Frunzo, L., Liotta, F., Panico, A., Pirozzi, F. 2012. Bio-methane potential tests to measure the biogas production from the digestion and co-digestion of complex organic substrates. The open environmental engineering journal. 2012, 5, 1-8

Bioprocess Control Sweden AB. 2014. Automatic Methane Potential Test System. Operation and Maintenance Manual.

Kolbl, S., Palocz, A., Panjan, J. et al. 2014. Addressing case specific biogas plant tasks: Industry oriented methane yields derived from 5 L Automatic Methane Potential Test Systems in batch or semi-continuous tests using realistic inocula, substrate particle sizes and organic loading. Bioresource Tehnology. 153: 180 – 188

Murovec, B., Kolbl, S., Stres, B. 2014. Methane Yield Database: Online infrastructure and bioresource for methane yield data and related metadata. Bioresource Tehnology. 189: 217 – 223

Orhon, D., Artan, N. 1994. Modelling of Activated Sludge Systems. Pennsylvania, Technomic Publishing Company, Inc.

Mezes, L., Biro, G., Sulyok, E. 2011. Novel approach on the basic of FOS/TAC method.  
Fascicula Protectia Mediului. 17: 713 – 718

Nzataitulshila, R., Idris, A., Harun, R. et al. 2015. The influence of inoculum to substrate ratio  
on the biochemical methane potential of fat, oil, and grease in batch anaerobic assays.  
Energy sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental effects, 37: 6, 590 - 597