



Univerza v Mariboru

Fakulteta za kemijo
in kemijsko tehnologijo

Diplomsko delo

**PROIZVODNJA BIOPLINA S PREDOBDELAVO
LIGNOCELULOZE Z ORGANSKIM TOPILOM IN VROČO
VODO**

September, 2018

Lea Sternad



Univerza v Mariboru

Fakulteta za kemijo
in kemijsko tehnologijo

Lea Sternad

Proizvodnja bioplina s predobdelavo lignoceluloze z organskim topilom in vročo vodo

Diplomsko delo

Maribor, 2018



Univerza v Mariboru

Fakulteta za kemijo
in kemijsko tehnologijo

Proizvodnja bioplina s predobdelavo lignoceluloze z organskim topilom in vročo vodo

Diplomsko delo visokošolskega strokovnega študijskega programa I. stopnje

Študent: Lea Sternad

Študijski program: visokošolski strokovni študijski program I. stopnje
Kemijska tehnologija

Predvideni strokovni naslov: diplomirani/a inženir/ka kemijske tehnologije (VS)

Mentor: doc. dr. Lidija Čuček

Komentor: red. prof. dr. Zdravko Kravanja

Maribor, 2018



Univerza v Mariboru

Fakulteta za kemijo
in kemijsko tehnologijo

Številka: K1013991

Datum: 27.03.2018

Na osnovi 330. člena Statuta Univerze v Mariboru (Statut UM–UPB 12, Uradni list RS, št. 29/2017) izdajam:

SKLEP O ZAKLJUČNEM DELU

Lea Sternad, študent-u/-ki visokošolskega strokovnega študijskega programa 1. stopnje KEMIJSKA TEHNOLOGIJA, se dovoljuje izdelati zaključno delo.

Mentor/-ica: doc. dr. LIDIJA ČUČEK, univ. dipl. inž. kem. tehnol.

Somentor/-ica: red. prof. dr. ZDRAVKO KRAVANJA, univ. dipl. inž. kem. tehnol.

Naslov zaključnega dela:

PROIZVODNJA BIOPLINA S PREDOBDELAVO LIGNOCELULOZE Z ORGANSKIM TOPILOM IN VROČO VODO

Naslov zaključnega dela v angleškem jeziku:

PRODUCTION OF BIOGAS WITH PRETREATMENT OF LIGNOCELLULOSE USING ORGANIC SOLVENT AND HOT WATER

Rok za izdelavo in oddajo zaključnega dela je 30.09.2018. Zaključno delo je potrebno izdelati skladno z »Navodili za izdelavo zaključnega dela« in ga v treh izvodih oddati v pristojnem referatu članice. Hkrati se odda tudi izjava mentor-ja/-ice in morebitne/-ga somentor-ja/-ice o ustreznosti zaključnega dela.

Pravni pouk: Zoper ta sklep je možna pritožba na Senat članice v roku 10 delovnih dni od dneva prejema sklepa.

DEKAN

red. prof. dr. ZDRAVKO KRAVANJA, univ. dipl. inž.
kem. tehnol.



Zorka Novak Pintarič

Po pooblastilu dekana
prodekanica

red. prof. dr. Zorka Novak Pintarič

Obvestiti:

- kandidat-a/-ko,
- mentor-ja/-ico,
- somentor-ja/-ico,
- odložiti v arhiv



FAKULTETA ZA KEMIJO IN
KEMIJSKO TEHNOLOGIJO

Kazalo

Kazalo.....	I
Izjava.....	III
Zahvala	IV
Povzetek.....	V
Abstract.....	VI
Seznam tabel.....	VII
Seznam slik.....	VIII
Seznam diagramov.....	IX
Uporabljeni simboli in kratice	X
1 Uvod in opredelitev problema.....	1
1.1 Predobdelava lignoceluloze z organskim topilom	3
1.1 Predobdelava lignoceluloze z vročo vodo	3
1.2 Anaerobna digestija	3
2 Metode dela in eksperimentalni del.....	5
2.1 Uporabljen material, kemikalije in laboratorijska oprema.....	5
2.2 Sušenje in tehtanje	6
2.3 Predobdelava lignoceluloznih materialov	6
2.3.1 Predobdelava z organskim topilom	6
2.3.2 Predobdelava z vročo vodo.....	7
2.3.3 Dvostopenjska predobdelava	8
2.4 Anaerobna digestija	8
2.4.1 Merjenje prostornine bioplina.....	9
2.4.2 Merjenje pH	10
2.5 Določevanje Klasonovih komponent po razgradnji.....	10
2.5.1 Priprava digestatov brez ekstrahiranega materiala	10
2.5.2 Priprava digestatov za določitev vsebnosti kislinsko netopnega lignina in ogljikovih hidratov	11
2.5.3 Filtriranje, sušenje in tehtanje.....	12
3 Meritve in izračuni	13
3.1 Vsebnost suhe snovi.....	13
3.2 Dejanske zatehte za proces anaerobne digestije	14
3.3 Merjenje prostornine bioplina.....	17
3.4 Merjenje pH	17
3.5 Meritve po končanem procesu anaerobne digestije	18
3.5.1 Določanje vsebnosti ekstrahiranega materiala v digestatih	18
3.5.2 Določanje vsebnosti ogljikovih hidratov in kislinsko netopnega lignina v digestatih	19
3.5.3 Vsebnosti ekstrahiranega materiala, ogljikovih hidratov in kislinsko netopnega lignina	20
4 Rezultati in diskusija	22
4.1 Prostornina bioplina	22
4.2 Vrednost pH.....	27
4.3 Deleži Klasonovih komponent po anaerobni digestiji	28
5 Zaključek.....	29
6 Literatura	30
7 Priloge	32

7.1	Priloga 1	32
8	Življenjepis	36

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko delo izdelala sama, prispevki drugih so posebej označeni. Pregledala sem literaturo s področja diplomskega dela po naslednjih geslih:

Vir: Google Scholar (<http://scholar.google.si/>)

Gesla:	Število referenc
pretreatment IN lignocellulosic IN biogas	8
ethanol extraction IN hot water extraction	11
lignocellulosic biomass	4

Vir: COBISS+ (<https://plus.si.cobiss.net/opac7/bib/search/advanced?db=cobib>)

Gesla:	Število referenc
anaerobna digestija IN bioplin	3

Vir: Digitalna knjižnica Univerze v Mariboru (<https://dk.um.si/Iskanje.php?lang=slv>)

Gesla:	Število referenc
predobdelava IN ekstrakcija	6
klasonove komponente	2

Vir: Digitalna knjižnica Univerze v Ljubljani (diku.uni-lj.si)

Gesla:	Število referenc
lignocelulozna biomasa IN lignin	3

Skupno število pregledanih člankov: 37

Skupno število pregledanih knjig: 2

Maribor, september 2018

Lea Sternad

Zahvala

Zahvaljujem se mentorici, doc. dr. Lidiji Čuček za strokovno pomoč pri delu v laboratoriju in za prijazno usmerjanje ter nasvete pri pisanju diplomske naloge. Prav tako se zahvaljujem somentorju, red. prof. dr. Zdravku Kravanji za dodatne nasvete in strokovni pregled diplomske naloge.

Posebna zahvala gre moji družini, ki me je spodbujala, podpirala in verjela vame tekom celotnega študija.

Iskrena hvala vsakemu posebej!

Proizvodnja bioplina s predobdelavo lignoceluloze z organskim topilom in vročo vodo

Povzetek

Anaerobna digestija je mikrobiološki proces brez prisotnosti kisika, pri katerem mikroorganizmi razkrajajo organske snovi in nastajata bioplin in presnovljen digestat. Bioplin in druga biogoriva je mogoče proizvesti iz različnih lignoceluloznih materialov, katerih struktura pa sicer lahko zavirajoče vpliva na delovanje procesa. S primernim postopkom predobdelave dosežemo spremembo strukture lignocelulozne biomase in izboljšanje delovanja anaerobnih mikroorganizmov.

Namen diplomske naloge je bil ugotoviti kako predobdelava lignoceluloznih materialov vpliva na donos bioplina. Kot lignocelulozne materiale smo uporabili koruzno silažo in koruzno slamo. Dobljene kumulativne prostornine bioplina smo nato primerjali z rezultati paralelki, katere nismo predhodno obdelali. Za postopek predobdelave smo uporabili kemijsko predobdelavo z organskim topilom, fizikalno-kemijsko predobdelavo z vročo destilirano vodo ter kombinirano dvostopenjsko predobdelavo z organskim topilom v prvi stopnji in vročo vodo v drugi stopnji. Kemijsko predobdelavo smo izvedli z etanolom s Soxhletovim ekstraktorjem, pri fizikalno-kemijski predobdelavi pa smo uporabili vročo destilirano vodo in lignocelulozni material s kuhanjem izpostavili visokim temperaturam. Izkazalo se je, da se je z vidika prostornine bioplina najboljše izkazala nastavitve kombinirane predobdelave, kjer smo predobdelali koruzno silažo. V tej nastavitvi je nastalo 14 % več bioplina kot pri paralelki, kjer silaže nismo predobdelali.

Med omenjenim mikrobiološkim procesom smo spremljali tudi pH, saj je zelo pomemben dejavnik. V primeru, da je izven optimalnega območja, ki je med 6,5 in 8, lahko moteče vpliva na delovanje procesa. V presnovljenem digestatu smo preverili še deleže Klasonovih komponent in ugotovili, da med paralelkami glede na predobdelavo v deležih ni večjih razlik.

Ključne besede: predobdelava lignoceluloze, predobdelava z organskim topilom, predobdelava z vročo vodo, anaerobna digestija, proizvodnja bioplina

UDK: 662.767.2(043.2)

Production of biogas with pretreatment of lignocellulose using organic solvent and hot water

Abstract

Anaerobic digestion is a microbiological process, without the presence of oxygen, in which microorganisms convert organic matter into biogas and digested substrate. Biogas and other biofuels can be produced from a variety of lignocellulosic materials, but their structure may have an inhibiting effect on the functioning of the process. Using an appropriate pretreatment process, we can achieve a desirable change in the structure of lignocellulosic biomass and improve the performance of anaerobic microorganisms.

The purpose of the thesis was to determine how pretreatment of lignocellulosic materials affects the yield of biogas. Corn silage and corn stover were used as lignocellulosic materials. The obtained cumulative volumes of biogas were then compared with the results obtained from samples without pretreated lignocellulosic materials. As the pretreatment process, chemical pretreatment with organic solvent, physicochemical pretreatment with hot distilled water and combined two-stage pretreatment with an organic solvent in the first stage and hot water in the second stage were used. Chemical pretreatment was carried out using ethanol with Soxhlet extractor, whilst in physicochemical pretreatment hot distilled water was used and lignocellulosic material exposed to high temperatures by cooking. The results from the viewpoint of biogas volume showed that the optimal pretreatment was a combined one with pretreated corn silage. For this sample, 14 % more biogas was produced than in the sample, where the silage was not pretreated.

During this microbiological process, pH values were also analyzed, as pH is a very important factor which, if it was not in the optimal range between 6.5 and 8, could inhibit the operation of the process. In the digestate the proportions of the Klason components were also analyzed and it was found that there were no major differences in component fractions between samples with and without pretreatment.

Key words: pretreatment of lignocellulose, pretreatment with organic solvent, pretreatment with hot water, anaerobic digestion, biogas production

UDK: 662.767.2(043.2)

Seznam tabel

Tabela 3-1: Zatehte za izračun vsebnosti suhe snovi.....	14
Tabela 3-2: Izračunane zatehte za proces anaerobne digestije za mešanice brez predobdelave	14
Tabela 3-3: Dejanske zatehte za proces anaerobne digestije za mešanice brez predobdelave	15
Tabela 3-4: Vrednosti zatehtanega materiala za predobdelavo in posušenega ostanka brez ekstrahiranega materiala	15
Tabela 3-5: Izračunane zatehte in deleži predobdelanega materiala brez ekstraktivov za proces anaerobne digestije predobdelanega materiala	16
Tabela 3-6: Dejanske zatehte za proces anaerobne digestije predobdelanega materiala.....	16
Tabela 3-7: Povprečje celotne prostornine bioplina	17
Tabela 3-8: Meritve pH vrednosti posameznih paralelk.....	17
Tabela 3-9: Zatehte digestata za določevanje deleža ekstrahiranega materiala	18
Tabela 3-10: Zatehte materiala za hidrolizo	19
Tabela 3-11: Mase in deleži ekstrahiranega materiala, lignina in ogljikovih hidratov	21
Tabela 7-1: Prostornina nastalega bioplina po dnevih.....	32

Seznam slik

Slika 1-1: Vloga predobdelave pri pretvorbi biomase v gorivo (po viru [2]).....	1
Slika 1-2: Tehnike predobdelave lignocelulozne biomase za različne namene uporabe (po virih [3] in [4]).....	2
Slika 2-1: Sestavljena aparatura za ekstrakcijo z etanolom	7
Slika 2-2: Ekstrakcija z destilirano vodo	7
Slika 2-3: Predobdelava vhodnih materialov	8
Slika 2-4: Dejanska nastavitve procesa anaerobne digestije.....	9
Slika 2-5: Priprava raztopin za hidrolizo	11
Slika 2-6: Kuhanje raztopin v destilirani vodi	11
Slika 2-7: Filtriranje materiala	12
Slika 2-8: Posušen preostanek prefiltriranega materiala.....	12

Seznam diagramov

Diagram 4-1: Prostornina bioplina po dnevih	22
Diagram 4-2: Kumulativna prostornina bioplina v odvisnosti od časa za predhodno neobdelane mešanice	23
Diagram 4-3: Kumulativna prostornina bioplina v odvisnosti od časa za mešanice s predobdelavo lignoceluloze z etanolom	23
Diagram 4-4: Kumulativna prostornina bioplina v odvisnosti od časa za mešanice s predobdelavo lignoceluloze z etanolom in vročo destilirano vodo	24
Diagram 4-5: Kumulativna prostornina bioplina v odvisnosti od časa za mešanice s predobdelavo lignoceluloze z vročo destilirano vodo	25
Diagram 4-6: Povprečna končna prostornina bioplina	25
Diagram 4-7: pH v odvisnosti od časa za a) mešanice brez predobdelave ter mešanice s predobdelanim lignoceluloznim materialom z b) etanolom, c) etanolom in destilirano vodo, d) destilirano vodo	27
Diagram 4-8: Deleži Klasonovih komponent v presnovljenem digestatu	28

Uporabljeni simboli in kratice

Simboli

f	faktor
m_e	masa ekstrahiranega materiala (g)
m_k	končna masa posušenega predobdelanega materiala (g)
m_{ke}	končna masa posušenega materiala brez ekstraktivov (g)
m_L	masa lignina (g)
m_{L1}, m_{L2}	vrednost mas lignina za posamezno paralelko (g)
$m_{L \text{ vsota}}$	vsota mas lignina (g)
m_m	masa materiala (I / G / SIL / SLA) (g)
m_{mh}	masa materiala za hidrolizo (g)
m_{mh1}, m_{mh2}	vrednost zateht materiala za hidrolizo za posamezno paralelko (g)
$m_{mh \text{ vsota}}$	vsota zateht materiala za hidrolizo (g)
m_{mm}	masa mokrega materiala (g)
m_o	osnovna masa materiala (g)
m_{OH}	masa ogljikovih hidratov (g)
m_{OH1}, m_{OH2}	vrednost mas ogljikovih hidratov za posamezno paralelko (g)
$m_{OH \text{ vsota}}$	vsota mas ogljikovih hidratov (g)
m_p	masa petrijevke (g)
m_{p+m}	masa petrijevke in materiala (g)
m_{sm}	masa suhega materiala (g)
m_{sm+p}	masa suhega materiala s petrijevko (g)
m_z	začetna masa mokrega (svežega) materiala pred predobdelavo (g)
m_{ze}	začetna masa materiala za ekstrakcijo (g)
V_b	prostornina bioplina (mL)
$V_{dest.v.}$	prostornina destilirane vode (mL)
V_{H2SO4}	prostornina H ₂ SO ₄ (mL)

Grški simboli

ω	delež suhe snovi v materialu (%)
$\omega_1, \omega_2, \omega_3$	delež suhe snovi za posamezno paralelko (%)
$\bar{\omega}$	povprečna vrednost deleža suhe snovi v materialu (%)
ω_e	delež ekstrahiranega materiala (%)
ω_L	delež lignina (%)
ω_n	delež lignocelulozne biomase brez ekstrahiranega materiala
ω_{OH}	delež ogljikovih hidratov (%)

Kratice

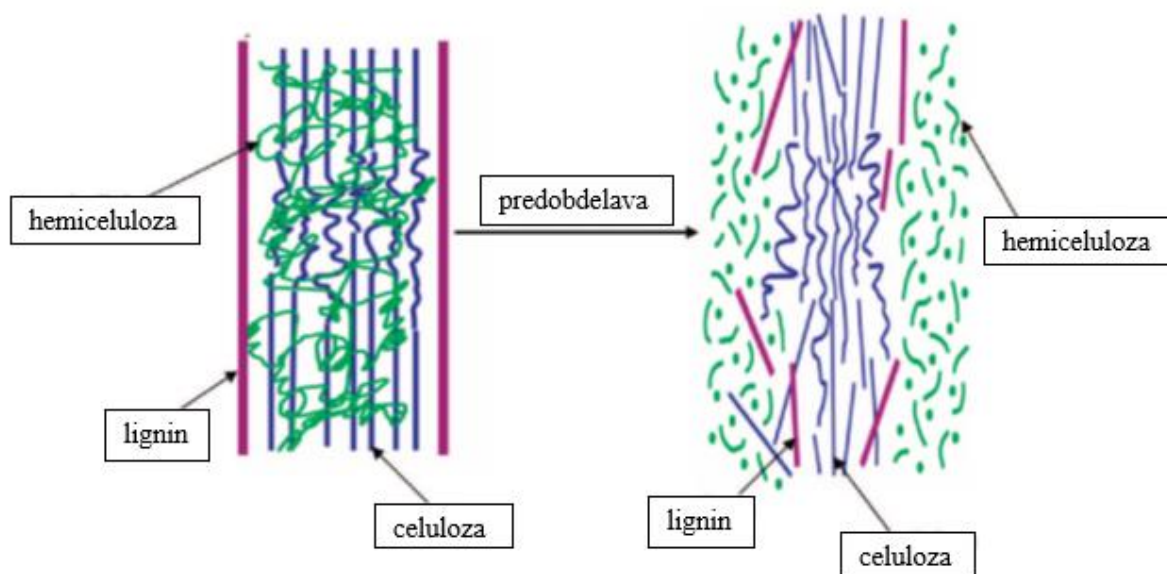
E	material s predobdelavo z etanolom
E+V	material z dvostopenjsko predobdelavo z etanolom in destilirano vodo
G	gnoj
I	inokulum
N	material brez predhodne obdelave
SIL	silaža
SLA	slama
V	material s predobdelavo z destilirano vodo

1 Uvod in opredelitev problema

Lignocelulozna biomasa je sestavljena iz celuloze, hemiceluloze in lignina. Celuloza, ki predstavlja približno 40 % celotne suhe teže lignoceluloze, sestavljene z večjimi linearnimi verigami polisaharidov, je z vodikovimi vezmi vgrajena v odporno hemicelulozo. Celulozne verige so zaščitene z ligninom in acetilnimi spojinami in so na makrostrukturo vezane s kovalentnimi vezmi [1].

Biogoriva, proizvedena iz različnih lignoceluloznih materialov, kot so les, kmetijski ali gozdni ostanki, predstavljajo dragoceno dopolnilo in nadomestek gorivu. Številni fizikalno-kemijski, strukturni in sestavni dejavniki ovirajo hidrolizo celuloze in tvorbo sladkorjev ter drugih organskih spojin, ki jih je kasneje možno pretvoriti v gorivo. Z različnimi tehnikami predobdelave pa dosežemo spremembo strukture lignocelulozne biomase in izboljšanje hitrosti hidrolize [2].

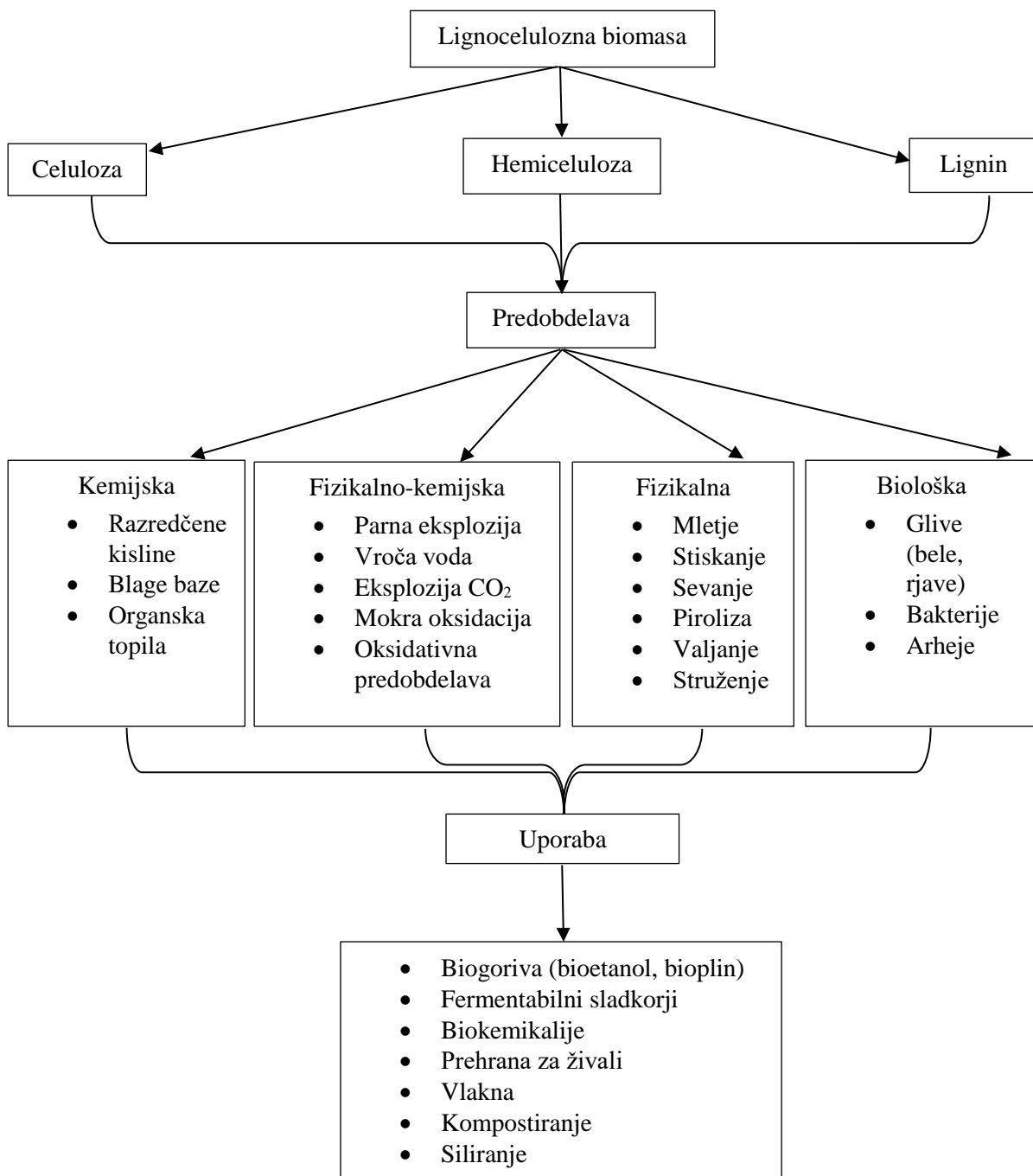
Slika 1-1 prikazuje kako predobdelava vpliva na stanjšanje celične stene in s tem omogoča saharizacijo celuloze. Poleg omenjenega je analiza lignina enostavna in v mnogih primerih učinkovita.



Slika 1-1: Vloga predobdelave pri pretvorbi biomase v gorivo (po viru [2])

V zadnjih nekaj letih so razvili številne tehnike predobdelave, ki so pokazale dobre rezultate glede donosov sladkorja. Glavne metode predobdelave vključujejo fizikalne, kemijske in biološke postopke. Izbira postopka predobdelave je odvisna izključno od uporabe [2].

Slika 1-2 prikazuje nekaj tehnik predobdelave lignocelulozne biomase [3].



Slika 1-2: Tehnike predobdelave lignocelulozne biomase za različne namene uporabe (po virih [3] in [4])

V diplomski nalogi smo preizkusili dve izmed možnih vrst predobdelave lignocelulozne biomase, to sta ekstrakcija z organskim topilom, ki spada med kemijske metode in predobdelava lignoceluloze z vročo destilirano vodo, ki spada med fizikalno-kemijske metode. Dodatno smo izvedli dvostopenjsko predobdelavo, kjer smo najprej izvedli ekstrakcijo z organskim topilom, nato pa material kuhali v vroči vodi. Predobdelan material smo uporabili za proizvodnjo bioplina, pri čemer smo primerjali donos bioplina glede na donos, kjer materiala nismo predhodno obdelali.

1.1 Predobdelava lignoceluloze z organskim topilom

Med ekstrahirane materiale oziroma ekstraktive štejemo mešanico različnih komponent, ki vključujejo smole, proteine, fitosterole, maščobe, voske, soli, številne nehlapne ogljikovodike, ki se pojavljajo v manjših deležih in proste sladkorje, če so v materialu na voljo [4]. Ekstraktivi so lahko moteči faktorji pri nekaterih analizah, saj na lignin vplivajo zavirajoče [4]. Za boljše rezultate analiz je zato smiselno lignocelulozne materiale predhodno ekstrahirati. To so dokazale tudi predhodne raziskave, kjer so kot substrat uporabili borovo lubje. V nekem primeru so material najprej ekstrahirali, v drugem pa ne. Analiza lignina, kjer so odstranili ekstrakte iz materiala, se je izkazala za kar 50 % boljše [4]. V predhodnih raziskavah je bilo ugotovljeno tudi, da se med anaerobno digestijo razgradijo pretežno ogljikovi hidrati, manj se razgradi lignina, skoraj nič pa se ne razgradi ekstrahiranega materiala [5]. Prav tako se med razgradnjo lignoceluloznega materiala, ki je predhodno preraščen z glivami bele trohnobe, delež lignina zmanjšuje s časom preraščanja, delež ogljikovih hidratov se povečuje, medtem ko se delež ekstrahiranega materiala ne spreminja [6].

Obstaja več metod, ki vključujejo ekstrakcijo kot metodo predobdelave lignoceluloznih materialov. Za najenostavnejšo in tudi učinkovito metodo se je izkazala standardna metoda, pri kateri so ekstraktivi preprosto ekstrahirani v Soxhletovem ekstraktorju s topilom, ki je ponavadi voda ali etanol [4]. Z vodo se ekstrahirajo anorganski in dušikovi materiali, sladkorne kisline in nestrukturirani sladkorji [4], tanini, gume, sladkorji, škrob in barvila [7], z etanolom pa voski in oljnati materiali. Metoda je učinkovita predvsem za analize predhodno obdelanih materialov za biogoriva [4].

Predobdelava lignoceluloze z ekstrakcijo z organskim topilom, ki smo jo izvedli v diplomskem delu, je podrobneje opisana v poglavju 2.3.1.

1.1 Predobdelava lignoceluloze z vročo vodo

Predhodna obdelava lignoceluloznih materialov z vročo vodo je najenostavnejša metoda, kjer se kot topilo uporablja destilirana voda pri visokih temperaturah. Ta predobdelava omogoča močno zmanjšanje celične stene in izboljša saharizacijo polisaharidov, zlasti celuloze. V preteklosti se je izkazalo, da predobdelava z vročo vodo poveča tudi encimsko delovanje na hidrolizo celuloze, ki kasneje pripomore k nastanku biogoriv [8].

Predobdelava z vročo destilirano vodo, ki smo jo izvedli v diplomskem delu, je podrobneje opisana v poglavju 2.3.2.

1.2 Anaerobna digestija

Anaerobna digestija je mikrobiološki proces, pri katerem brez prisotnosti kisika poteka razkroj organskih snovi. Glavni produkt procesa je bioplin, ki nastaja z vrsto zaporednih reakcij, povzročenih zaradi anaerobnih mikroorganizmov. Bioplin je vnetljiv plin, ki vsebuje 60-65 % metana, 30-35 % ogljikovega dioksida ter manjše količine drugih plinov in elementov v sledih [9]. Encimi anaerobnih bakterij razgradijo ogljikove hidrate, proteine in lipide v enostavnejše sladkorje, aminokisline in maščobne kisline, ki so hrana bakterijam. Več kot je hrane, več je bioplina in s tem je večja razgradnja. Ugotovljeno je bilo, da se med anaerobno digestijo razgradijo pretežno ogljikovi hidrati, manj se razgradi lignina, skoraj nič pa se ne razgradi ekstrahiranega materiala [5]. Pri proizvodnji bioplina je tako pomembna izbira substrata, ki mora biti primarno bogat z ogljikovimi hidrati in mora vsebovati čim manj materiala, ki se s topili ekstrahira.

Namen diplomskega dela je bil raziskati anaerobno digestijo mešanic, ki vsebujejo predobdelane lignocelulozne materiale, in prostornino proizvedenega bioplina primerjati s to, ki smo jo dobili pri mešanicah, pri katerih lignocelulozni materiali niso bili predobdelani. Uporabili smo dve metodi predobdelave, kemijsko z ekstrakcijo z organskim topilom ter fizikalno-kemijsko z vročo vodo. Kot organsko topilo smo uporabili etanol, ki sodi med ekstrakcijska topila, ki se lahko uporabljajo za različne namene [10]. Dodatno smo uporabili dve stopnji predobdelave, v prvi stopnji smo izvedli ekstrakcijo z etanolom, v drugi stopnji pa smo uporabili vročo vodo. Predvidevali smo, da bodo mešanice s predobdelanimi lignoceluloznimi materiali dale boljše rezultate z vidika nastalega bioplina, zaradi vpliva predobdelave na celično steno.

2 Metode dela in eksperimentalni del

Metode, ki smo jih uporabili tekom eksperimentalnega dela so:

- predobdelava lignoceluloznih materialov,
- priprava mešanic za proces anaerobne digestije,
- merjenje pH in prostornine nastalega bioplina med anaerobno digestijo,
- določevanje Klasonovih komponent po končani anaerobni digestiji.

2.1 Uporabljen material, kemikalije in laboratorijska oprema

Za eksperimentalni del smo uporabili naslednje materiale:

- inokulum,
- perutninski gnoj z nastiljem,
- koruzna slama,
- koruzna silaža.

Kemikalije, uporabljene tekom eksperimentalnega dela:

- etanol,
- H₂SO₄.

Laboratorijska oprema, ki smo jo uporabili:

- tehtnica,
- sušilnik,
- eksikator,
- petrijevke,
- pincete,
- žličke,
- Soxhletov ekstraktor,
- celulozni tulci za ekstrakcijo,
- bučke (500 mL),
- vodni hladilnik,
- grelni kaloti za 500 mL bučke,
- čaše (100 mL, 1 L),
- peščena kopel,
- steklene palčke,
- pH meter,
- tablični računalnik,
- brizge (5 mL),
- injekcijske igle,
- steklene vialne (5 mL),
- avtomatska pipeta prostornine 0,5-5 mL,
- konice za avtomatsko pipeto,
- filtrni papirji,
- filtrirni lijak,
- vakuumsko črpalka,
- akvarij,
- merilni valji (250 mL),

- stojala,
- prižeme,
- mufe,
- erlenmajerice »filter flask for vacuum use« prostornine 250 mL,
- septe,
- plastične posode,
- potopni termostat SC 100,
- plastične cevi notranjega premera 6 mm,
- jeklenka z argonom.

2.2 Sušenje in tehtanje

Najprej smo določili vsebnosti suhe snovi vsem materialom, ki smo jih uporabili tekom eksperimentalnega dela. Inokulum smo predhodno prefiltrirali, saj smo želeli dobiti homogeno zmes. Nato smo v dvanajst predhodno stehtanih petrijevkih zatehtali določeno količino materiala (4 vrste materiala po 3 paralelke), ki smo ga čez noč sušili v sušilniku pri konstantni temperaturi 105 °C. Posušen material smo naslednji dan stehtali in po enačbi 3.1, ki sledi v poglavju 3.1, izračunali vsebnost suhe snovi.

2.3 Predobdelava lignoceluloznih materialov

Preden smo pripravili mešanice za nastavitev procesa anaerobne digestije, smo predobdelali lignocelulozne materiale. Predobdelali smo le koruzno slamo in silažo, saj sta gnoj in inokulum vira mikroorganizmov, kateri so pri procesu nastajanja bioplina zelo pomembni [11]. Metanogene bakterije so namreč visoko aktivne le v temperaturnih območjih med 28 °C in 42 °C (mezofilno območje) ter med 55 °C in 72 °C (termofilno območje), izven teh območij pa so zelo omejeno aktivne [12].

Izvedli smo tri različne vrste predobdelave lignoceluloznih materialov (koruzne slame in silaže):

- kemijsko: predobdelava z organskim topilom (ekstrakcija z etanolom s Soxhletovim aparatom),
- fizikalno-kemijsko: predobdelava z vročo vodo (kuhanje v vroči vodi),
- kombinirano: dvostopenjska predobdelava z organskim topilom in vročo vodo (najprej ekstrakcija z etanolom, nato kuhanje v vroči vodi).

2.3.1 Predobdelava z organskim topilom

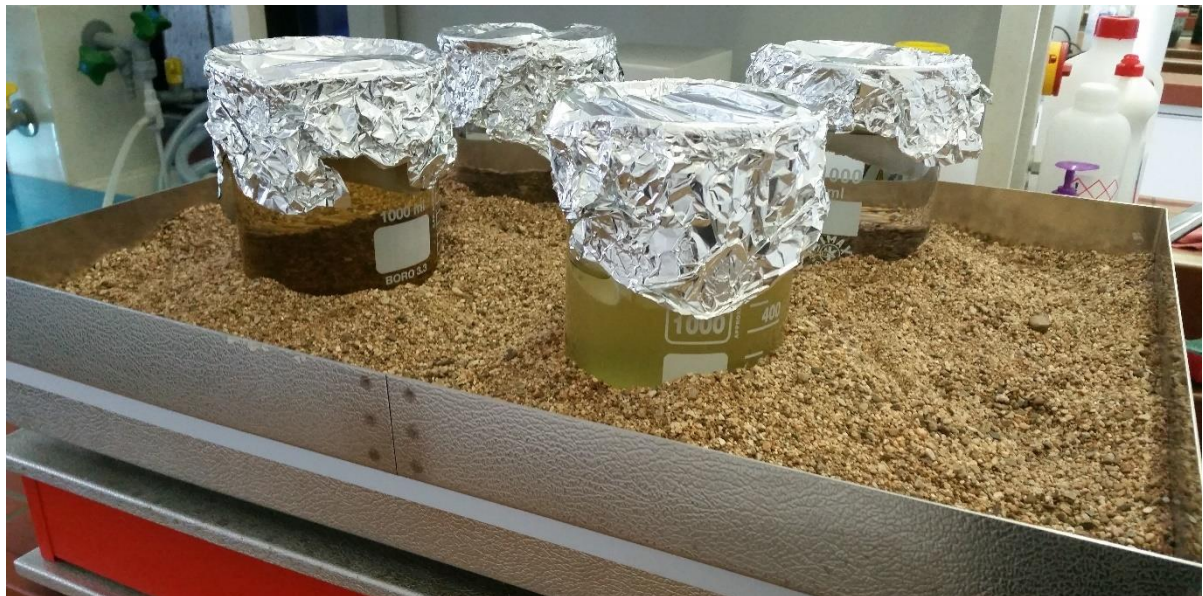
Predobdelavo z organskim topilom smo izvedli s klasično ekstrakcijo s Soxhletovim aparatom. Kot topilo smo uporabili etanol. Aparature za ekstrakcijo smo sestavili, kot je razvidno na sliki 2-1. Preden smo začeli s tehtanjem materiala v tulce, smo vsak tulec, ki smo ga uporabljali, najprej posušili v sušilniku in stehtali. Vzoredno smo ekstrahirali dve paralelki slame in dve paralelki silaže. Po eno paralelko vsakega substrata smo uporabili za enostopenjsko predobdelavo ter po eno za dvostopenjsko predobdelavo, katera je opisana v poglavju 2.3.3. V dva celulozna tulca smo zatehtali približno 30 g sveže silaže in v preostala dva približno 6 g sveže slame. Material v tulcih smo pokrili s predhodno stehtano suho vato, da vzorci tekom ekstrakcije niso uhajali iz tulca. Nato smo v vsako bučko nalili 400 mL etanola. Prižgali smo grelnik in začeli s procesom ekstrakcije. Ekstrahirali smo 11 ciklov, ugasnili grelnik in pustili, da se vse skupaj ohladi.



Slika 2-1: Sestavljena aparatura za ekstrakcijo z etanolom

2.3.2 Predobdelava z vročo vodo

Pri predobdelavi z vročo vodo smo uporabili destilirano vodo. V tulca smo zatehtali približno po 30 g sveže silaže in 5 g sveže slame in vsak tulec pokrili s predhodno stehtano suho vato. Nato smo tulca položili v dve 1 L čaši, ki smo ju predhodno napolnili z 800 mL destilirane vode. Čaši s tulgema smo postavili na peščeno kopel in počakali, da voda zavre, nato pa kuhali še 1 h, da se je material skozi tulec ekstrahiriral v vodo, kot je vidno na sliki 2-2.



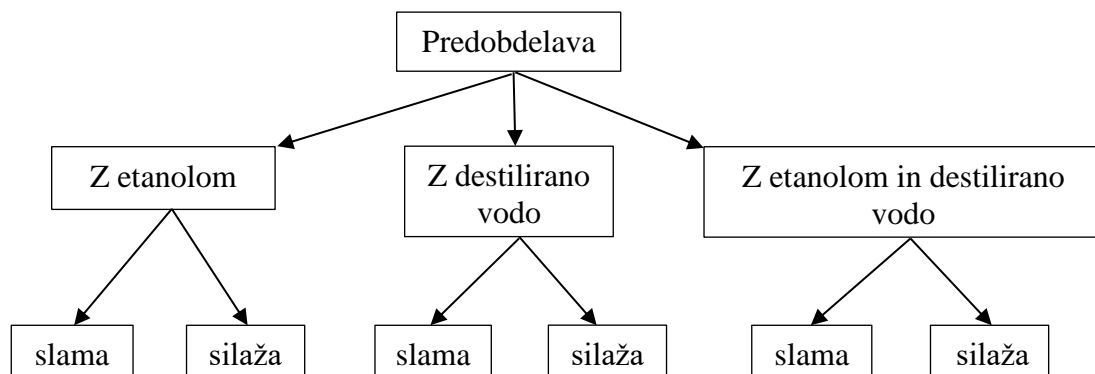
Slika 2-2: Ekstrakcija z destilirano vodo

2.3.3 Dvostopenjska predobdelava

Prvo stopnjo predobdelave smo izvedli vzporedno s paralelkami, kjer smo material s Soxhletovim aparatom ekstrahirali in kot topilo uporabili etanol. V prvi stopnji smo v dva tulca zatehtali približno 30 g sveže silaže in 6 g sveže slame ter ekstrahirali s 400 mL etanola 11 ciklov, kot je opisano v poglavju 2.3.1. V drugi stopnji smo nato tulca prestavili v dve 1 L čaši ter jih kuhali v vroči destilirani vodi. V čaši smo nalili 800 mL destilirane vode, dodali tulca z materialom in čaši položili na peščeno kopel. Počakali smo, da voda zavre, in vse skupaj kuhali še eno uro. Vzporedno smo kuhali material, ki smo ga predobdelali le z vročo vodo, ter material, kjer smo uporabili dvostopenjsko predobdelavo. Kuhanje na peščeni kopeli je prikazano na sliki 2-2.

Po končanih predobdelavah smo vseh šest tulcev postavili na petrijevke ter jih sušili v sušilniku pri temperaturi 105 °C čez noč.

Slika 2-3 prikazuje vse paralelke, ki smo jih predobdelali za nastavitev procesa anaerobne digestije.



Slika 2-3: Predobdelava vhodnih materialov

2.4 Anaerobna digestija

Ko so se vzorci v tulcih posušili, smo si pripravili mešanice za proces anaerobne digestije. Pripravili smo si 24 erlenmajeric in jih primerno označili. Nato je sledilo tehtanje. Kot osnovo smo v obeh primerih (pri mešanicah brez predobdelave in s predobdelavo) vzeli naslednje glede na suho trdno snov:

$$2 \text{ g inokoluma} + 1,4 \text{ g gnoja} + 0,6 \text{ g slame / silaže}$$

Glede na vsebnosti suhe snovi v materialih smo preračunali, koliko vsakega materiala je potrebno zatehtati v erlenmajerice. Pripravili smo si različne mešanice po 3 paralelke. Prvi sklop mešanic je zajemal material brez predhodne obdelave. Zatehtali smo 3 paralelke koruzne slame in 3 paralelke koruzne silaže ter vsaki dodali gnoj, inokulum in določeno količino destilirane vode. Drugi sklop mešanic je zajemal predhodno ekstrahiran material z etanolom. Zatehtali smo 3 paralelke z etanolom ekstrahirane slame ter 3 paralelke z etanolom ekstrahirane silaže ter vsaki dodali gnoj, inokulum in destilirano vodo. V tretji sklop je spadal predhodno ekstrahiran material z etanolom in vročo destilirano vodo. Zatehtali smo 3 paralelke z etanolom in destilirano vodo predobdelane slame in 3 paralelke z etanolom in destilirano vodo predobdelane silaže ter vsaki dodali gnoj, inokulum in destilirano vodo. Še zadnji, četrti sklop je zajemal predobdelan material z vročo destilirano vodo. Tudi v tem primeru smo zatehtali 3 paralelke z destilirano vodo predobdelane slame in 3 paralelke z destilirano vodo

predobdelane silaže ter vsaki dodali gnoj, inokulum in destilirano vodo. V skupnem seštevku smo tako imeli 24 mešanic:

- 6 paralelk brez predhodne obdelave (N SLA 1-3, N SIL 1-3)
- 6 paralelk s predobdelavo z etanolom (E SLA 1-3, E SIL 1-3)
- 6 paralelk s predobdelavo z vročo vodo (V SLA 1-3, V SIL 1-3)
- 6 paralelk z dvostopenjsko predobdelavo (E+V SLA 1-3, E+V SIL 1-3).

Ko smo imeli pripravljene zatehte, smo pripravili 24 merilnih valjev prostornine 250 mL in 24 cevi dolžine približno 1 m. Medtem smo na delovno površino postavili akvarij in ga napolnili z destilirano vodo. Ob akvarij smo nato postavili še manjše plastične posode in jih prav tako napolnili z destilirano vodo. S prižemami in mufami smo okoli akvarija na ogrodje pritrdili narobe obrnjene merilne valje, potopljene v destilirano vodo v posodah. Nato smo v akvarij na stojalo postavili z zamaški in septami dobro zaprte erlenmajerice in vsako posebej s cevjo povezali tako, da je vsaka cev posamezne erlenmajerice bila usmerjena v svoj merilni valj. Dodali smo termostat, ki je vzdrževal konstantno temperaturo 42 °C tekom celotnega procesa, kot je prikazano na sliki 2-4 .



Slika 2-4: Dejanska nastavitve procesa anaerobne digestije

Merilne valje smo nato s pomočjo vodne vakuumske črpalke napolnili z vodo. Po končani nastavitvi smo vsaki mešanici posebej skozi septo z argonom izpihali kisik, da smo ustvarili anaerobne pogoje, in proces anaerobne digestije je bil pripravljen.

Proces smo pustili delovati 28 dni. Med samim procesom smo vsak dan merili prostornino nastalega bioplina ter dvakrat na teden izmerili pH vrednost vsake mešanice. Po 28 dneh smo vsako izmed nastavljenih mešanic prelili v predhodno stehane petrijevke in vse skupaj sušili v sušilniku pri temperaturi 105 °C. Suh material smo nato uporabili za določitev ekstrahiranega materiala, ogljikovih hidratov in lignina (Klasonovih komponent) v digestatih s Klasonovo metodo [7].

2.4.1 Merjenje prostornine bioplina

Tekom procesa smo vsak dan izmerili prostornino nastalega bioplina. To je potekalo tako, da smo pred odčitkom vsako erlenmajerico dobro premešali (vsako vsaj 20 sekund), da smo dosegli večji stik bakterij s fermentacijsko zmesjo [13]. S pomočjo 250 mL merilnih valjev

smo nato odčitali znižanje nivoja vode, ki je nastal zaradi bioplina, ki je vodo izpodrinil iz valjev. Iz dnevnih razlik v nivoju vode v merilnih valjih, smo ugotovili, koliko bioplina je nastalo.

2.4.2 Merjenje pH

Dvakrat na teden smo preverjali tudi pH vrednost posameznih mešanic. Septo smo prepičili z injekcijsko iglo ter odvzeli manjšo količino zmesi v erlenmajerici (približno 3 mL do 4 mL), ki smo jo iztisnili v manjšo stekleno vialo [13]. Z brezžičnim pH senzorjem smo nato izmerili vrednost pH tako, da smo senzor potopili v odvzet vzorec. S pomočjo programa SPARKvue smo se s pametnim telefonom preko Bluetootha povezali s senzorjem in program je izrisal graf ter izračunal povprečno vrednost posamezne meritve, ki je trajala približno 10 sekund. Po opravljeni meritvi smo z injekcijsko iglo ponovno prepičili septo in odvzet vzorec vrnili v erlenmajerico. Postopek smo ponovili za vsako mešanico.

2.5 Določevanje Klasonovih komponent po razgradnji

Po končanem procesu anaerobne digestije, smo določili vsebnosti Klasonovih komponent (ekstrahiranega materiala, ogljikovih hidratov in lignina) v digestatih (ostankih po anaerobni digestiji). Vse vzorce smo iz erlenmajeric s pomočjo spiranja z destilirano vodo prenesli na že vnaprej stehtane petrijevke, ki smo jih primerno označili. Vse vzorce smo nato čez noč sušili do suhega ostanka na 105 °C. Vzorce smo nato stehtali ter sledilo je določevanje Klasonovih komponent v naslednjem vrstnem redu:

- priprava digestatov brez ekstrahiranega materiala (ekstrakcija z etanolom; kuhanje v vroči vodi),
- sušenje in tehtanje,
- priprava digestatov za določitev vsebnosti kislinsko netopnega lignina in ogljikovih hidratov (hidroliza v 72 % H₂SO₄, hidroliza v 3 % H₂SO₄),
- filtriranje,
- sušenje in tehtanje.

2.5.1 Priprava digestatov brez ekstrahiranega materiala

V prvi stopnji smo digestate ekstrahirali z etanolom. 24 posušenih digestatov smo smiselno združili glede na sklope predobdelave (N SLA, N SIL, E SLA, E SIL, V SLA, V SIL, E+V SLA, E+V SIL) - združili smo vse paralelke posamezne nastavitve. Tako smo dobili novih 8 paralelk, ki so bile pripravljene za ekstrakcijo. Najprej smo sestavili aparaturu, ki je prikazana na sliki 2-1 v poglavju 2.3.1. Nato smo v sušilniku posušili 8 celuloznih tulcev in jih stehtali. Vanje smo zatehtali po približno 3 g vsakega posušenega digestata (N SLA, N SIL, E SLA, E SIL, V SLA, V SIL, E+V SLA, E+V SIL). Stehtali smo še vate, s katerimi smo zatesnili tulce z materialom, da so bili pripravljene za ekstrakcijo. Tulce smo položili v Soxhletove ekstrakcijske aparate, v bučke pa nalili 400 mL etanola. Ekstrakcija je bila končana po 9 ciklih izpiranja.

Sledila je druga stopnja priprave digestatov brez ekstrahiranega materiala in sicer enourno kuhanje materiala v tulcih v destilirani vodi. Pripravili smo si osem litrskih čaš, jih primerno označili in napolnili z 800 mL destilirane vode. Tulce smo iz Soxhletovih ekstrakcijskih aparatov prenesli v čaše in jih postavili na peščeno kopel. Počakali smo, da voda zavre, in vse skupaj pustili kuhati še eno uro. Po končanem kuhanju smo tulce čez noč sušili pri temperaturi 105 °C. Skupaj z materialom in vato smo jih po sušenju stehtali. Iz razlike mas pred začetkom ekstrakcije in po končnem sušenju smo izračunali končno maso materiala, ki je ostal v tulcu.

2.5.2 Priprava digestatov za določitev vsebnosti kislinsko netopnega lignina in ogljikovih hidratov

Ko smo stehali 8 posušenih vzorcev, je sledilo dodajanje 72 % H_2SO_4 . Pripravili smo si 16 čaš prostornine 100 mL in jih primerno označili (za vsak vzorec smo analizo izvajali v dveh paralelkah). Nato je sledilo tehtanje. Za osnovo smo vzeli naslednje:

1 g materiala + 15 mL 72 % H_2SO_4

Najprej smo zatehtali material, nato dodali kislino. Zmes smo nato dobro premešali s stekleno palčko in postopek ponovili za preostale paralelke. Pripravljene vzorce smo skupaj s steklenimi palčkami, kot je vidno na sliki 2-5, pustili stati 2 dni.



Slika 2-5: Priprava raztopin za hidrolizo

Po dveh dneh smo si nato pripravili 16 čaš prostornine 1 L in jih primerno označili. Vzorce smo z izpiranjem z destilirano vodo prenesli v čaše in dodali še toliko destilirane vode, da smo dobili 3 % H_2SO_4 . Prostornine so podane v tabeli 3-10 v poglavju 3.5.2. Pripravljene raztopine smo postavili na peščeno kopel in počakali, da zavrejo. Vse skupaj smo nato kuhali 4 ure. Na sliki 2-6 je prikazano kuhanje raztopin na peščeni kopeli.



Slika 2-6: Kuhanje raztopin v destilirani vodi

2.5.3 Filtriranje, sušenje in tehtanje

Po 4 urah kuhanja smo počakali, da se raztopine ohladijo na sobno temperaturo. Medtem smo si pripravili 16 petrijevk in 16 filtrnih papirjev. Petrijevke in filtrne papirje, ki smo jih predhodno za 10 minut sušili v sušilniku, smo stekali. Sledilo je vakuumsko filtriranje, kot je vidno na sliki 2-7.



Slika 2-7: Filtriranje materiala

Vsak filter papir smo po končanem filtriranju skrbno preložili, postavili v pravilno označeno petrijevko in dali v sušilnik. Vseh 16 prefiltriranih vzorcev smo čez noč sušili na konstantni temperaturi 105 °C. Naslednji dan je sledilo tehtanje posušenega materiala. S pomočjo dobljenih mas smo lahko preračunali deleže ekstrahirane materiala, lignina ter ogljikovih hidratov, kar je podrobneje opisano v poglavju 3.5. Na sliki 2-8 je prikazan ostanek prefiltriranega materiala (kislinsko netopen lignin v digestatu) po sušenju.



Slika 2-8: Posušen preostanek prefiltriranega materiala

3 Meritve in izračuni

V nadaljevanju sledijo vse meritve, zatehte in izračuni, ki smo jih izvedli tekom eksperimentalnega dela. Paralelke so označene glede na vrsto materiala in vrsto predhodne obdelave na naslednji način:

- glede na vrsto materiala:
 - I inokulum,
 - G gnoj,
 - SLA slama,
 - SIL silaža.
- glede na vrsto predhodne obdelave:
 - N material brez predhodne obdelave,
 - E material s predobdelavo z etanolom,
 - V material s predobdelavo z destilirano vodo,
 - E+V material z dvostopenjsko predobdelavo z etanolom in destilirano vodo.

3.1 Vsebnost suhe snovi

Vsebnost suhega materiala smo izračunali po enačbi 3.1:

$$\omega = \frac{m_{sm+p} - m_p}{m_{mm}} \times 100 \quad (3.1)$$

kjer so:

ω – delež suhe snovi v materialu (%),

m_{sm+p} – masa suhega materiala s petrijevko (g),

m_p – masa petrijevke (g),

m_{mm} – masa mokrega materiala (g).

Povprečje paralelk smo izračunali po enačbi 3.2:

$$\bar{\omega} = \frac{\omega_1 + \omega_2 + \omega_3}{3} \quad (3.2)$$

kjer so:

$\bar{\omega}$ – povprečna vrednost deleža suhe snovi v materialu (%),

$\omega_1, \omega_2, \omega_3$ – delež suhe snovi za posamezno paralelko (%).

V tabeli 3-1 so podane vse zatehte, ki smo jih potrebovali za izračun.

Tabela 3-1: Zatehte za izračun vsebnosti suhe snovi

Paralelka	m_p (g)	m_{mm} (g)	m_{sm+p} (g)	m_{sm} (g)	ω (%)	ϖ (%)
I 1	51,559	12,253	52,364	0,805	6,57	6,55
I 2	48,266	12,690	49,095	0,829	6,53	
I 3	48,249	12,430	49,061	0,812	6,53	
G 1	59,394	3,003	60,241	0,847	28,21	29,71
G 2	55,491	3,015	56,482	0,991	32,87	
G 3	50,463	3,070	51,324	0,861	28,05	
SLA 1	50,606	2,094	52,531	1,925	91,93	91,90
SLA 2	50,949	2,071	52,855	1,906	92,03	
SLA 3	50,785	2,023	52,641	1,856	91,74	
SIL 1	59,528	3,063	60,321	0,793	25,89	27,62
SIL 2	55,806	3,021	56,739	0,933	30,88	
SIL 3	51,413	3,026	52,202	0,789	26,07	

kjer je simbol v tabeli 3-1:

m_{sm} – masa suhega materiala (g).

3.2 Dejanske zatehte za proces anaerobne digestije

Za material, ki ga nismo predobdelali (paralelke N), smo iz predhodno izračunanega deleža suhe snovi preračunali, koliko vsakega materiala je potrebno zatehtati za nastavitev procesa anaerobne digestije.

Za osnovo smo vzeli naslednje:

$$2 \text{ g I} + 1,4 \text{ g G} + 0,6 \text{ g SLA/SIL}$$

Zatehte so sledile enačbi 3.3:

$$m_m = \frac{m_o}{\omega} \times 100 \quad (3.3)$$

kjer sta:

m_m – masa materiala (I / G / SIL / SLA) (g),

m_o – osnovna masa materiala (g).

Tabela 3-2 prikazuje zatehte materialov glede na izračune.

Tabela 3-2: Izračunane zatehte za proces anaerobne digestije za mešanice brez predobdelave

Material	I	G	SIL	SLA
Izračunana masa (g)	30,581	4,712	2,173	0,653

Tabela 3-3 prikazuje dejanske zatehte materialov za proces anaerobne digestije.

Tabela 3-3: Dejanske zatehte za proces anaerobne digestije za mešanice brez predobdelave

Paralelka/material	I (g)	G (g)	SIL/SLA (g)
N SIL 1	30,626	4,709	2,176
N SIL 2	30,579	4,710	2,175
N SIL 3	30,585	4,733	2,171
N SLA 1	30,578	4,759	0,655
N SLA 2	30,586	4,707	0,652
N SLA 3	30,586	4,711	0,652

V tabeli 3-4 so prikazane zatehte materiala za predobdelavo (silaža, slama) in preostanek posušenega predobdelanega materiala. Zatehtali smo takšne količine vhodnega mokrega materiala, da smo imeli dovolj predobdelanega materiala za 3 paralelke.

Tabela 3-4: Vrednosti zatehtanega materiala za predobdelavo in posušenega ostanka brez ekstrahiranega materiala

Vzorec	E+V SIL	E+V SLA	E SIL	E SLA	V SIL	V SLA
m_z (g)	30,866	6,98	32,243	6,13	30,145	4,771
m_k (g)	8,141	5,582	7,762	5,256	8,319	4,190

kjer sta simbola v tabeli 3-4:

m_z – začetna masa mokrega (svežega) materiala pred predobdelavo (g),

m_k – končna masa posušenega predobdelanega materiala (g).

Z znanimi vrednostmi smo tako lahko izračunali delež materiala po predobdelavi v suhem vhodnem materialu. Izračun prikazuje enačba 3.4:

$$\omega_n = \frac{m_k}{m_z \times \varpi} \quad (3.4)$$

kjer je:

ω_n – delež lignocelulozne biomase brez ekstrahiranega materiala.

Za predobdelan material (paralelke E, E+V in V) smo nato iz predhodno izračunanega deleža suhe snovi preračunali, koliko vsakega materiala je potrebno zatehtati za nastavitev procesa anaerobne digestije.

Za osnovo smo vzeli naslednje:

$$2 \text{ g I} + 1,4 \text{ g G} + 0,6 \text{ g SLA/SIL}$$

Količina inokuluma in gnoja je ostala enaka kot pri zatehtah za mešanice brez predobdelave, saj inokuluma in gnoja nismo predobdelali, pri predobdelavi lignocelulozne biomase (koruzne slame in silaže) pa smo pri izračunih zateht upoštevali zmanjšanje mase pri predobdelavi. Pri mešanicah so se tako spremenile le zatehte slame in silaže. Zatehte za slamo in silažo (posušen material po predobdelavi) so sledile enačbi 3.5:

$$m_m = 0,6 \times \omega_n \quad (3.5)$$

Tabela 3-5 prikazuje zatehte materialov in deleže predobdelanih materialov brez ekstraktivov glede na izračune, tabela 3-6 pa prikazuje dejanske zatehte za nastavitev procesa anaerobne digestije.

Tabela 3-5: Izračunane zatehte in deleži predobdelanega materiala brez ekstraktivov za proces anaerobne digestije predobdelanega materiala

Vzorec/material	I (g)	G (g)	SIL/SLA (g)	ω_n
E SIL	30,581	4,712	0,523	0,87
E SLA	30,581	4,712	0,560	0,93
E+V SIL	30,581	4,712	0,573	0,96
E+V SLA	30,581	4,712	0,522	0,87
V SIL	30,581	4,712	0,590	0,99
V SLA	30,581	4,712	0,573	0,96

Tabela 3-6: Dejanske zatehte za proces anaerobne digestije predobdelanega materiala

Paralelka/material	I (g)	G (g)	SIL/SLA (g)
E SIL 1	30,58	4,757	0,53
E SIL 2	30,58	4,724	0,53
E SIL 3	30,59	4,694	0,52
E SLA 1	30,57	4,733	0,56
E SLA 2	30,57	4,703	0,56
E SLA 3	30,58	4,708	0,56
E+V SIL 1	30,58	4,713	0,57
E+V SIL 2	30,79	4,716	0,57
E+V SIL 3	30,58	4,708	0,57
E+V SLA 1	30,58	4,727	0,52
E+V SLA 2	30,59	4,746	0,53
E+V SLA 3	30,58	4,735	0,52
V SIL 1	31,17	4,719	0,59
V SIL 2	30,60	4,722	0,58
V SIL 3	30,58	4,701	0,60
V SLA 1	30,58	4,754	0,57
V SLA 2	30,59	4,706	0,58
V SLA 3	30,62	4,752	0,56

3.3 Merjenje prostornine bioplina

Proces anaerobne digestije smo pustili delovati 28 dni, vsak dan pa smo izmerili prostornino nastalega bioplina, kot je natančneje opisano v poglavju 2.4.1. Celotno prostornino bioplina nastalega procesa za povprečje paralelk iz vsakega sklopa prikazuje tabela 3-7.

Tabela 3-7: Povprečje celotne prostornine bioplina

Vzorec	V_b (mL)
N SIL	795
N SLA	824
E SIL	780
E SLA	722
E+V SIL	906
E+V SLA	785
V SIL	841
V SLA	618

kjer je:

V_b prostornina bioplina (mL).

Zaradi boljše preglednosti so meritve po dnevih prikazane v prilogi v poglavju 7.1.

3.4 Merjenje pH

Dvakrat tedensko smo izmerili tudi pH vrednosti. Meritve prikazuje tabela 3-8.

Tabela 3-8: Meritve pH vrednosti posameznih paralelk

Paralelka/pH	dan					
	6	9	13	16	19	22
N SIL 1	7,07	7,24	7,54	7,67	7,80	7,89
N SIL 2	7,02	7,10	7,45	7,62	7,85	7,87
N SIL 3	7,68	7,94	8,04	7,94	7,92	7,99
N SLA 1	6,95	7,09	7,43	7,50	7,75	7,94
N SLA 2	7,23	7,54	7,92	7,85	7,89	7,99
N SLA 3	7,38	7,59	7,99	7,94	7,94	7,99
E SIL 1	7,36	7,73	8,02	7,98	7,94	8,01
E SIL 2	7,17	7,07	7,24	7,36	7,59	7,89
E SIL 3	6,95	6,88	7,28	7,34	7,59	7,94
E SLA 1	7,10	7,00	7,38	7,46	7,67	7,90
E SLA 2	7,40	7,57	7,99	7,85	7,94	8,01
E SLA 3	7,09	7,07	7,26	7,34	7,41	7,76

Tabela 3-8: Meritve pH vrednosti posameznih paralelk - nadaljevanje

Paralelka/pH	dan					
	6	9	13	16	19	22
E+V SIL 1	7,03	7,02	7,31	7,45	7,75	7,98
E+V SIL 2	7,24	7,62	8,04	7,89	7,90	8,01
E+V SIL 3	7,40	7,78	8,08	7,89	7,94	8,03
E+V SLA 1	7,38	7,73	8,09	7,94	7,99	8,05
E+V SLA 2	7,50	7,78	8,09	7,96	7,98	7,99
E+V SLA 3	7,26	6,90	7,23	7,14	7,43	7,66
V SIL 1	7,14	7,17	7,29	7,55	7,64	7,83
V SIL 2	7,40	7,82	8,09	7,99	8,03	8,05
V SIL 3	7,52	7,80	8,06	7,94	7,94	7,99
V SLA 1	7,35	7,59	7,97	7,92	7,82	7,94
V SLA 2	7,24	7,26	7,50	7,60	7,59	7,78
V SLA 3	7,28	7,21	7,31	7,43	7,55	7,80

3.5 Meritve po končanem procesu anaerobne digestije

V tem podpoglavju so podane vse meritve in izračuni, ki smo jih izvedli po končanem procesu anaerobne digestije. V digestatih smo določili vsebnosti ekstrahirane materiala, ogljikovih hidratov in lignina.

3.5.1 Določanje vsebnosti ekstrahirane materiala v digestatih

Po končanem procesu anaerobne digestije smo presnovljene mešanice (digestate) iz erlenmajeric prenesli v predhodno stehane petrijevke in jih sušili čez noč pri temperaturi 105 °C. Po tri paralelke smo združili in jih uporabili za ekstrakcijo z etanolom in kuhanje v vroči destilirani vodi.

V tabeli 3-9 so prikazane mase posušenih presnovljenih mešanic, katere smo uporabili za ekstrakcijo ter njihove mase po končani ekstrakciji z etanolom in kuhanju v vroči vodi (mase digestatov brez ekstrahirane materiala).

Tabela 3-9: Zatehte digestata za določevanje deleža ekstrahirane materiala

Vzorec	m_{ze} (g)	m_{ke} (g)
N SIL	3,230	1,721
N SLA	3,047	1,719
E SIL	3,255	2,008
E SLA	3,299	2,021
E+V SIL	3,294	1,891
E+V SLA	3,112	1,944
V SIL	3,363	1,782
V SLA	3,302	1,954

kjer so v tabeli 3-9 uporabljeni simboli:

m_{ze} – začetna masa materiala za ekstrakcijo (g),

m_{ke} – končna masa posušenega materiala brez ekstraktivov (g).

Maso ekstrahiranega materiala smo izračunali po enačbi 3.6.

$$m_e = m_{ze} - m_{ke} \quad (3.6)$$

kjer je:

m_e – masa ekstrahiranega materiala (g).

Nato smo delež ekstrahiranega materiala izračunali po enačbi 3.7.

$$\omega_e = \frac{m_e}{m_{ze}} \times 100 \quad (3.7)$$


kjer je:

ω_e – delež ekstrahiranega materiala (%).

3.5.2 Določanje vsebnosti ogljikovih hidratov in kislinsko netopnega lignina v digestatih

Vsak digestat brez ekstrahiranega materiala smo za določanje vsebnosti ogljikovih hidratov in kislinsko netopnega lignina razdelili v dve paralelki. V tabeli 3-10 so prikazane zatehte materiala za hidrolizo. V prvih dveh stolpcih so prikazane zatehte za hidrolizo s koncentrirano H_2SO_4 (masa vhodnega materiala za hidrolizo in dodatek 72 % H_2SO_4), v zadnjem stolpcu pa je prikazana prostornina dodane destilirane vode za hidrolizo z razredčeno H_2SO_4 (3 % H_2SO_4). V prvi stopnji je hidroliza potekala 2 dni, v drugi stopnji pa smo omenjeno raztopino kuhali 4 ure.

Tabela 3-10: Zatehte materiala za hidrolizo

		72% 	3%
paralelka	m_{mh} (g)	$V_{H_2SO_4}$ (mL)	$V_{dest.v}$ (mL)
N SIL 1	0,909	13,5	518,971
N SIL 2	0,805	12	461,308
N SLA 1	0,808	12	461,308
N SLA 2	0,907	13,5	518,971
E SIL 1	1,003	15	576,634
E SIL 2	0,901	13,5	518,971
E SLA 1	1,003	15	576,634
E SLA 2	1,008	15	576,634
E+V SIL 1	0,905	13,5	518,971
E+V SIL 2	0,901	13,5	518,971
E+V SLA 1	1,001	15	576,634
E+V SLA 2	0,910	13,5	518,971
V SIL 1	0,810	12	461,308
V SIL 2	0,906	13,5	518,971
V SLA 1	1,005	15	576,634
V SLA 2	0,908	13,5	518,971

kjer so simboli v tabeli 3-10:

m_{mh} – masa materiala za hidrolizo (g),

$V_{H_2SO_4}$ – prostornina H_2SO_4 (mL),

$V_{dest.v.}$ – prostornina destilirane vode (mL).

3.5.3 Vsebnosti ekstrahiranega materiala, ogljikovih hidratov in kislinsko netopnega lignina

Za izračun deleža lignina in deleža ogljikovih hidratov smo najprej izračunali faktor, kateri predstavlja razmerje med količino materiala brez ekstraktivov in količino materiala, ki smo ga uporabili za hidrolizo. Faktor smo dobili tako, da smo najprej izračunali vsote za posamezne paralelke zateht materiala za hidrolizo m_{mh} po enačbi 3.8.

$$m_{mh\ vsota} = m_{mh_1} + m_{mh_2} \quad (3.8)$$

kjer so:

$m_{mh\ vsota}$ – vsota zateht materiala za hidrolizo (g),

m_{mh_1} , m_{mh_2} – vrednost zateht materiala za hidrolizo za posamezno paralelko (g).

Faktor smo nato izračunali po enačbi 3.9:

$$f = \frac{m_{ke}}{m_{mh\ vsota}} \quad (3.9)$$

kjer je:

f – faktor, ki predstavlja razmerje med količino materiala brez ekstraktivov in količino materiala, ki smo ga uporabili za hidrolizo.

Nato smo sešteli mase lignina enakih paralelk, kar prikazuje enačba 3.10.

$$m_{L\ vsota} = (m_{L_1} + m_{L_2}) \times f \quad (3.10)$$

kjer so:

$m_{L\ vsota}$ – vsota mas lignina (g),

m_{L_1} , m_{L_2} – vrednost mas lignina za posamezno paralelko (g).

Delež lignina smo nato izračunali po enačbi 3.11:

$$\omega_L = \frac{m_{L\ vsota}}{m_{ze}} \times 100 \quad (3.11)$$

kjer je:

ω_L – delež lignina (%).

Nato smo izračunali maso ogljikovih hidratov po enačbi 3.12.

$$m_{OH} = m_{mh} - m_L \quad (3.12)$$

kjer sta:

m_{OH} – masa ogljikovih hidratov (g),

m_L – masa lignina (g).

Vsoto ogljikovih hidratov za posamezne paralelke smo izračunali po enačbi 3.13:

$$m_{OH\ vsota} = (m_{OH_1} + m_{OH_2}) \times f \quad (3.13)$$

kjer so:

$m_{OH\ vsota}$ – vsota mas ogljikovih hidratov (g),

m_{OH_1}, m_{OH_2} – vrednost mas ogljikovih hidratov za posamezno paralelko (g).

Delež ogljikovih hidratov smo nato izračunali z enačbo 3.14:

$$\omega_{OH} = \frac{m_{OH\ vsota}}{m_{ze}} \times 100 \quad (3.14)$$

kjer je:

ω_{OH} – delež ogljikovih hidratov (%).

Tabela 3-11 prikazuje mase in deleže ekstrahiranega materiala, lignina in ogljikovih hidratov za posamezna povprečja paralelk.

Tabela 3-11: Mase in deleži ekstrahiranega materiala, lignina in ogljikovih hidratov

Vzorec	m_e (g)	ω_e (%)	$m_L\ vsota$ (g)	ω_L (%)	$m_{OH\ vsota}$ (g)	ω_{OH} (%)
N SIL	1,509	46,72	0,417	12,90	1,304	40,38
N SLA	1,328	43,58	0,457	15,00	1,262	41,42
E SIL	1,247	38,31	0,477	14,65	1,531	47,05
E SLA	1,278	38,74	0,497	15,08	1,524	46,18
E+V SIL	1,403	42,59	0,457	13,86	1,434	43,55
E+V SLA	1,168	37,53	0,473	15,20	1,471	47,27
V SIL	1,581	47,01	0,487	14,48	1,295	38,51
V SLA	1,348	40,82	0,510	15,44	1,444	43,74

4 Rezultati in diskusija

V tem poglavju so podani rezultati meritev prostornine bioplina, pH vrednosti ter količin Klasonovih komponent v presnovljenih digestatih v grafični obliki, zraven pa je dodana diskusija. Zaradi boljše preglednosti, so rezultati za kumulativne prostornine in pH prikazani posebej za mešanice brez predobdelave ter za posamezne predobdelane mešanice za vsak sklop predhodne obdelave posebej, torej za predobdelan material i) z etanolom, ii) z etanolom in destilirano vodo ter iii) z destilirano vodo.

4.1 Prostornina bioplina

Potek dela glede merjenja prostornine bioplina je podrobneje opisan v poglavju 2.4.1, dnevne meritve pa so prikazane v prilogi 1 v poglavju 7.1. Povprečna končna prostornina nastalega bioplina je v tabelarični obliki prikazana v poglavju 3.3, v tem razdelku pa smo se zaradi boljše preglednosti odločili za prikaz rezultatov v grafični obliki.

Diagram 4-1 prikazuje nastajanje bioplina po dnevih za posamezna povprečja mešanic.

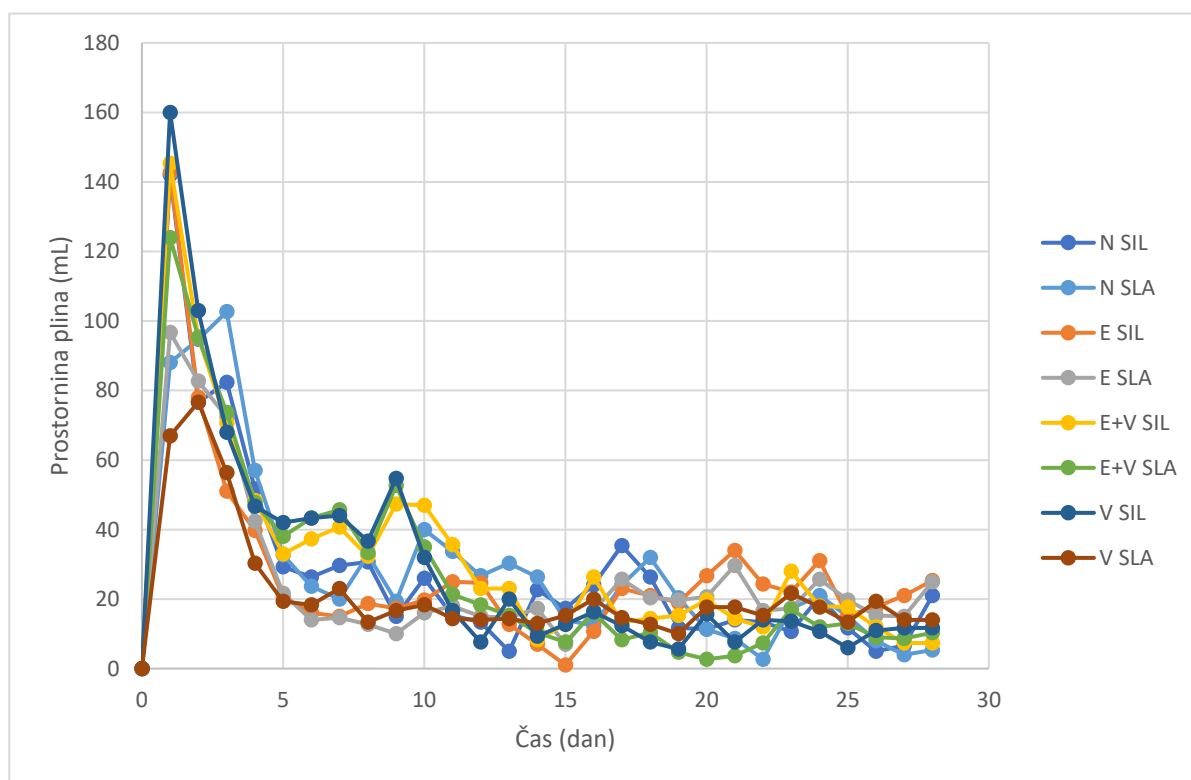


Diagram 4-1: Prostornina bioplina po dnevih

Iz diagrama je razvidno, da je največ bioplina nastajalo v prvih dnevih delovanja procesa anaerobne digestije. Po petem dnevu se je proces nastajanja počasi ustalil, vse do zadnjih dni, ko bioplin ni več nastajal.

Diagrami 4-2 do 4-5 v nadaljevanju prikazujejo kumulativne prostornine za predhodno neobdelane mešanice ter za mešanice s predobdelavo lignocelulozne biomase.

Diagram 4-2 prikazuje kumulativno prostornino nastalega bioplina v časovnem obdobju za mešanice brez predhodne obdelave.

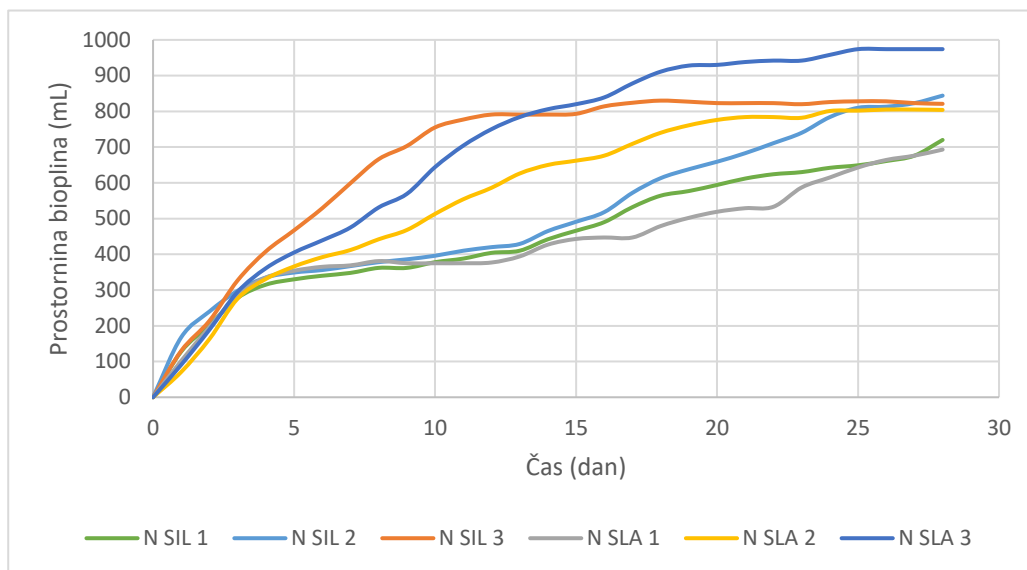


Diagram 4-2: Kumulativna prostornina bioplina v odvisnosti od časa za predhodno neobdelane mešanice

Iz diagrama je razvidno, da je največ bioplina nastalo pri tretji paralelki s substratom slamo (N SLA 3). Sledi ji druga paralelka s silažo (N SIL 2). Najmanj bioplina je nastalo pri prvi paralelki slame (N SLA 1). Do razlik v nastali količini bioplina pri slami je lahko prišlo zaradi različne velikosti delcev, ki smo jih zatehtali v erlenmajerice za proces anaerobne digestije. Vidimo tudi, da so veliko večja odstopanja pri slami v primerjavi s silažo.

Diagram 4-3 prikazuje odvisnost kumulativne prostornine nastalega bioplina od časa trajanja procesa anaerobne digestije za mešanice, kjer smo material, torej slamo in silažo, predobdelali z organskim topilom (etanolum).

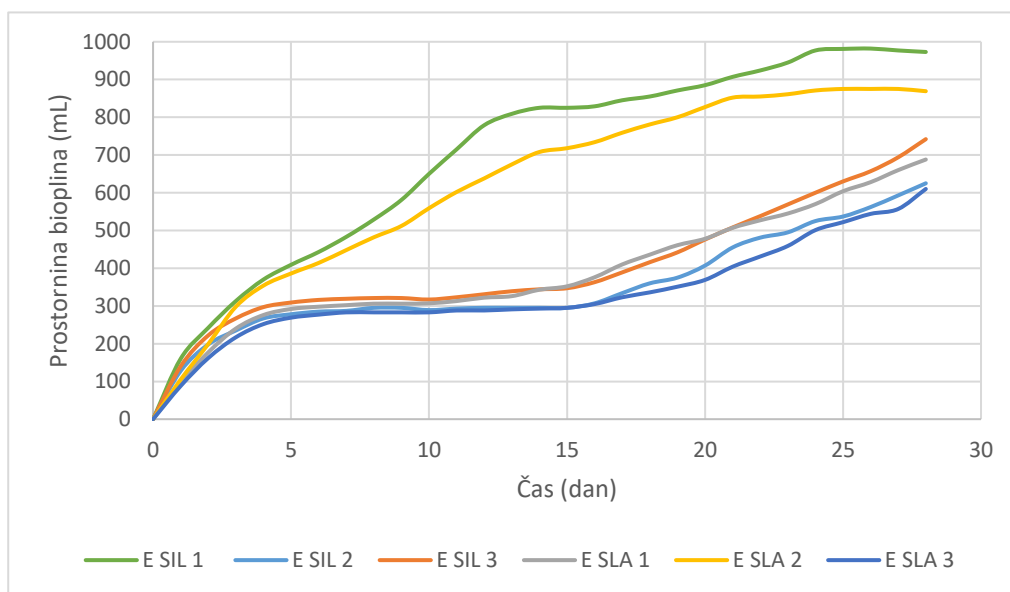


Diagram 4-3: Kumulativna prostornina bioplina v odvisnosti od časa za mešanice s predobdelavo lignoceluloze z etanolom

Pri predhodni ekstrakciji z etanolom se je izkazalo, da je največ bioplina nastalo pri prvi paralelki mešanice s silažo (E SIL 1), najmanj bioplina pa je nastalo pri tretji paralelki mešanice s slamo (E SLA 3).

Diagram 4-4 prikazuje kumulativno prostornino nastalega bioplina v odvisnosti od časa za mešanice, kjer smo slamo in silažo najprej ekstrahirali z etanolom v prvi stopnji in nato še z vročo destilirano vodo v drugi stopnji.

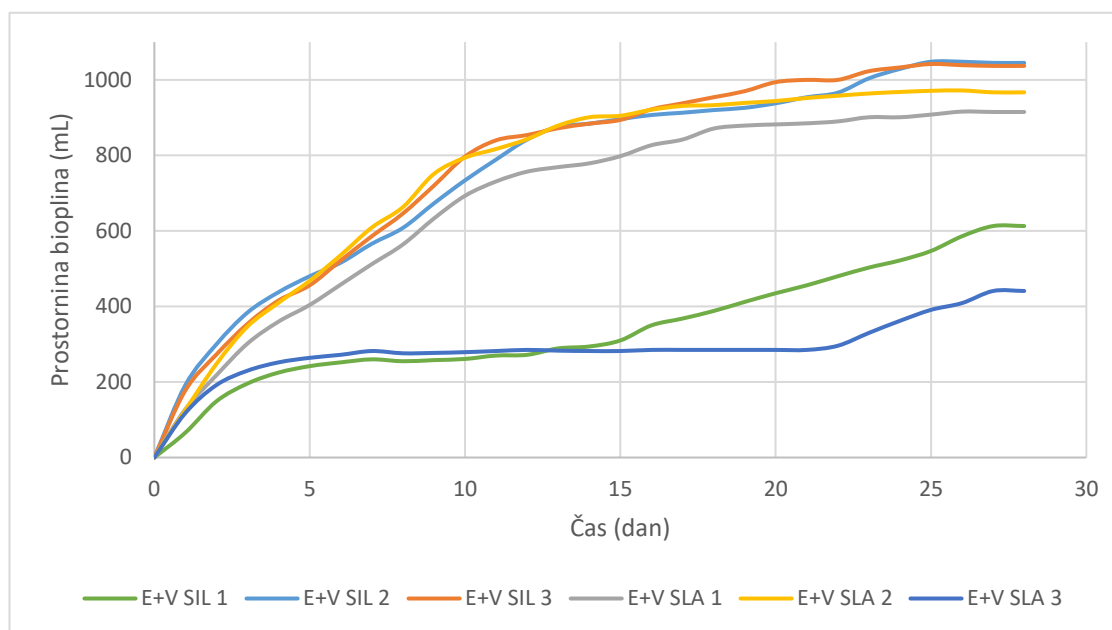


Diagram 4-4: Kumulativna prostornina bioplina v odvisnosti od časa za mešanice s predobdelavo lignoceluloze z etanolom in vročo destilirano vodo

V tem primeru smo dobili najboljše rezultate z vidika nastalega bioplina, ki jih je dala druga paralelka mešanice, kjer je bila prisotna silaža (E+V SIL 2), sledi ji tretja paralelka, prav tako s silažo (E+V SIL 3). Najmanj bioplina v primeru dvostopenjske predobdelave pa je nastalo pri tretji paralelki slame (E+V SLA 3). Dvostopenjska predobdelava se je izkazala za dobro odločitev z vidika količine nastalega bioplina. Dodatna izpostavitve visokim temperaturam v drugi stopnji kuhanja v vroči vodi je dodatno zmanjšala vsebnost ekstraktivov v materialu in tako pospešila nastanek in delovanje anaerobnih mikroorganizmov, ki so pomembni za proizvodnjo bioplina med procesom anaerobne digestije [14].

Kumulativno prostornino nastalega bioplina tekom procesa anaerobne digestije za mešanice, kjer smo slamo oz. silažo predobdelali z destilirano vodo prikazuje diagram 4-5.

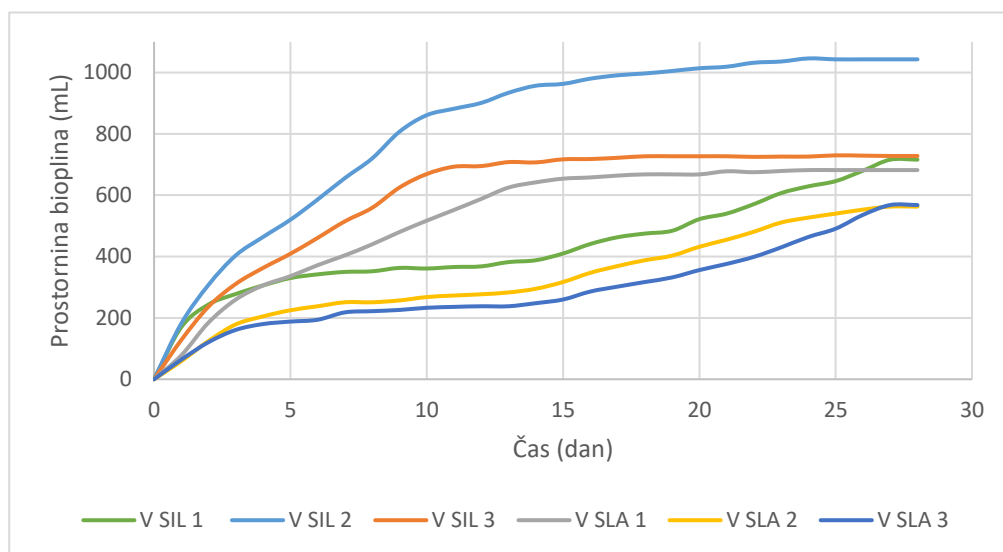


Diagram 4-5: Kumulativna prostornina bioplina v odvisnosti od časa za mešanice s predobdelavo lignoceluloze z vročo destilirano vodo

Največ bioplina je nastalo pri drugi paralelki, kjer je mešanica vsebovala predobdelano silažo z vročo destilirano vodo (V SIL 2). Nastajanje bioplina je v tem primeru ves čas procesa eksponentno naraščalo, dokler se proces ni zaključil. S kar nekaj mililitri nastalega bioplina manj sledi prva paralelka s silažo (V SIL 1), najmanj bioplina pa je nastalo pri drugi paralelki s slamo (V SLA 2).

Diagram 4-6 prikazuje povprečno končno prostornino nastalega bioplina za vse sklope mešanic. Dodatno so iz diagrama razvidna odstopanja med paralelkami za vse mešanice.

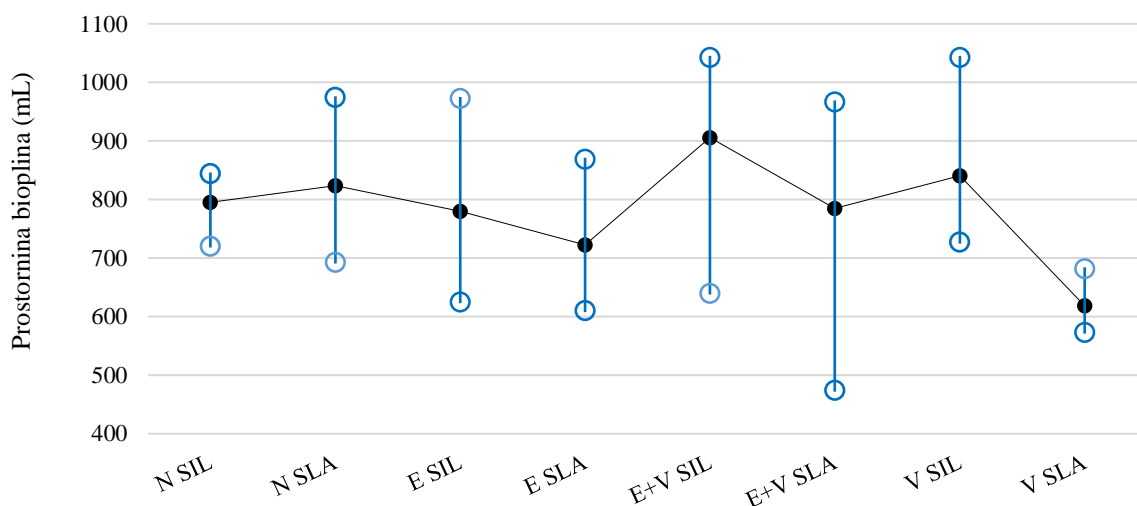


Diagram 4-6: Povprečna končna prostornina bioplina

Iz diagrama je razvidno, da je največ bioplina nastalo pri predobdelani silaži z etanolom in destilirano vodo (E+V SIL), sledi pa ji paralelka s predhodno ekstrahirano silažo z destilirano

vodo (V SIL). Zanimivo, da je po drugi strani najmanj bioplina nastalo pri paralelkah, pri katerih smo slamo predhodno ekstrahirali z destilirano vodo. Razvidno je, da je izbira substrata še kako pomembna pri proizvodnji bioplina, saj se v našem primeru silaža in slama obnašata popolnoma drugače. Substrat mora biti v prvi vrsti bogat z ogljikovimi hidrati, vsebovati pa mora čim manj materiala, ki se s topili ekstrahira [15].

V našem primeru se je silaža v vseh primerih predobdelave, torej z i) etanolom, ii) vročo destilirano vodo ter iii) etanolom in vročo destilirano vodo, izkazala za boljšo izbiro kot slama. Slama se je že v preteklih raziskavah izkazala za slabo izbiro z vidika predobdelave, kar so dokazali že v primeru biološke predobdelave [16]. Predobdelava slame namreč ne pripomore k povečani proizvodnji bioplina.

Po drugi strani pa predobdelava silaže močno izboljša proizvodnjo bioplina. Predvsem v primeru kombinirane predobdelave z organskim topilom in vročo destilirano vodo (paralelka E+V SIL), se je proizvodnja bioplina v primerjavi s silažo, ki je nismo predhodno ekstrahirali (paralelka N SIL), povečala za 14 %.

4.2 Vrednost pH

Potek dela glede pH vrednosti posameznih paralelek je podrobneje opisan v poglavju 2.4.2, meritve pa so prikazane v poglavju 3.4. V tem razdelku pa smo se zaradi boljše preglednosti odločili za prikaz rezultatov meritev pH vrednosti v grafični obliki.

Diagram 4-7 prikazuje pH v odvisnosti od časa za a) neobdelane mešanice ter mešanice s predobdelavo lignoceluloze z b) etanolom, c) etanolom in destilirano vodo in d) destilirano vodo.

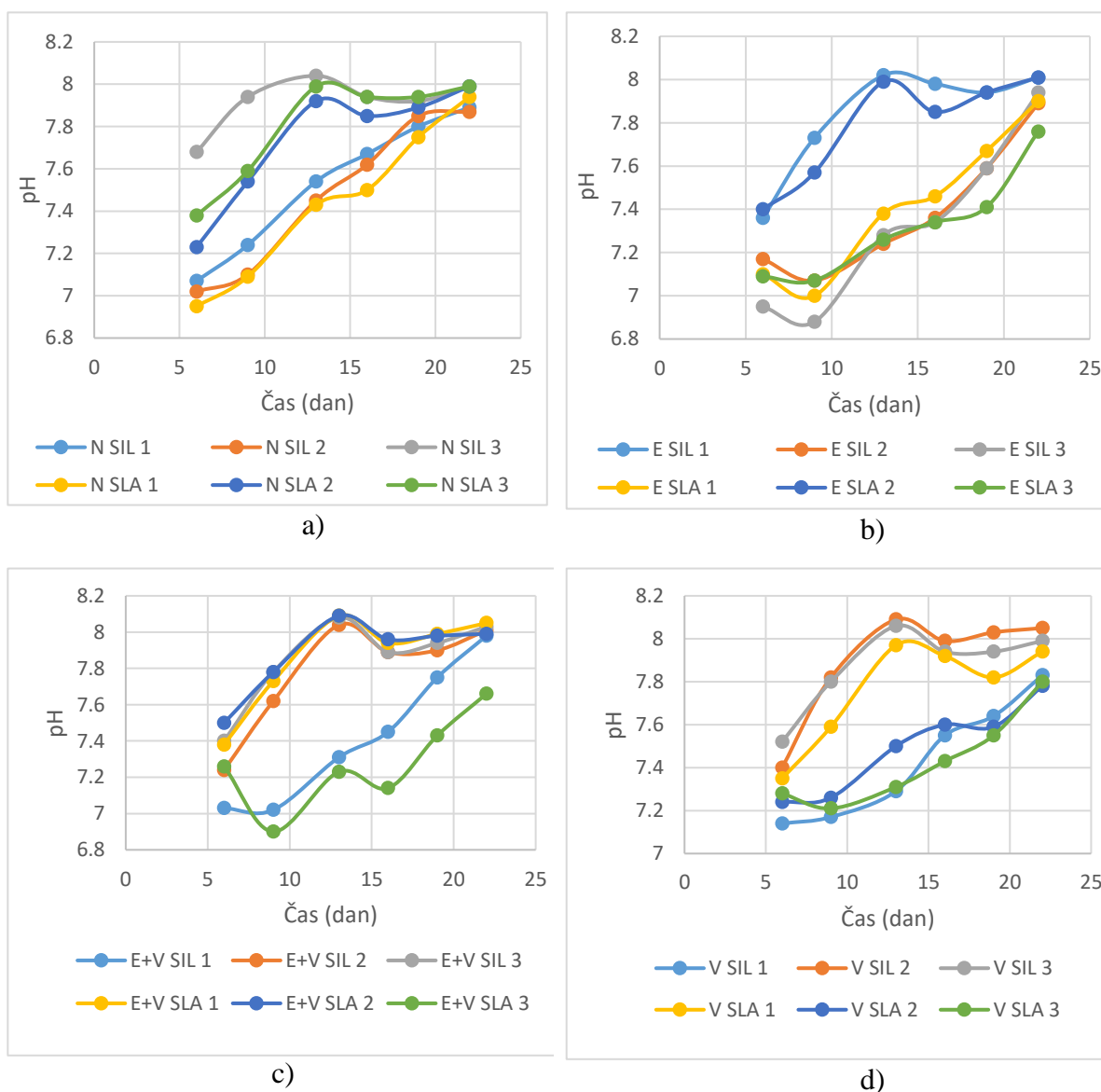


Diagram 4-7: pH v odvisnosti od časa za a) mešanice brez predobdelave ter mešanice s predobdelanim lignoceluloznim materialom z b) etanolom, c) etanolom in destilirano vodo, d) destilirano vodo

V vseh primerih je bila pH vrednost v optimalnem območju, kar je za proces anaerobne digestije med 6,5 in 8. Če pH vrednosti ne bi dosegale omenjenega območja ali bi ga celo presegle, bi lahko prišlo do oviranja procesa anaerobne digestije, saj ima omenjen parameter v procesu anaerobne digestije pomembno vlogo, predvsem vpliva na rast anaerobnih organizmov ter končno razgradnjo snovi [17].

4.3 Deleži Klasonovih komponent po anaerobni digestiji

Po končanem procesu anaerobne digestije smo v digestatih določili vsebnosti ekstrahirane materiala, ogljikovih hidratov in lignina. Opis dela je podrobneje opisan v poglavju 2.5, izračuni pa v poglavju 3.5. Deleže Klasonovih komponent (ekstrahirane materiala, ogljikovih hidratov in lignina) smo v tem poglavju prikazali v grafični obliki.

Diagram 4-7 prikazuje deleže ekstrahirane materiala, lignina in ogljikovih hidratov po procesu anaerobne digestije.

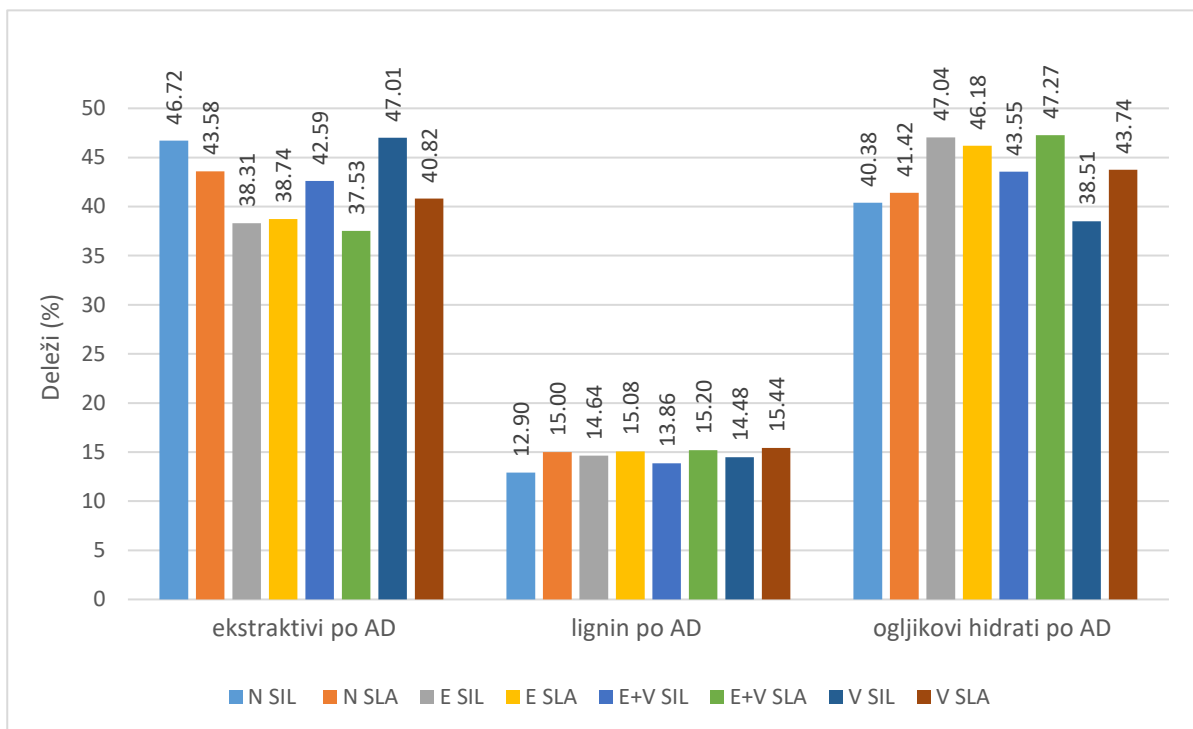


Diagram 4-8: Deleži Klasonovih komponent v presnovljenem digestatu

Iz grafa je razvidno, da v digestatih v primeru vseh paralelk prevladujejo predvsem deleži ekstraktivov in ogljikovih hidratov, lignina pa je bistveno manj. Pri paralelkah brez predobdelave (N SIL in N SLA) je več ekstraktivov kot ogljikovih hidratov. Pri E in E+V sklopih predobdelanih paralelk pa vidimo, da je ekstraktivov nekoliko manj kot ogljikovih hidratov, kar se je dalo predvidevati. Zanimivo pa je, da je vsebnost ekstraktivov pri predobdelani silaži z vodo (V SIL) večja kot vsebnost ogljikovih hidratov. Razlog je morda v tem, da se z vodo ekstrahirajo sladkorji in škrob. Sicer pa med digestati ni večje razlike v deležih glede na predobdelavo.

Z vidika donosnosti bioplina predvidevamo, da bi bilo najbolje, da bi se v mešanicah popolnoma znebili ekstraktivov, saj ne bi bilo motečih snovi za delovanje mikroorganizmov v procesu anaerobne digestije. Na žalost pa slednje ni mogoče, saj smo v našem primeru predobdelali le majhen del substrata (SIL ali SLA) glede na celotno zatehto posameznih mešanic - le 15 % materiala. Inokuluma in gnoja nismo predobdelali, saj bi s tem uničili bakterije v njih in posledično proces ne bi potekal.

5 Zaključek

Cilj diplomske naloge je bil ugotoviti, kako predobdelava vpliva na donos bioplina tekom procesa anaerobne digestije, in dobljene rezultate primerjati z donosi, kjer materiala nismo predhodno obdelali.

Kot postopek predobdelave smo se med vsemi možnostmi odločili za naslednje:

- kemijsko predobdelavo z organskim topilom,
- fizikalno-kemijsko predobdelavo z vročo vodo in
- kombinacijo obeh, torej predobdelavo z organskim topilom v prvi stopnji in kuhanjem materiala v vroči vodi v drugi stopnji.

Izkazalo se je, da predobdelava ugodno vpliva na rezultate z vidika nastale prostornine bioplina. Največ bioplina je nastalo pri paralelki E+V SIL, kjer smo silažo najprej ekstrahirali z etanolom v Soxhletovem ekstraktorju in nato še kuhali v vroči vodi na peščeni kopeli. Kombinacija kemijske in fizikalno-kemijske predobdelave se je izkazala za najboljšo, saj je v primerjavi s paralelko N SIL, kjer silaže nismo predobdelali, nastalo približno 14 % več bioplina.

Ugotovili smo tudi, da je izbira substrata za proces anaerobne digestije zelo pomembna. Med slamo in silažo, ki smo jih kot substrata analizirali, se je silaža v vseh primerih predobdelave izkazala za boljšo izbiro. Slama se je tako v našem primeru, kot tudi v preteklih raziskavah izkazala za neugoden substrat z vidika predobdelave [16].

Med samim procesom anaerobne digestije smo spremljali kako se spreminja pH. Meritve so se izkazale za pravilne, saj so bile v vseh sklopih nastavljenih mešanic v optimalnem območju med 6,5 in 8 [17].

Glede deležev Klasonovih komponent, ki smo jih določali po končanem procesu anaerobne digestije, smo ugotovili, da v digestatih prevladujejo ekstraktivi in ogljikovi hidrati, nekoliko manj pa je lignina, sicer pa se ne opazi bistvene razlike med deleži glede na vrsto predobdelave.

Rezultati so delno potrdili naše predvidevanje, da bodo mešanice s predobdelanimi lignoceluloznimi materiali dale boljše rezultate z vidika nastalega bioplina. Z vidika silaže se je predobdelava izkazala za uspešno, z vidika slame pa predobdelava ni smiselna oz. celo daje slabše rezultate.

V bodoče bi bilo zanimivo analizirati mešanice s silažo, kjer bi substrat predobdelali z vročo destilirano vodo (alternativno V SIL). Silažo bi lahko v vroči destilirani vodi kuhali različno dolgo ter pri različnih temperaturah. Donose bioplina po končanem procesu anaerobne digestije bi nato primerjali z rezultati, ki smo jih dobili tekom diplomske naloge. Paralelka V SIL se je namreč uvrstila na drugo mesto po količini nastalega bioplina takoj za E+V SIL, zato je smiselno raziskati, kako fizikalno-kemijska predobdelava z vročo vodo vpliva na proizvodnjo bioplina.

Vzporedno bi bilo zanimivo testirati tudi kakšen drug postopek predobdelave, na primer fizikalno-kemijsko parno eksplozijo, da bi se prepričali ali je povišana temperatura razlog za boljše rezultate z vidika bioplina.

6 Literatura

- [1] Kim D. Physico-chemical conversion of lignocellulose: Inhibitor effects and detoxification strategies: A mini review. *Molecules* 2018;23. doi:10.3390/molecules23020309.
- [2] Kumar P, Kumar P, Barrett DM, Barrett DM, Delwiche MJ, Stroeve P. Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production. *Ind Eng Chem* 2009;48:3713–29. doi:10.1021/ie801542g.
- [3] Kumar AK, Sharma S. Recent updates on different methods of pretreatment of lignocellulosic feedstocks: a review. *Bioresour Bioprocess* 2017;4:7. doi:10.1186/s40643-017-0137-9.
- [4] Karimi K, Taherzadeh MJ. A critical review of analytical methods in pretreatment of lignocelluloses: Composition, imaging, and crystallinity. *Bioresour Technol* 2016;200:1008–18. doi:10.1016/j.biortech.2015.11.022.
- [5] Šut Ž. Proizvodnja bioplina s sosubstratom koruzno slamo, diplomsko delo. Univerza v Mariboru, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, 2016.
- [6] Cizl J., Čuček L., Pohleven F., Islamčević Razboršek M. GA. Biološka predobdelava lignoceluloznih materialov z glivami bele trohnobe, prispevek na konferenci Slovenski kemijski dnevi, Portorož 2017.
- [7] Ross-Sutherland NJ. Preparation of wood and chemical analysis. *Revis T* 264 C 2007.
- [8] Li M, Cao S, Meng X, Studer M, Wyman CE, Ragauskas AJ, et al. The effect of liquid hot water pretreatment on the chemical-structural alteration and the reduced recalcitrance in poplar. *Biotechnol Biofuels* 2017;10:1–13. doi:10.1186/s13068-017-0926-6.
- [9] Al Seadi T, Rutz D, Prassl H, Köttner M, Finsterwalder T, Volk S, Janssen R, Grmek M, Vertin K, Blaznik I, Jereb J, Domjan S. Priročnik o bioplinu. https://www.big-east.eu/downloads/fr-reports/ANNEX%203-22_WP4_D4.2_Handbook-Slovenia.pdf (dostop: 2.9.2018)
- [10] Sveta U. Direktiva 2009/32/ES Evropskega parlamenta in sveta z dne 23. aprila 2009 o približevanju zakonodaj držav članic na področju ekstrakcijskih topil, ki se uporabljajo pri proizvodnji živil in njihovih sestavin (prenovitev). 2005;80:1–11. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/PDF/?uri=CELEX:02009L0032-20100916&from=EN> (dostop 21.8.2018).
- [11] Parra-Orobio BA, Donoso-Bravo A, Ruiz-Sánchez JC, Valencia-Molina KJ, Torres-Lozada P. Effect of inoculum on the anaerobic digestion of food waste accounting for the concentration of trace elements. *Waste Manag* 2018;71:342–9. doi:10.1016/j.wasman.2017.09.040.
- [12] Ali Shah, F., Mahmood, Q., Maroof Shah, M., Pervez, A., Ahmad Asad S. Microbial Ecology of Anaerobic Digesters: The Key Players of Anaerobiosis. *Sci World Journal*, 2014;183752:doi:10.1155/2014/183752.
- [13] Smonkar B. Vpliv dejavnikov na spreminjanje pH vrednosti v procesu anaerobne digestije, diplomsko delo. Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru, 2017.
- [14] Gerardi MH. The microbiology of anaerobic digesters. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 2003.
- [15] Palmowski LM, Müller JA. Influence of the size reduction of organic waste on their

- anaerobic digestion. *Water Sci Technol* 2000;41:155–62. doi:10.2166/wst.2000.0067.
- [16] Makovec M. Vpliv predobdelave piščančje stelje z glivami na proizvodnjo bioplina. Univerza v Mariboru, 2018 (neobjavljeno).
- [17] Jarc A. Vpliv glivne razgradnje piščančjega gnoja na rast bakterij in produkcijo bioplina, diplomsko delo. Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, 2016.

7 Priloge

7.1 Priloga 1

V tabeli 7-1 so podatki o nastajanju bioplina po dnevih.

Tabela 7-1: Prostornina nastalega bioplina po dnevih (neobdelane mešanice)

dan/paralelka	N SIL 1	N SIL 2	N SIL 3	N SLA 1	N SLA 2	N SLA 3
1	128	168	130	102	71	91
2	74	72	84	94	92	98
3	76	58	113	89	113	106
4	37	37	81	50	55	66
5	15	14	59	19	35	44
6	10	7	62	11	26	34
7	8	11	70	4	20	36
8	14	11	67	12	30	56
9	0	8	37	-6	26	38
10	16	10	52	0	45	75
11	10	14	22	0	41	60
12	16	10	14	2	32	46
13	6	9	0	17	40	34
14	32	36	0	33	24	22
15	24	26	2	16	12	14
16	24	27	21	4	14	19
17	42	54	10	0	33	39
18	32	41	6	32	31	33
19	13	25	-3	23	21	17
20	17	21	-4	17	15	2
21	18	24	0	10	8	8
22	12	28	0	4	0	4
23	6	29	-3	54	-2	0
24	12	44	6	28	19	16
25	7	26	2	28	1	16
26	12	3	0	21	3	0
27	15	10	-5	12	0	0
28	44	21	-2	17	-1	0

Tabela 7-1: Prostornina nastalega bioplina po dnevih – nadaljevanje (predobdelane mešanice z etanolom)

dan/paralelka	E SIL 1	E SIL 2	E SIL 3	E SLA 1	E SLA 2	E SLA 3
1	160	128	140	97	105	88
2	82	70	82	80	94	74
3	71	37	45	63	99	55
4	57	32	30	36	56	35
5	39	11	12	16	32	17
6	34	7	7	6	28	8
7	40	2	3	4	34	6
8	46	8	2	4	34	0
9	52	0	0	0	30	0
10	69	-6	-4	1	47	0
11	65	4	6	6	43	5
12	64	2	8	9	36	0
13	30	0	8	4	37	3
14	16	0	5	17	33	2
15	0	0	3	9	10	2
16	4	12	16	24	16	10
17	16	27	26	34	25	18
18	10	26	27	26	22	13
19	16	15	26	25	19	15
20	14	32	34	17	27	18
21	22	48	32	29	25	35
22	17	26	30	20	3	27
23	21	14	31	18	6	28
24	32	30	31	25	10	42
25	4	12	30	34	4	21
26	1	25	27	24	0	22
27	-5	31	37	32	0	13
28	-4	32	48	28	-6	53

Tabela 7-1: Prostornina nastalega bioplina po dnevih – nadaljevanje (predobdelane mešanice z etanolom in destilirano vodo)

dan/paralelka	E+V SIL 1	E+V SIL 2	E+V SIL 3	E+V SLA 1	E+V SLA 2	E+V SLA 3
1	66	192	178	128	126	118
2	83	108	95	90	122	74
3	47	84	81	84	99	38
4	29	54	62	58	63	22
5	17	42	40	44	58	12
6	10	36	66	54	68	8
7	8	50	64	54	73	10
8	-5	42	60	52	54	-6
9	3	65	74	69	88	1
10	3	61	77	60	43	2
11	9	55	43	38	23	3
12	2	53	14	26	26	3
13	17	34	18	12	36	-2
14	5	8	12	10	22	-1
15	16	12	10	19	4	0
16	40	11	28	29	16	3
17	18	6	16	15	10	0
18	20	7	16	29	2	0
19	24	6	16	8	6	0
20	23	12	24	3	5	0
21	21	16	6	3	8	0
22	24	12	0	5	6	11
23	23	38	23	11	6	34
24	19	25	10	0	4	32
25	25	19	9	7	3	29
26	39	0	-3	8	1	18
27	27	-3	-2	-1	-5	32
28	27	-2	-3	-2	0	33

Tabela 7-1: Prostornina nastalega bioplina po dnevih – nadaljevanje (predobdelane mešanice z destilirano vodo)

dan/paralelka	V SIL 1	V SIL 2	V SIL 3	V SLA 1	V SLA 2	V SLA 3
1	170	182	128	78	59	64
2	74	126	109	107	66	57
3	34	96	74	75	54	40
4	28	60	52	46	26	19
5	24	56	46	30	20	8
6	12	66	52	36	13	6
7	8	70	54	32	13	24
8	2	64	44	36	0	4
9	11	87	66	40	6	4
10	-2	54	44	37	11	7
11	5	21	24	35	5	3
12	2	19	2	36	4	2
13	14	33	13	37	6	0
14	6	23	-1	17	12	10
15	22	6	10	12	22	12
16	31	17	1	4	30	26
17	22	11	4	6	22	16
18	12	6	5	4	19	15
19	9	8	0	0	15	15
20	38	9	0	0	29	24
21	18	5	0	10	23	20
22	31	13	-2	-3	26	23
23	36	4	1	4	30	31
24	22	10	0	3	16	34
25	17	-3	4	0	13	27
26	34	0	-1	0	13	45
27	36	0	-1	0	10	32
28	36	0	-1	0	10	32

8 Življenjepis



Lea Sternad

✉ lea.sternad@gmail.com

DELOVNE IZKUŠNJE

Praktično izobraževanje

Nigrad d.d., oddelek laboratorij - analiza in monitoring odpadnih voda, Maribor (Slovenija)

Delo v laboratoriju

IZOBRAŽEVANJE IN USPOSABLJANJE

1. 9. 2009–24. 6. 2013

Gimnazijska maturantka

II. gimnazija Maribor

Trg Miloša Zidanška 1, 2000 Maribor (Slovenija)

1. 10. 2013–12. 9. 2018

Diplomirana inženirka kemijske tehnologije VS

Univerza v Mariboru, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo (UM FKKT)

Smetanova ulica 17, 2000 Maribor (Slovenija)

KOMPETENCE

Materni jezik

slovenščina

Tuji jeziki

	srbsščina		GOVORJENJE		PISNO SPOROČANJE
	RAZUMEVANJE				
	Slušno razumevanje	Bralno razumevanje	Govorno sporazumevanje	Govorno sporočanje	
angleščina	B2	B2	B2	B2	B2
nemščina	A1	A1	A1	A1	A1
srbsščina	C1	B2	B2	B2	B2

Stopnja: A1 in A2: Osnovni uporabnik - B1 in B2: Samostojni uporabnik - C1 in C2: Usposobljeni uporabnik Skupni evropski jezikovni okvir

- Komunikacijske kompetence**
- komunikativnost
 - vestnost
 - marljivost
 - natančnost
 - vztrajnost
 - poštenost
 - zmožnost delovanja v timu
 - dovezetnost za spremembe

Digitalne kompetence

SAMOVREDNOTENJE

Obdelava informacij	Komunikacija	Ustvarjanje vsebin	Varnost	Reševanje problemov
Samostojni uporabnik	Samostojni uporabnik	Samostojni uporabnik	Samostojni uporabnik	Samostojni uporabnik

Digitalne kompetence - Samooceniševalna lestvica

- dobro poznavanje orodij Microsoft Office (Word, Excel in PowerPoint)
- dobro poznavanje uporabe svetovnega spleta

Druge kompetence

- kolesarjenje
- branje
- plavanje
- hoja v hribe

Vozniško dovoljenje

B