

Využití fermentoru při anaerobním rozkladu organických látek

Bc. Martin Barták

Diplomová práce
2008



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí

akademický rok: 2007/2008

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Martin BARTÁK**
Studijní program: **N 2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Inženýrství ochrany životního prostředí**
Téma práce: **Využití fermentoru při anaerobním rozkladu organických látek**

Zásady pro vypracování:

1. Vypracujte literární studii využití fermentoru (s ohledem na měření plynné fáze). K tomu využijte vědecké databáze Web of Science, Science Direct a SciFinder popř. technickou dokumentaci.
2. Zprovozněte funkce okruhů měření plynné fáze (průtok, senzory pro měření methanu a oxidu uhličitého) v anaerobní oblasti (dosud netestováno).
3. Proveďte studii rozkladu glycerolu ve fermentoru – měření parametrů kapalné i plynné fáze včetně hmotnostní bilance uhlíku. Výsledky porovnejte s testy prováděnými na ÚIOŽP.
4. V rámci možností ověřte rozklad škrobu a použitého rostlinného oleje s ohledem na produkci bioplynu.
5. Veškerá naměřená data zpracujte přehledně písemnou formou, tabelárně i graficky v diplomové práci.

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

Web of Science, Science Direct, SciFinder, popř. technická dokumentace.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Marie Dvořáčková, Ph.D.

Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí

Datum zadání diplomové práce:

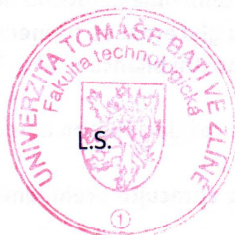
19. února 2008

Termín odevzdání diplomové práce:

16. května 2008

Ve Zlíně dne 19. února 2008


doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan




doc. RNDr. Jan Růžička, Ph.D.
pověřený ředitel ústavu

ABSTRAKT

Tato diplomová práce je zaměřena na ověření pracovních postupů při biodegradaci glycerolu ve fermentoru za anaerobních podmínek a zprovoznění měřících okruhů zařízení bioreaktoru. Teoretická část se věnuje anaerobním rozkladným procesům, konkrétně jejich mechanismu, průběhu a mikroorganismům, které je způsobují. Dále pokračuje popisem faktorů, které ovlivňují anaerobní rozklad a rozdělením bioreaktorů s podrobným popisem fermentoru použitého ve všech pokusech diplomové práce. Praktická část obsahuje čtyři pokusy, pomocí nichž bylo zjištěno nejvhodnější zapojení měřících okruhů fermentoru a zbilancována produkce plynů (CO_2 a CH_4) vznikajících při anaerobním rozkladu organických látek.

Klíčová slova: fermentor, bioreaktor, anaerobní rozklad, glycerol, oxid uhličitý, methan.

ABSTRACT

This diploma work is concentrated on verification of operating sequences during biodegradation of glycerol in fermenter under the anaerobical conditions and putting into service the measuring circles of bioreactor equipment. The theoretical part is focused on anaerobical decomposition processes, namely to their mechanism, course and micro-organisms which are responsible for them. It continues by the description of factors which affect the anaerobical biodegradation and the partition of bioreactors with the detailed description of fermenter which was used to all diploma work experiments. The practical part contains four experiments thanks to them was discovered the best connection of fermenter measuring circles and balanced the production of gases (CO_2 and CH_4) which are generated by the anaerobical decomposition of organic matters.

Keywords: fermenter, bioreactor, anaerobical decomposition, glycerol, carbon dioxide, methan.

Tímto bych rád poděkoval vedoucí diplomové práce Ing. Marii Dvořáčkové, Ph.D. a zejména pak konzultantovi Ing. Radku Sedláčkovi, kteří mi během tvorby diplomové práce věnovali spoustu svého času, odborně mne vedli a předali mi množství cenných rad a připomínek při psaní rešerše, prezentace i při zpracovávání experimentů. Děkuji také paní Libosvárové za její nezištnou pomoc při některých stanoveních. V neposlední řadě patří díky mé rodině a hlavně ženě za neutuchající podporu při studiu.

Prohlašuji, že jsem na bakalářské/diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků, je-li to uvolněno na základě licenční smlouvy, budu uveden jako spoluautor.

Ve Zlíně

.....

Podpis diplomanta

OBSAH

ÚVOD	8
I TEORETICKÁ ČÁST	9
1 ANAEROBNÍ PROCESY	10
1.1 POROVNÁNÍ AEROBNÍCH A ANAEROBNÍCH PROCESŮ.....	10
1.2 POPIS ANAEROBNÍCH ROZKLADNÝCH PROCESŮ	10
1.2.1 Mechanismus anaerobního rozkladu	11
1.2.2 Průběh anaerobního rozkladu.....	12
1.2.2.1 Hydrolýza.....	12
1.2.2.2 Acidogeneze.....	13
1.2.2.3 Acetogeneze	13
1.2.2.4 Methanogeneze	13
1.2.3 Mikroorganismy anaerobního rozkladu	13
1.2.3.1 Hydrolytické a fermentační mikroorganismy.....	13
1.2.3.2 Acetogenní mikroorganismy produkující vodík	14
1.2.3.3 Homoacetogenní mikroorganismy	14
1.2.3.4 Desulfurifikační a denitrifikační mikroorganismy.....	14
1.2.3.5 Methanogenní mikroorganismy	15
1.2.4 Faktory ovlivňující anaerobní rozklad	16
1.2.4.1 Vliv teploty	16
1.2.4.2 Vliv pH	17
1.2.4.3 Vliv složení prostředí.....	17
1.2.4.4 Vliv přítomnosti toxických a inhibujících látek.....	17
1.3 GLYCEROL.....	18
2 BIOREAKTORY	20
2.1 ROZDĚLENÍ BIOREAKTORŮ	21
2.1.1 Vsádkový bioreaktor (batch)	21
2.1.2 Kontinuální bioreaktor	21
2.1.3 Bioreaktor s řízeným nástřikem (fed-batch).....	21
2.2 FERMENTOR POUŽITÝ PRO DIPLOMOVOU PRÁCI	22
2.2.1 Okruhy měření plynné fáze	24
2.2.2 Srovnání s fermentory dostupnými na trhu	25
2.3 CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE	27
II PRAKTICKÁ ČÁST	28
3 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A PŘÍSTROJE	29
3.1 CHEMIKÁLIE	29
3.2 BIOMÉDIUM.....	29
3.3 PŘÍSTROJE	30
4 ZAPOJENÍ SOND MĚŘENÍ PLYNNÉ FÁZE V POKUSECH	31
5 EXPERIMENT 1	32

5.1	CÍL POKUSU	32
5.2	POSTUP PRÁCE.....	32
5.3	PRŮBĚH POKUSU.....	32
5.3.1	Průběh sledovaných veličin.....	33
5.4	VYHODNOCENÍ POKUSU.....	37
6	EXPERIMENT 2.....	38
6.1	CÍL POKUSU	38
6.2	PRŮBĚH POKUSU.....	38
6.2.1	Průběh sledovaných veličin.....	38
6.3	VYHODNOCENÍ POKUSU.....	41
7	EXPERIMENT 3.....	42
7.1	CÍL POKUSU	42
7.2	POSTUP PRÁCE.....	42
7.3	PRŮBĚH POKUSU.....	42
7.3.1	Průběh sledovaných veličin.....	42
7.4	VYHODNOCENÍ POKUSU.....	46
8	EXPERIMENT 4.....	47
8.1	CÍL POKUSU	47
8.2	POSTUP PRÁCE.....	47
8.3	PRŮBĚH POKUSU.....	47
8.3.1	Průběh sledovaných veličin.....	47
8.4	BILANCE PRODUKCE VZNIKAJÍCÍCH PLYNŮ CO ₂ A CH ₄	50
8.5	VYHODNOCENÍ POKUSU.....	50
9	OSTATNÍ PROVEDENÁ MĚŘENÍ.....	52
9.1	OVĚŘENÍ SOND PRO MĚŘENÍ CO ₂ A CH ₄	52
9.2	KONTROLA ZAPOJENÍ SOND PRO MĚŘENÍ CO ₂ A CH ₄	53
9.2.1	Zjištění parametrů rovnic přepočtových vztahů pro Datalab	53
9.3	TLAKOVÁ ZTRÁTA	57
	ZÁVĚR	58
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	59
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	61
	SEZNAM OBRÁZKŮ	62
	SEZNAM TABULEK.....	64
	SEZNAM PŘÍLOH.....	65

ÚVOD

Kvašení (fermentace) bylo hojně využíváno již před několika tisíci lety zejména v potravinářství. Kde se uplatnilo nejdříve při zajišťování větší trvanlivosti potravin, později se pak dočkalo kvašení velkého rozšíření a popularity, když se začaly kvasit alkoholy.

Holandský biolog Antony van Leeuwenhoek jako první na světě v roce 1680 našel pomocí mikroskopu mikroorganismy ve vzorcích kvasícího piva. Francouzský chemik Louis Pasteur koncem 19. století zase zjistil, že kvasinky během fermentace přeměňují cukr na alkohol a CO_2 .

První průmyslové využití pak anaerobní fermentace zaznamenala také koncem 19. století, kdy byl ve Francii zkonstruován první septik, což znamenalo podstatnou změnu ve zpracování a likvidaci odpadních vod. V roce 1927 byly uveřejněny první studie o vlivu teploty na methanizaci a od té doby se proces anaerobního rozkladu organických látek stal předmětem teoretického i praktického studia mnoha vědců.

V dnešní době se fermentace běžně využívá při stabilizaci čistírenských kalů, čištění zemědělských, průmyslových a městských odpadů. Využívání mikroorganismů za účelem čištění vody je klasickým příkladem aplikace biotechnologie v ochraně životního prostředí. Ještě donedávna tím však bylo myšleno převážně aerobní čištění. V posledních letech vývoj anaerobního čištění a anaerobních procesů vůbec zaznamenal obrovský vývoj a nabyl stejné úrovně důležitosti jako technologie aerobní.

Rešerše diplomové práce začíná srovnáním aerobních a anaerobních rozkladných procesů, pokračuje podrobným popisem anaerobní biodegradace, dále pak popisem glycerolu (organické látky), který byl předmětem fermentace a končí popisem různých typů bioreaktorů včetně toho, který byl použit pro veškeré pokusy praktické části diplomové práce.

TEORETICKÁ ČÁST

1 ANAEROBNÍ PROCESY

1.1 Porovnání aerobních a anaerobních procesů

Hlavní předností anaerobní (AN) technologie před aerobní (AE) je transformace a zušlechťování odpadních organických látek do energeticky bohatého bioplynu. Tento poznatek vychází z porovnání bilance energie a uhlíku při aerobních a anaerobních procesech. Z bilance energie vyplývá, že při aerobních procesech je přibližně 60 % energie spotřebováno na syntézu nové biomasy a 40 % se ztrácí ve formě reakčního tepla. Při anaerobních procesech je téměř 90 % energie původně obsažené v substrátu zachováno ve vzniklém bioplynu, 5 až 7 % je spotřebováno na růst nové biomasy a 3 až 5 % se ztrácí ve formě reakčního tepla. Z bilance uhlíku vyplývá, že při aerobních procesech je asi 50 % uhlíku ze substrátu přeměněno na biomasu a 50 % na CO₂. Při anaerobních procesech přechází 95 % uhlíku do bioplynu (CH₄, CO₂) a 5 % do biomasy [1].

Hodnota energetického zisku při anaerobních procesech je pro mikroorganismy přibližně desetkrát nižší než při aerobních procesech. Tomu odpovídá i významně nižší produkce biomasy na jednotku spotřebovaného substrátu u anaerobních procesů [2].

Z technologického hlediska představují anaerobní procesy energeticky málo náročné metody anaerobní stabilizace kalů a anaerobního čištění odpadních vod. Odstranění jednotkového množství znečištění anaerobním způsobem je vždy ekonomicky výhodnější než aerobním způsobem (zde je nutná energeticky náročná aerace). Nevýhodou anaerobní degradace je poměrně dlouhá doba aklimatizace mikroorganismů k využívání polutantu (několik měsíců), pomalý průběh transformace a hromadění organických produktů, které mohou být často rozloženy pouze aerobně [3]. Dalším problémem u anaerobních procesů je někdy poměrně vysoká hodnota organických látek na odtoku proti aerobním odtokům [1].

Významnou výhodou anaerobních procesů je, že některé tzv. aerobně nedegradovatelné sloučeniny mohou být mikrobiologicky využívány a degradovány za anaerobních podmínek jako například fenoly, pesticidy, polychlorované bifenoly (PCB) a další [3].

1.2 Popis anaerobních rozkladných procesů

Anaerobní rozklad organických látek vyžaduje koordinovanou metabolickou součinnost několika mikrobiálních skupin. Produkt jedné skupiny mikroorganismů se stává substrátem

skupiny druhé, a proto nedostatečná aktivita jen jedné skupiny může způsobit porušení dynamické rovnováhy v celém systému a snížení účinnosti procesu. Jednotlivé mikrobiální interakce byly popsány a vysvětleny Bryantem [4], Zeikusem [5] a McInerneyem [6].

Anaerobní rozklad lze rozdělit na:

- úplný anaerobní biologický rozklad - jedná se o stupeň rozkladu, kdy je zkoumaná látka využita anaerobními mikroorganismy, přičemž vzniká CH_4 , CO_2 , minerální látky a nová biomasa
- primární anaerobní biologický rozklad - jedná se o stupeň rozkladu, kdy zkoumaná látka změnila strukturu vlivem činnosti anaerobních mikroorganismů, aniž by došlo k úplné mineralizaci.

1.2.1 Mechanismus anaerobního rozkladu

Hlavním mechanismem odstraňování substrátu (znečištění) při biologickém čištění odpadních vod a zpracování odpadů jsou z biochemického hlediska oxidačně-redukční reakce. Pro anaerobní oblast jsou charakteristické hodnoty redoxních potenciálů pod -50 mV. Rozhodujícím faktorem pro rozlišení těchto reakcí je konečný akceptor elektronů a s tím související hladiny oxidačně-redukčních potenciálů (ORP) [1].

Anaerobní mikroorganismy využívají k získávání energie pro růst jiné „akceptory elektronů“ než atomární kyslík, jako je tomu u aerobních procesů. Biodegradace mnoha látek je na koncentraci kyslíku nezávislá a probíhá lépe za anaerobních podmínek. V takových případech jsou využívány jako akceptory elektronů organické molekuly, dusičnany, sírany, CO_2 , případně Fe^{3+} ionty a další látky - mluvíme o anaerobní respiraci. Obdobně však jako v případě kyslíku i tyto elektronové akceptory mohou být z prostředí rychle vyčerpány a je tedy nutné je znovu dodat z vnějšku, aby se předešlo zastavení biodegradčních procesů. Výsledkem redukce popsaných akceptorů elektronů jsou látky typu N_2 , N_2O , sulfidy, železnaté ionty nebo methan [7].

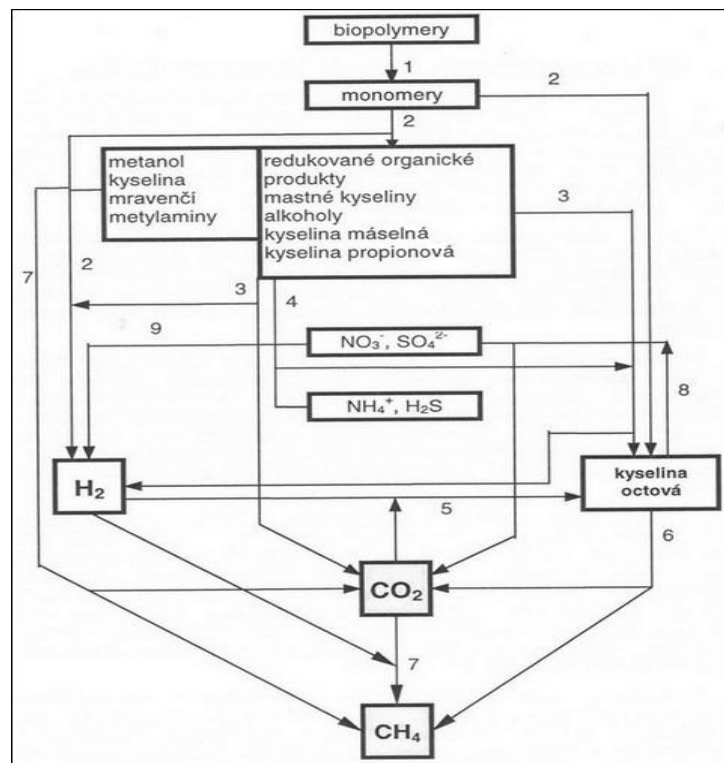
Využívají-li mikroorganismy pro získání energie změnu energetické úrovně dostupných elektronů substrátu při přenosu na některý z meziproductů buněčného metabolismu nebo na ionty H^+ , mluvíme o anaerobní fermentaci [2].

Konečnými produkty anaerobních procesů jsou vzniklá biomasa, plyny (CH_4 , CO_2 , H_2 , N_2 , H_2S) a nerozložitelný zbytek organické hmoty, který je z hlediska hygienického a senzoric-

kého stabilizován [8].

1.2.2 Průběh anaerobního rozkladu

Samotný anaerobní proces (*Obr. 1*) probíhá ve čtyřech základních fázích: hydrolyzní fáze, acidogenní fáze, acetogenní fáze a methanogenní fáze [8].



Obr. 1. Schéma anaerobního rozkladu organických látek. 1 – hydrolyza, 2 – acidogeneze, 3 – acetogeneze, 4 – oxidace redukováných organ. produktů, 5 – acetogenní respirace, 6 – methanogeneze z k. octové, 7 – methanogeneze z jednoduhlíkatých substrátů, 8 – oxidace k. octové, 9 – oxidace vodíku [1].

1.2.2.1 Hydrolýza

V prvním stadiu rozkladu - hydrolýze - jsou rozkládány makromolekulární rozpuštěné i nerozpuštěné organické látky (polysacharidy, lipidy, proteiny) na nízkomolekulární látky rozpustné ve vodě pomocí extracelulárních hydrolytických enzymů, produkovaných hlavně fermentačními bakteriemi. Vznikající nízkomolekulární látky jsou na rozdíl od vysokomolekulárních schopny transportu dovnitř buňky [1].

1.2.2.2 Acidogeneze

Produkty hydrolýzy, nízkomolekulární látky, jsou uvnitř buňky během druhé fáze - acidogeneze - dále rozkládány na jednodušší organické látky (kyseliny, alkoholy, CO₂ a H₂). Fermentací těchto látek se tvoří řada konečných redukovaných produktů, které jsou závislé na charakteru počátečního substrátu a na podmínkách prostředí [1].

1.2.2.3 Acetogeneze

V dalším stadiu rozkladu probíhá oxidace produktů předchozí fáze na H₂, CO₂ a kyselinu octovou, která je tvořena také acetogenní respirací CO₂ a H₂ homoacetogenními mikroorganismy.

1.2.2.4 Methanogeneze

V posledním stadiu rozkladu - methanogenezi - dochází k tvorbě methanu a oxidu uhličitého z dostupných methanogenních substrátů, což jsou některé jednoduhlíkaté látky (methanol, kyselina mravenčí, methylaminy, CO, CO₂), vodík a víceuhlíkatá kyselina octová [2].

1.2.3 Mikroorganismy anaerobního rozkladu

1.2.3.1 Hydrolytické a fermentační mikroorganismy

Hydrolytické a fermentační (acidogenní) mikroorganismy jsou nejrychleji rostoucí a nejobtížnější vůči změnám podmínek. Tato skupina bakterií je odpovědná za první dva kroky anaerobního rozkladu, hydrolýzu a acidogenezi. Produkuje enzymy, které jsou uvolňovány do média a hydrolyzují komplexní organické látky jako celulózu, hemicelulózu, pektin nebo polysacharidy na malé molekuly, schopné transportu dovnitř buňky. Fermentací těchto látek tvoří řadu redukovaných konečných produktů, jako jsou kyselina máselná, propionová a octová, ethanol, kyselina mléčná apod. [2].

Převažující druhy v mikrobiálním osídlení anaerobních reaktorů patří do čeledě *Streptococcaceae*, a *Enterobacteriaceae* a do rodů *Bacteroides*, *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium* a *Lactobacillus* [9].

Konečné produkty metabolismu těchto bakterií jsou závislé na charakteru počátečního substrátu a podmínkách prostředí. Při nízkém tlaku vodíku jsou produkty kyselina octová, H₂ a CO₂, při vyšším se tvoří organické kyseliny, kyselina mléčná, ethanol apod. [10].

1.2.3.2 Acetogenní mikroorganismy produkující vodík

Acetogenní mikroorganismy produkující vodík (syntrofní acetogeny) jsou silně závislé na jeho přítomnosti v prostředí, protože je pro ně konečným produktem. Vyšší koncentrace vodíku v systému posouvá rovnováhu jejich biochemické reakce opačným směrem a inhibuje jejich růst. Účast této skupiny bakterií při anaerobním rozkladu je nezbytná, protože katabolizuje kyselinu propionovou a ostatní organické kyseliny vyšší než octovou, alkoholy a některé aromatické sloučeniny (např. kyselinu benzoovou a její deriváty bakteriemi *Syntrophus buswellii*) na kyselinu octovou, CO₂ a H₂. Zatím bylo izolováno pouze několik druhů (např. *Syntrophobacter vollinii*) a není mnoho známo o jejich základních nutričních požadavcích [1].

1.2.3.3 Homoacetogenní mikroorganismy

Další trofickou skupinou anaerobního ekosystému jsou homoacetogenní mikroorganismy. Zatím je relativně málo známo o funkční důležitosti metabolismu homoacetogenů během methanizace nebo metabolické interakce mezi homoacetogeny a methanogeny. Mohou růst na víceuhlíkatých i jednouhlíkatých substrátech a disponují metabolismem s vysokou termodynamickou účinností, protože netvoří vodík. Naopak některé druhy při růstu na oxidu uhličitým vodík spotřebovávají a podílejí se tak vedle methanogenů na celkovém udržování nízkého parciálního tlaku vodíku v systému [2].

Intermediární metabolismus homoacetogenů je detailně popsán pouze u *Clostridium thermoacetium*, které je obecně považováno za neschopné růst na jednouhlíkatých sloučeninách samotných [11].

1.2.3.4 Desulfurifikační a denitrifikační mikroorganismy

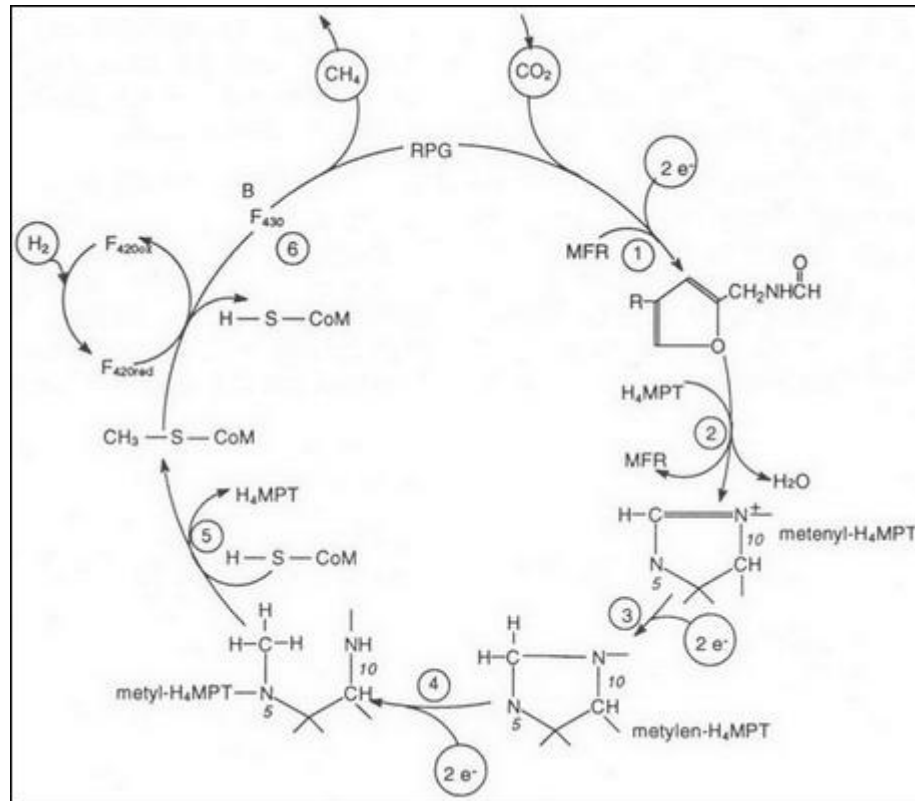
Tyto dvě skupiny bakterií mají v anaerobním mikrobiálním systému velký význam, i když hodnocení jejich aktivity je vzhledem k methanogenezi rozporuplné a značně závisí na daných podmínkách. Obě skupiny jsou schopny růst na víceuhlíkatých substrátech a s využitím síranů nebo dusičnanů jako akceptorů elektronů tvořit kyselinu octovou, vodík, sulfan a amoniak, tedy podporovat methanogenezi tvorbou methanogenním substrátů. Za určitých podmínek však mohou tyto substráty i spotřebovávat za použití stejných akceptorů elektronů a být konkurenty methanogenním bakteriím. Při vyšších koncentracích NO₃⁻ a SO₄²⁻ může docházet i k inhibici methanogeneze, protože energetická výtěžnost jejich re-

akcí je mnohem vyšší než u methanogenů. V anaerobních reaktorech se nejčastěji vyskytují organismy rodu *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum* a *Desulfobulbus* [12].

1.2.3.5 *Methanogenní mikroorganismy*

Tato skupina bakterií je zapojena v poslední fázi anaerobního rozkladu organických látek a je odpovědná za produkci žádoucího plynného produktu - methanu. Je nejdůležitější trofickou skupinou anaerobního ekosystému, má vysoce specifické požadavky na substrát i životní podmínky a vzhledem ke svým vlastnostem se často stává rozhodujícím faktorem pro průběh celého procesu. Proto se studiu methanogenních bakterií věnuje velká pozornost. Mezi nejlépe prostudované druhy methanogenních mikroorganismů patří *Methanosarcina barkeri* a *Methanobacterium thermoautotrophicum* [2].

Mezi enzymatické systémy obvyklé i u ostatních bakterií mají methanogenní bakterie některé specifické koenzymy a enzymy, které jsou spojeny s jejich jedinečnou schopností tvořit methan (Obr. 2). Všechny methanogeny mají společný metabolický rys - používají jako konečný elektronový akceptor methylovou skupinu. Redukce methylové skupiny na methan je energeticky výhodná reakce a slouží jako odvod elektronů z anaerobních oxidačních reakcí vodíku, kyseliny mravenčí, methanolu, kyseliny octové a methylaminů. Methanogeny, vyjma několika málo případů, dále používají jako elektronového akceptoru oxid uhličitý, který jako vázaný jednoulíkatý zbytek redukuje až na methylovou úroveň [1].



Obr. 2. Cyklus redukce oxidu uhličitého na methan. MFR – methanofuran, H_4MPT – tetrahydromethanopterin, $CH_3-S-CoM$ – methylkoenzym M, $H-S-CoM$ – koenzym M, F_{420} – “5-deazaflavin“, F_{430} – “nikl-tetrapyrrol“, B – esenciální koenzym neznámé struktury, RPG efekt – spojení methylreduktázy s aktivací CO_2 [1].

1.2.4 Faktory ovlivňující anaerobní rozklad

Pro optimální průběh anaerobního rozkladu je nutné zajistit odpovídající podmínky pro aktivitu mikroorganismů. Jedná se zejména o teplotu, pH prostředí, složení substrátu a přítomnost toxických a inhibujících látek.

1.2.4.1 Vliv teploty

Teplota je jedním z nejvýznamnějších faktorů ovlivňujících mikrobiální aktivitu a růst. S rostoucí teplotou se zrychlují všechny dílčí reakční procesy a naopak. Do procesu anaerobního rozkladu se proto často zapojuje zařízení sloužící k zahřívání systému na zvolenou vhodnou teplotu.

Teplota podstatně ovlivňuje interakce mezi jednotlivými druhy anaerobních mikroorganismů.

mů. Odezva mikroorganismů na změnu teploty je u všech druhů kvalitativně prakticky stejná, avšak kvantitativně může být úplně odlišná. To znamená, že změnou teploty se mění zastoupení jednotlivých druhů mikroorganismů, což má za následek porušení rovnováhy procesu a může vést až k úplné havárii procesu. Proto je důležité vést proces při vhodné teplotě, kterou lze udržovat konstantní, než při teplotě sice odpovídající maximální možné rychlosti procesu, ale nelze vyloučit kolísání její hodnoty [13].

Podle teploty lze rozdělit anaerobní procesy na: kryofilní (teplota < 6 °C), psychofilní (teplota 7 - 27 °C), mezofilní (teplota 24 - 40 °C), kde pracuje převážná většina anaerobních bioreaktorů pro stabilizaci kalů i pro čištění odpadních vod a termofilní (45 - 60 °C).

1.2.4.2 Vliv pH

Pro mikroorganismy anaerobního rozkladu jsou nevhodné extrémní hodnoty pH nižší než 4 respektive vyšší než 10. Obecně lze říci, že optimální hodnoty pH se pohybují v rozmezí 6,5 až 7,5. Hodnoty pH lze zvýšit přidávkem hydroxidu vápenatého nebo sodného respektive snížit přidávkem kyseliny chlorovodíkové nebo sírové.

Během anaerobního rozkladu dochází obvykle k poklesům pH prostředí v důsledku tvorby a hromadění nižších mastných kyselin během předmethanizační fáze, což proces zpomaluje. Tento problém lze vyřešit přidávkem vápna. Při anaerobních procesech je třeba pH monitorovat, protože při náhlých větších změnách pH (o 1 jednotku či více) může dojít k nežádoucí inhibici mikrobiální aktivity mikroorganismů odstraňujících kontaminaci.

1.2.4.3 Vliv složení prostředí

U anaerobního rozkladu je vhodné, aby substrát obsahoval vyvážený poměr organického uhlíku k množství dusíku a fosforu (poměr C:N:P by měl být optimálně 100:1:0,2).

Vedle dusíku a fosforu je žádoucí přítomnost řady mikronutrientů - Na, K, Ca, Mg, Fe, S, Ni, Co, Mo, Se, W, důležitá je také přítomnost řady růstových faktorů.

1.2.4.4 Vliv přítomnosti toxických a inhibujících látek

Za toxické nebo inhibiční pokládáme látky, které nepříznivě ovlivňují biologický proces. Prakticky všechny látky potlačují biologickou aktivitu, jsou-li přítomny v dostatečně velkých koncentracích. Látky nebo prvky, které jsou součástí biologických buněk a jejich en-

zymů nebo mohou být na ně přeměněny, působí v nízkých koncentracích stimulačně a ve vysokých inhibičně. Takovými látkami jsou např. prvky uváděné jako mikronutrienty [1].

Nepříznivě působí vyšší koncentrace těžkých kovů (Cu, Pb, Cr, Zn aj.) a jejich solí, sulfidy, siřičitany, kyanidy aj. Dále je nežádoucí přítomnost oxidantů (molekulární kyslík, H₂O₂, atd.). Z organických látek působí škodlivě fenoly, pesticidy, saponáty, tenzidy, rozpouštědla a další specifické látky [2]. Na striktně anaerobní mikroorganismy působí toxicky hlavně kyslík.

Koncentrace látky, při které se projevuje inhibiční efekt, závisí na řadě faktorů:

- Na způsobu dávkování - jednorázová dávka je nebezpečnější pro stabilitu procesu než kontinuální dávkování.
- Na přítomnosti detoxikantu - některé kationty (Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, NH₄⁺) při vzájemných kombinacích vykazují toxické působení, které se podle vzájemného poměru buď sčítá, nebo ruší.
- Na fyziologickém stavu mikroorganismů - doba zdržení biomasy v bioreaktoru má rozhodující význam pro úspěch při biodegradaci těžko rozložitelných organických látek a pro snížení inhibičního vlivu některých toxických látek [2].

1.3 Glycerol

Ke splnění cílů diplomové práce je vhodná organická látka se známým průběhem anaerobní biologické degradace. Jako substrát byl vybrán glycerol pro jeho dobrou biologickou rozložitelnost.

Glycerol neboli glycerin, systematickým názvem propan-1,2,3-triol, je hygroskopická bezbarvá viskózní kapalina bez zápachu, sladké chuti, rozpustná ve vodě. Je důležitou biogenní organickou sloučeninou, neboť je ve formě svých esterů součástí tuků. Glycerol se používá v kosmetických výrobcích, zejména jako přísada v hydratačních krémech a mýdlech pro svou schopnost vázat vodu, jako přísada do zubních past, při výrobě plastických hmot zejména jako změkčovadlo, žvýkaček, past, barviv a výbušnin. Ve farmacii se využívá pro svou schopnost vázat vodu jako projímadlo (čípky), jako součást některých léků, jako přísada infuzí k léčbě chronického zvýšení nitrolebního tlaku (edému mozku), ke snižování vnitro-očního tlaku. V potravinářském průmyslu se používá jako přísada pro úpravu nápojů

a méně kvalitních vín, jako sladidlo např. v šlehačkách v bombičkách, jako změkčovaadlo želé a jiných cukrovinek atp. Jako součást potravin má označení E 422.

Glycerol většinou není vyráběn účelově, ale odpadá jako vedlejší produkt při celé řadě procesů zpracování tuků a olejů, z nichž nejvýznamnějšími jsou:

- saponifikace triglyceridů (výroba mýdel)
- hydrolyza triglyceridů (výroba mastných kyselin)
- transesterifikace (výroba biodieslu a esterů mastných kyselin) [14].

Za nejdůležitější způsoby potencionálního uplatnění větších množství glycerolu (mimo tradiční oblasti výroby) je možno považovat následující směry: náhrada petrochemických produktů a monomerů pro plasty (výroba diolů, epichlorhydrinu, vodíku atd.) a palivářské využití (ethery jako aditiva do motorové nafty, nižší alkoholy do autobenzínů, cyklické acetaly glycerolu jako aditiva do paliv, estery jako komponenty maziv, nemrznoucí směsi). Nově se rozvíjejícím oborem, ve kterém může najít glycerol významné uplatnění, jsou biologicky odbouratelné polymery. Např. firma Agricultural Research Service's Environmental Quality Laboratory v Betsville (USA) vyvinula biologicky odbouratelný polyester, který je údajně jedlý a hodí se pro výrobu obalových materiálů, filmů, fólií a gelových nátěrových hmot [14].

2 BIOREAKTORY

Na rozdíl od chemických reaktorů tkví hlavní specifika bioreaktorů s mikroorganismy v obtížné postihnutelnosti vztahu mezi mechanickými a fyzikálně-chemickými vzruchy a biologickou odezvou systému. Míra obtížnosti matematického modelování a návrhu konstrukce bioreaktoru se zvyšuje se zvyšováním počtu fází v systému. Některé nejkomplicovanější reakční systémy s multisložkovou populací mikroorganismů nelze obecně modelovat klasickými postupy, musíme při nich aplikovat základní principy chemické termodynamiky, chemické kinetiky a hydrodynamiky s přihlédnutím k poznatkům mikrobiologie a biochemie např. [15]. Bioreaktory jsou jedním z rozhodujících uzlů biotechnologických systémů, kde představují zařízení, které má umožnit:

- chemickou reakci nebo soubor reakcí katalyzovaných enzymy nebo buňkami produkující enzymy
- kultivaci mikroorganismů, rostlinných nebo živočišných buněk nebo jejich částí za účelem výroby produktů jejich metabolismu nebo vlastní buněčné hmoty při požadované konverzi, selektivitě, výtěžku, reakční rychlosti a při optimální spotřebě energie [16].

Souběžně s rozvojem výzkumu anaerobního čištění zemědělských, průmyslových a městských odpadů dochází i ke konstrukci nových druhů reaktorů. Některé typy bioreaktorů se však často liší pouze určitými detaily v jejich konstrukci.

Většinou lze všechna nová konstrukční řešení reaktorů charakterizovat jako nové variace na řešení hlavního motivu – maximální doba zdržení anaerobního kalu v systému a tedy jeho maximální koncentrování. Protože potřebná velikost biologického reaktoru závisí nepřímo úměrně na množství aktivní biomasy udržitelném uvnitř systému. Další vývoj bude patrně směřovat do extrémní specializace, kdy téměř na každou vodu jsou vyvíjeny speciální typy reaktorů k univerzálnosti a flexibilitě nových anaerobních systémů [1].

Výkonnost bioreaktorů závisí především na:

- množství aktivní biomasy, která zůstává v reaktoru i při vysokých zatíženích
- kontaktu biomasy s přiváděným substrátem
- rychlosti biologické konverze.

První dvě kritéria jsou přímo závislá na konstrukci reaktoru. Rychlost biologické konverze závisí především na koncentraci biomasy a na dalších reakčních podmínkách. Mezi nejdůležitější fáze provozu anaerobního bioreaktoru patří jeho zapracování. Na něm závisí doba, za kterou je dosaženo ustáleného stavu provozu a stabilita i účinnost provozu [2].

2.1 Rozdělení bioreaktorů

Bioreaktory lze rozdělit podle několika hledisek. Podle velikosti se bioreaktory dělí na malé (objem 0,1 – 10 l), které jsou používány zejména pro výzkum, dále středně velké (objem 10 – 50 l) a velké průmyslové bioreaktory o objemu desítek metrů krychlových. Mezi nejdůležitější rozdělení patří druh biochemického procesu probíhajícího v bioreaktoru - aerobní a anaerobní [17].

Podle způsobu provozu rozlišujeme bioreaktory na: vsádkové (batch), kontinuální a fed-batch reaktory.

2.1.1 Vsádkový bioreaktor (batch)

Vsádkový fermentor představuje nejběžnější uspořádání bioreaktorů. Do reaktoru se vloží fermentační médium a inokulum a při zvolených reakčních podmínkách zde roste biomasa, případně dochází k produkci žádaných metabolitů. Po dosažení určených parametrů nebo spotřebování substrátu se proces přeruší, reaktor se vyprázdní a připraví pro novou vsádku [16].

2.1.2 Kontinuální bioreaktor

Při kontinuální fermentaci do reaktoru nepřetržitě přivádíme substráty a živiny a z reaktoru nepřetržitě odvádíme výstupní kapalinu s biomasou, nespotřebované substráty a živiny, případně metabolické produkty [16].

2.1.3 Bioreaktor s řízeným nástřikem (fed-batch)

Fed-batch je technika vedení mikrobiálního procesu, kdy jedna nebo více složek živin je dávkováno do fermentoru během kultivace a produkt zůstává v reaktoru až do konce pokusu. Někdy mohou být živiny do reaktoru nástřikovány přerušovaně [16].

2.2 Fermentor použitý pro diplomovou práci

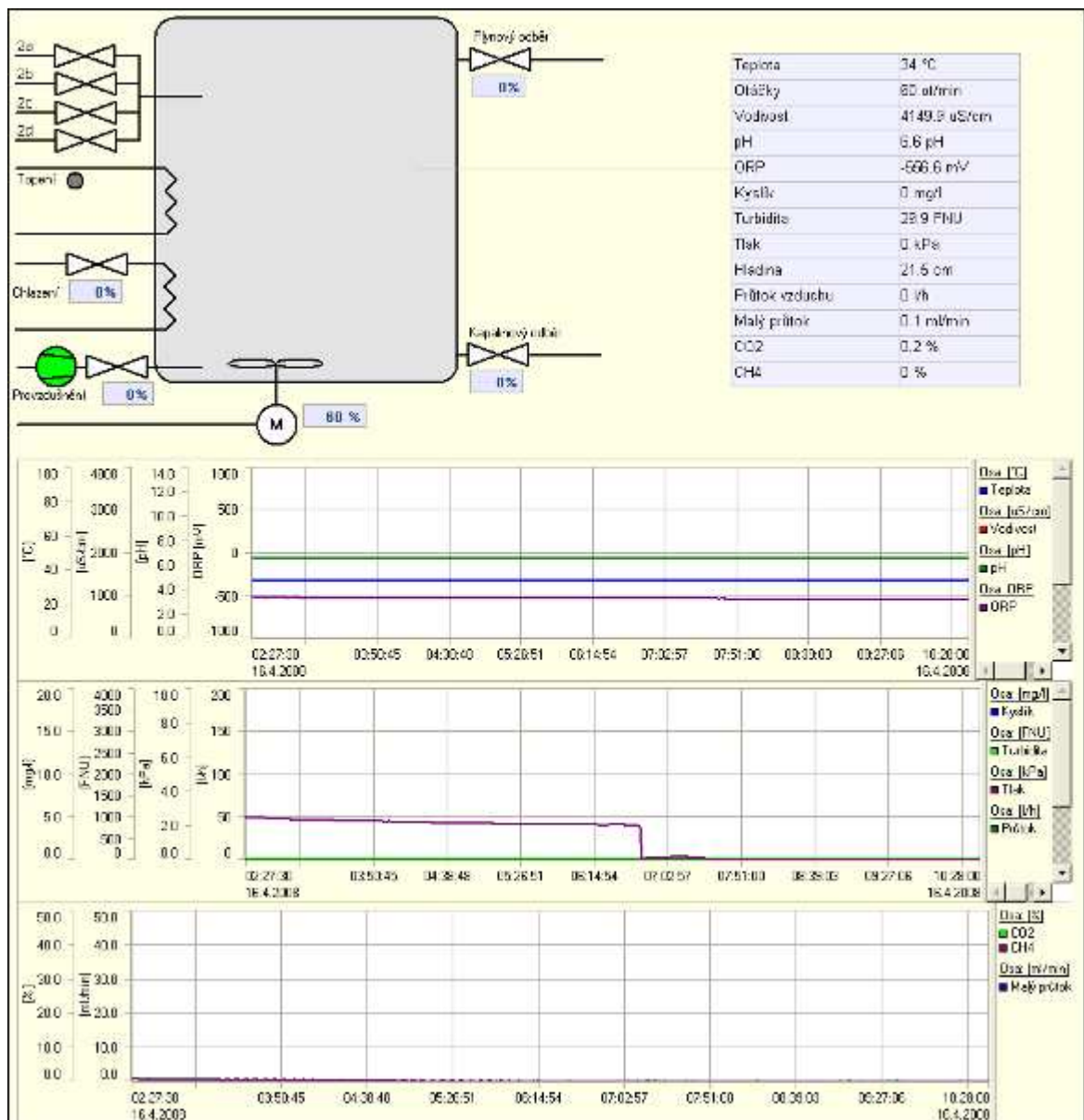
Pro pokusy byl použit středně velký laboratorní fermentor LF20 (Obr. 3) o celkovém objemu přibližně 20 l dříve používaný v JZD Slušovice.



Obr. 3. Fotografie fermentoru použitého v diplomové práci.

Fermentor po nedávné modernizaci [17] využívá pokročilý systém integrované automatizace umožňující vzdálený přístup k ovládání, automatickému provozu a sběru dat prostřednictvím informačních technologií. Softwarovou část integrované automatizace zajišťuje

aplikace Control Web [18], která zpracovává data a posílá je na server projektu LABI (laboratoře integrované automatizace) [19], jenž zajišťuje přístup přes internet (Obr. 4).



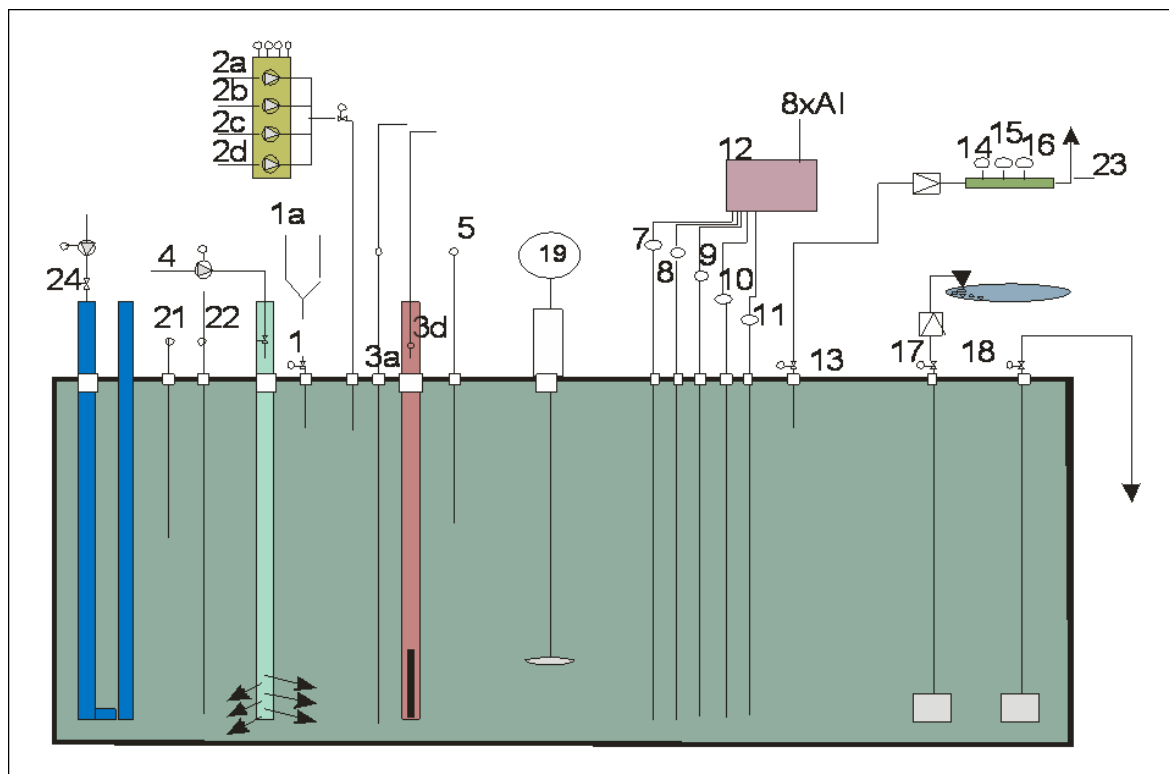
Obr. 4. Ukázka obrazovky získané programem Control Web na obrazovku počítače přes internetové rozhraní.

Fermentor umožňuje sledovat teplotu, otáčky míchání jeho obsahu, vodivost, pH, ORP, obsah rozpuštěného kyslíku, turbiditu (zákal), přetlak, výšku hladiny suspenze, průtok vzduchu a produkci CH_4 a CO_2 .

Fermentor je schopen regulovat teplotu, intenzitu míchání a aerace (provzdušňování), pH a tlak, což jsou veličiny mající klíčový význam pro činnost mikroorganismů. Z fermentoru je

možné odebírat vzorky jak kapalné tak i plynné fáze.

Většina důležitých součástí fermentoru pro procesy anaerobního rozkladu je znázorněna na obrázku (Obr. 5).



Obr. 5. Schéma fermentoru použitého v diplomové práci. 24 - chlazení průtokem, 21 - sonda pro měření relativního tlaku, 22 - sonda pro měření výšky hladiny, 2a/2b/2c/2d - ventily pro dávkování peristaltickými čerpadly, 3d - ohřev topným tělesem, 19 - motor na míchání, 7 - sonda pro měření vodivosti, 8 - sonda pro měření pH, 9 - sonda pro měření obsahu rozpuštěného kyslíku, 10 - sonda pro měření ORP, 11 - sonda pro měření turbidity, 12 - lokální vyhodnocovací jednotka SC1000, 13 - ventil pro odběr plynné fáze, 14 - sonda pro měření produkce CO_2 , 15 - sonda pro měření produkce CH_4 , 17 - ventil pro odběr kapalné fáze [20].

Z důvodu snížení vlhkosti, která negativně působí na sondy CH_4 a CO_2 byly k fermentoru připojeny dvě kolony s hrubým silikagelem, které jsou pravidelně vyměňovány.

2.2.1 Okruhy měření plynné fáze

V laboratorním fermentoru LF20 použitém v diplomové práci lze organické látky rozkládat jak aerobně, tak i anaerobně. Při anaerobní fermentaci organického substrátu mikroorga-

nismy přeměňují uhlík obsažený v substrátu na CH_4 a CO_2 . Důležitá je zejména tvorba methanu, jenž se dá využít jako palivo. Tato produkce plynů byla měřena pomocí sond GASCARD II vyráběných divizí Edinburgh Sensors, firmy Edinburgh Instruments Ltd. (Obr. 6). Sondy pracují na principu infračerveného záření, které je vysíláno LED zdroji emitujícími širokopásmové záření. To je vedeno plynem ve vzorkovací komůrce a prochází dvěma filtry až do detektoru, který funguje na základě měření množství infračervené energie absorbované plynem, měří tedy molekulární hustotu respektive počet molekul v trajektorii paprsku.



Obr. 6. Fotografie sond pro měření plynné fáze.

2.2.2 Srovnání s fermentory dostupnými na trhu

Fermentor LF20 použitý ke všem pokusům je srovnáván s na trhu běžně dostupnými fermentory o přibližně stejném pracovním objemu BioFlo firmy New Brunswick Scientific (Tab. 1). Jedná se o jednoho z nejvýznamnějších výrobců laboratorních fermentorů na světě.

Bioreaktory BioFlo 110, 310 a 415 mají vestavěnou kaskádovitou jednotku automaticky upravující pH a obsah rozpuštěného kyslíku (pH upravuje přidávkem kyseliny nebo hydroxidu a množství rozpuštěného kyslíku úrovní míchání) a možnost přikoupit rotametr pro

manuální kontrolu toku plynu.

Všechny laboratorní fermentory BioFlo firmy New Brunswick Scientific mají ovladač míchání plynů umožňující míchání 4 plynů (CO₂, N₂, O₂ a vzduch) s možností rozšíření na 4 ovladače - každý pro jeden plyn a možnost bezplatné aktualizace ovládacího programu z webových stránek.

Tab. 1. Výbava laboratorních fermentorů BioFlo 110, 310, 415 a fermentoru LF20.

	BioFlo 110	BioFlo 310	BioFlo 415	LF20
Kultury	AE i AN mikrobiální, kvasinky, rostliny, hmyz, savci	bakterie, kvasinky, houby, rostliny, hmyz, savci	AE i AN mikrobiální, bakterie, kvasinky, houby	AE i AN mikrobiální, bakterie
Objem [l]	1,3 / 3 / 7,5 / 14	2,5 / 5 / 7,5 / 14	7 / 14 / 19,5	20
Sondy	pH, rozpuštěný O ₂ , hladina, teplota	pH, rozpuštěný O ₂ , hladina, teplota	pH, rozpuštěný O ₂ , 2x hladina, teplota	pH, rozpuštěný O ₂ , hladina, teplota, ORP, vodivost, zákal, turbidita, produkce CH ₄ a CO ₂
Volitelné sondy	žádné	pH, rozpuštěný O ₂ , 2x hladina, ORP	pH, rozpuštěný O ₂ , 2x hladina, ORP	libovolné (omezené počtem otvorů)
Čerpadla	4 peristaltická	3 peristaltická + možnost externích	3 peristaltická + možnost externích	Až 4 peristaltická

Pozn.: V řádku kultura je rostlinami, hmyzem, savci myšleno buňky rostlin, hmyzu a savců, popř. tkáňové kultury/štěpy.

Fermentor použitý v této diplomové práci má oproti fermentorům BioFlo hlavně tu výhodu, že obsahuje řídicí software s napojením na internet, což znamená, že průběh pokusu lze

ovlivňovat z jakéhokoli počítače s připojením na internet. Dále má větší množství sond a zejména sondy pro měření plynné fáze, konkrétně produkci CH_4 a CO_2 . Mezi nevýhody pak patří nemožnost sterilizace vodní parou kvůli elektronice použitých sond a problémy s utěsněním fermentoru.

2.3 Cíle diplomové práce

Cílem diplomové práce je poloprovozní ověření pracovních postupů při práci s fermentorem za anaerobních podmínek, nalezení nedostatků a ověření jejich odstraňování. Dále pak zprovoznění měřících okruhů zařízení fermentoru, zejména sond pro měření plynné fáze. Diplomová práce tak navazuje na předchozí práce vypracované na ústavu Inženýrství ochrany životního prostředí [17] a [21], které se však věnovaly pokusům probíhajícím za aerobních podmínek.

V rámci možností se pokusy diplomové práce zaměří také na anaerobní rozklad glycerolu s ohledem na produkci bioplynu. Glycerol byl vybrán jako substrát kvůli své dobré a známé biologické rozložitelnosti.

PRAKTICKÁ ČÁST

3 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A PŘÍSTROJE

3.1 Chemikálie

Při laboratorních testech byly použity chemikálie od firmy Penta, Česká republika.

1% HCl	-	kyselina chlorovodíková
36% HCl	-	kyselina chlorovodíková
NaOH p.a.	-	hydroxid draselný
Glycerin p.a.	-	propan-1,2,3-triol
Standard	-	standart o složení CO ₂ 0,815 %; CH ₄ 4,07 %; N ₂ 95,115 %

3.2 Biomédium

Minerální medium bylo připraveno podle předpisů ÚIOŽP, které vycházející z norem ASTM D 5210-91 a ISO 11734 pro testování biorozložitelnosti za anaerobních podmínek. Množství následujících roztoků bylo použito na 1 litr minerálního media (doplněním destilovanou vodou do 1 litru):

- 40 ml fosforečnanového pufru (8,5 g/l KH₂PO₄; 21,75 g/l K₂HPO₄; 44,7 g/l Na₂HPO₄)
- 50 ml (NH₄)₂SO₄ (10 g/l)
- 1 ml CaCl₂ (27,5 g/l)
- 1 ml FeCl₃.6H₂O (0,25 g/l)
- 1 ml MgSO₄.7H₂O (22,5 g/l)
- 1 ml roztoku stopových prvků (0,75 g/l H₃BO₃; 3 g/l FeSO₄.7H₂O; 0,1 g/l ZnSO₄.7H₂O; 0,5 g/l MnSO₄.4H₂O; 0,05 g/l CuSO₄.5H₂O; 0,1813 g/l CoSO₄.7H₂O; 0,05 g/l (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O)

Po doplnění destilovanou vodou po rysku bylo pH upraveno pomocí přídatku 1% kyseliny chlorovodíkové na 7. Před použitím bylo médium probubláváno asi 20 minut dusíkem.

3.3 Přístroje

Analytické váhy SATORIUS, Německo

Analyzátor celkového organického uhlíku TOC-5000A, Shimadzu corp., Rakousko

Běžné laboratorní sklo a vybavení

Bublíkový průtokoměr Hewlett-Packard 1-10-100ML

Laboratorní pH metr inoLab pH/ION 735, WTW, Německo

Laboratorní sušárna UM200, Memmert, Německo

Membránové čerpadlo MP1, Chemoprojekt, ČSSR

Míchačka Elmag MM2A, LS, ČSSR

Odstředivka Hettich ROTANTA 460R

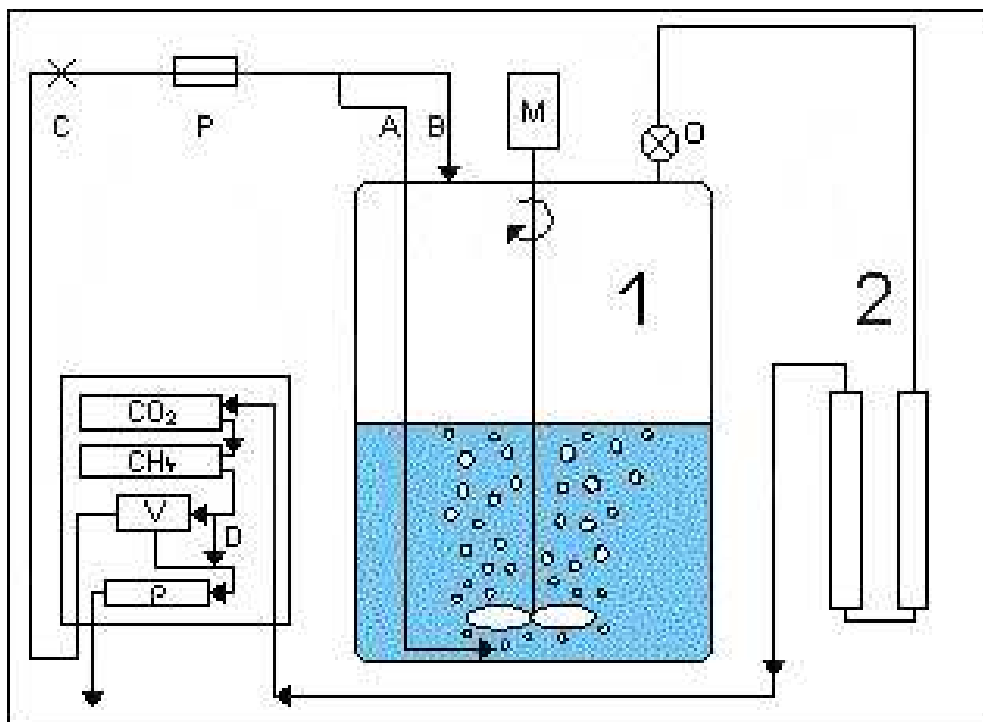
Plynotěsná injekční stříkačka HAMILTON, objem 1 000 μ l, Nevada

Rtuťový teploměr o rozsahu 0-100 °C s nejmenším dílkem 0,5 °C

Voltmetr VOLTCRAFT VC 444

4 ZAPOJENÍ SOND MĚŘENÍ PLYNNÉ FÁZE V POKUSECH

- Pokus 1 (zapojení A) – plynná fáze vycházela z fermentoru přes ventil a sušící kolony do sond pro měření CO_2 a CH_4 . Dále přes ventil do čerpadla a zpět pod hladinu suspenze ve fermentoru.
- Pokus 2 (zapojení B) - ve srovnání s prvním pokusem proudila plynná fáze stejnou cestou, ale ne pod hladinu nýbrž nad hladinu.
- Pokus 3 (zapojení C) - oproti předchozím pokusům byl systém uzavřen svorkou a plynná fáze byla po nárůstu na přetlak 6 kPa upouštěna přes přetlakový ventil a malý průtokoměr do ovzduší.
- Pokus 4 (zapojení D) - plyn proudil ze sond přímo do malého průtokoměru a poté do ovzduší.



Obr. 7. Schéma zapojení okruhu plynné fáze. 1 - fermentor, 2 - sušící kolony, A/B/C/D - zapojení při jednotlivých pokusech, CO_2 - sonda pro měření produkce oxidu uhličitého, CH_4 - sonda pro měření produkce methanu, M - motor míchání, P - čerpadlo, V - přetlakový ventil, ρ - malý průtokoměr.

5 EXPERIMENT 1

5.1 Cíl pokusu

Cílem pokusu bylo ověření pracovních postupů při provozu fermentoru za anaerobních podmínek a zprovoznění měřících okruhů zařízení fermentoru.

5.2 Postup práce

V pokusu byl použit anaerobní kal o sušině 21,2 g/l z čistírny odpadních vod v Malenovicích, který byl ponechán 5 dní zrát v inkubátoru při teplotě 35 °C. Poté bylo odebráno přibližně 1887 ml tohoto kalu k odstředění v odstředivce po dobu 12 minut při 4 000 otáčkách za minutu a teplotě 20 °C. Supernatan byl slit a zahuštěný anaerobní kal byl rozmíchán v biomédiu, které bylo po dobu 45 minut probubláváno dusíkem za účelem odstranění kyslíku. Vzniklá suspenze byla vpravena do fermentoru a taktéž probublávána dusíkem po dobu přibližně 30 minut.

Poté byly s využitím přetlaku odebrány vzorky kapalné fáze na stanovení sušiny suspenze ve fermentoru a na stanovení obsahu rozpuštěného organického uhlíku (DOC). Po kontrole těsnosti sestavy bioreaktoru byl pokus spuštěn.

5.3 Průběh pokusu

Prvních 73 hodin probíhal pokus bez substrátu jako slepý. Poté bylo přidáno 12,00 g glycerolu a tím začal vlastní pokus. Každý den byly s využitím přetlaku odebírány vzorky kapalné fáze na stanovení obsahu DOC a na pH metru byl měřen ORP a pH.

Všechny údaje ze sond byly automaticky zaznamenávány v pěti-minutových intervalech a ukládány na internetový server (pokus ANpilot23.11.2007 [22]). Po 167,5 hodinách byl odebrán vzorek kapalné fáze na stanovení sušiny suspenze ve fermentoru a poté byl pokus ukončen.

5.3.1 Průběh sledovaných veličin

Tab. 2. Počáteční hodnoty sledovaných veličin 1. pokusu.

Parametr	Hodnota	Parametr	Hodnota
Teplota	26,24 [°C]	pH	6,88 [1]
Otáčky	120 [ot/min]	Přetlak	0 [kPa]
Hladina	23,08 [cm]	Turbidita	94,95 [FNU]
Vodivost	3998,25 [μ S/cm]	Průtok vzduchu	0 [l/h]
Sušina	9,161 [g/l]	Malý průtok	0,23 [ml/min]
ORP	-404,9 [mV]	CO ₂	0,52 [%]
Kyslík	0,1 [mg/l]	CH ₄	0,66 [%]

Průtok vzduchu byl v průběhu pokusu nulový, protože se pracovalo v anaerobní oblasti. Malý průtok zaznamenával průtok plynů při jejich upouštění z fermentoru po dosažení nastaveného přetlaku. Přetlak byl v našem případě nastaven na 5 kPa.

Teplota byla na začátku pokusu 26,24 °C a po zahřátí na nastavenou hodnotu 32 ± 1 °C se v průběhu celého pokusu měnila pouze v řádu setin °C. Po ukončení pokusu byla teplota uvnitř fermentoru změřena rtuťovým teploměrem. Zjištěná teplota byla o 1,5 °C nižší než u sondy na měření teploty, a proto byla tato sonda nakalibrována podle hodnoty získané rtuťovým teploměrem.

Míchání bylo nastaveno na 120 otáček za minutu a nebylo nutné je jakkoli měnit. Hladina suspenze ve fermentoru se postupně nepatrně snižovala odběrem vzorků kapalně fáze na stanovení obsahu DOC. Vodivost byla konstantní a pohybovala se mezi 3998 μ S/cm a 4002 μ S/cm. Rozsah měření vodivosti však nebyl na internetu dostačující a skutečné hodnoty z vodivostní sondy získané z převodníku Hach Lange se pohybovaly kolem hodnoty 4500 μ S/cm.

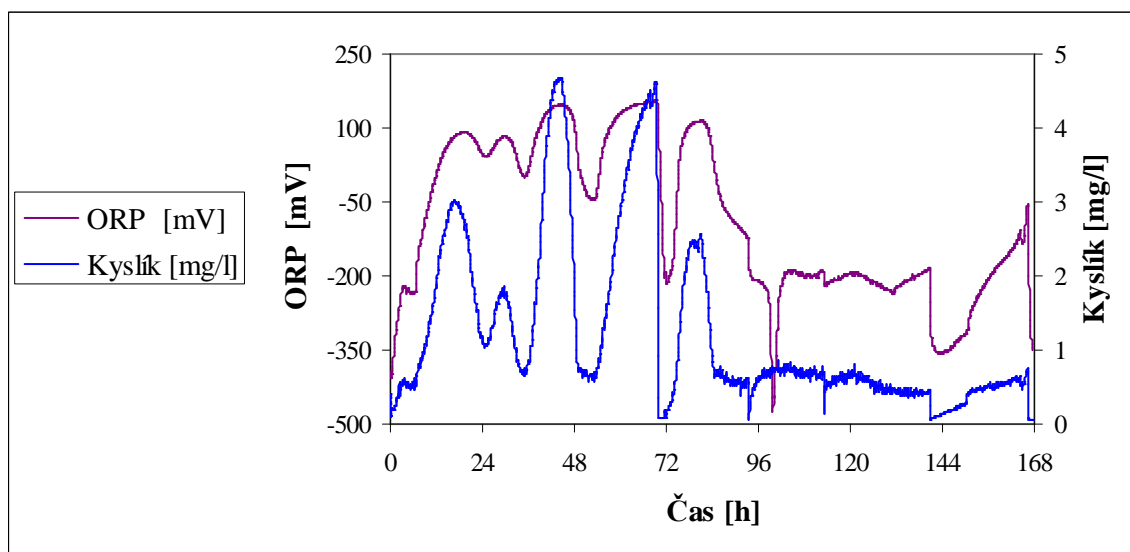
Tab. 3. Naměřené hodnoty pH, ORP a sušiny v průběhu 1. pokusu.

Čas měření [h]	pH [1]		ORP [mV]		Sušina [g/l]
	pH metr	Hach	pH metr	Hach	
0	neměřeno	6,88	neměřeno	-404,9	9,161
95	7,035	6,58	neměřeno	-148,5	7,897
114	6,950	6,45	-113,6	-211,9	neměřeno
138	7,195	6,38	-11,6	-199,6	neměřeno
168	6,936	6,45	neměřeno	-55,3	6,440

Pozn.: Termínem Hach je míněn převodník Hach Lange napojený na měřicí sondy fermentoru.

V tabulce (Tab. 3) lze vidět rozdíly v hodnotách pH měřených pH metrem a hodnotách měřených sondou (převodníkem Hach Lange), které se neshodují o přibližně 0,5. Z tohoto důvodu byla sonda na měření pH po ukončení pokusu nakalibrována dle hodnoty změřené na pH metru. Hodnoty ORP měřené na laboratorním potenciometru se s hodnotami ze sondy (převodníku Hach Lange) dost rozcházejí, proto byla sonda na měření ORP po ukončení pokusu nakalibrována podle hodnoty změřené na pH metru.

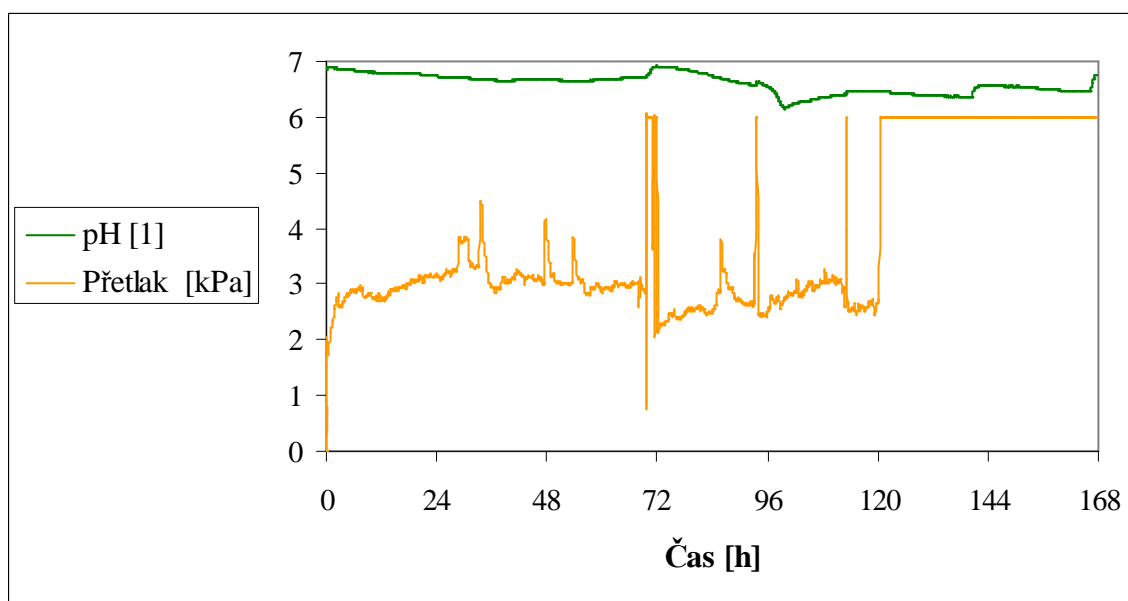
Pokles sušiny suspenze ve fermentoru z 9,161 g/l na 6,440 g/l souvisí s ukládáním anaerobního kalu v nepřístupných místech fermentoru.



Obr. 8. Hodnoty ORP a obsahu rozpuštěného kyslíku v průběhu 1. pokusu.

Obrázek (Obr. 8) zobrazuje průběh oxido-redukčního potenciálu a obsahu rozpuštěného kyslíku během pokusu. Hodnoty ORP značně kolísají a zejména v první půli pokusu se pohybují v kladných (pro anaerobní proces příliš vysokých) hodnotách, což je důsledek potíží s netěsností fermentoru. I po jejich vyřešení však byly hodnoty ORP nekonstantní díky probublávání dusíkem při každodenním odběru vzorků kapalné fáze na stanovení DOC, což narušilo ustálenou rovnováhu systému.

Na obrázku (Obr. 8) lze také spatřit velké výkyvy obsahu rozpuštěného kyslíku v suspenzi anaerobního kalu a biomédia, které se krátce po půlce pokusu snížily a průměrná hodnota obsahu kyslíku byla asi 0,5 mg/l. Tyto výkyvy souvisely s netěsností fermentoru a s denními odběry vzorků kapalné fáze na stanovení DOC. Výskyt kyslíku je v anaerobním pokusu nežádoucí, je proto nutné jeho obsah v dalších pokusech eliminovat nebo alespoň snížit na minimum. Hodnoty ORP úzce souvisí s obsahem rozpuštěného kyslíku, což obrázek (Obr. 8) potvrzuje.



Obr. 9. Hodnoty pH a přetlaku v průběhu 1. pokusu.

Obrázek (Obr. 9) znázorňuje nepravidelné kolísání pH mezi hodnotami 6,15 až 6,88 způsobené tvorbou organických kyselin vznikajících při anaerobním rozkladu.

Na obrázku (Obr. 9) je také zaznamenáno kolísání přetlaku okolo hodnoty 3kPa. Trojí zvýšení přetlaku na 6 kPa a jeho následný pokles prezentuje probublávání dusíkem při odběru vzorků kapalné fáze na stanovení obsahu DOC. Kolísání přetlaku bylo vyřešeno 6. den

(120,5. hodina průběžného času pokusu). Byl odhalen únik plynu u ventilu výstupu plynné fáze z fermentoru, po jehož utěsnění přetlak vzrostl na minimálně 6 kPa (více nebyl schopen přístroj zaznamenat).

Tab. 4. Koncentrace rozpuštěného organického uhlíku v průběhu 1. pokusu.

Čas měření [h]	DOC [mg/l]
0	141,3
71	151,7
73	518,2
95	447,6
114	309,8
138	222,7
168	131,0

Při anaerobním rozkladu vznikají plynné produkty (CO_2 a CH_4), jejichž množství souvisí s koncentrací rozpuštěného organického uhlíku (Tab. 4). Prvních 73 hodin, po které probíhal pokus bez substrátu jako slepý, byla průměrná hodnota obsahu DOC 146,5 mg/l. Poté bylo přidáno 12,00 g glycerolu obsahujícího 39,126 % uhlíku, což se rovná přídatku 4,695 g uhlíku. Díky tomu měl teoreticky obsah DOC skokově vzrůst na hodnotu 738,6 mg/l, vystoupal však pouze na 518,2 mg/l, což je důsledek brzkého odběru vzorku na stanovení obsahu DOC (glycerol ještě nebyl zcela rovnoměrně rozptýlen v celém objemu bioreaktoru). Dále koncentrace DOC očekávaně téměř lineárně klesala, v důsledku spotřebovávání jediného zdroje organického uhlíku mikroorganismy, až na hodnotu 131 mg/l (což odpovídá 100 % rozkladu glycerolu). Tento pokles by měl být doprovázen vzestupem produkce sledovaných plynů.

Hodnoty koncentrace CO_2 a CH_4 v průběhu pokusu kolísaly v rozmezí 0,2 - 0,7 %. Takto se však chovaly i po ukončení pokusu, kdy byla produkce plynů nulová. Indikované hodnoty koncentrací tedy neodpovídaly skutečným hodnotám v plynné fázi. Obdobný problém se vyskytl i u malého průtokoměru.

5.4 Vyhodnocení pokusu

Pokusem byly ověřeny pracovní postupy a měřící okruhy fermentoru při anaerobních podmínkách. V průběhu pokusu bylo zjištěno, že hodnoty ORP, pH a teploty získané ze sond neodpovídaly hodnotám naměřeným na laboratorním potenciometru, pH metru respektive rtuťovém teploměru, proto byly po ukončení pokusu na tyto hodnoty nakalibrovány. Po ukončení pokusu bylo taktéž zjištěno, že hodnoty vyprodukovaného množství CO_2 a CH_4 nelze použít k vyhodnocení, protože sondy plynné fáze ukazovaly stále stejné výstupní napětí (± 126 mV), což bylo způsobeno chybným zapojením sond.

Provedený pokus byl úspěšný ve zprovoznění respektive nakalibrování veškerých měřících zařízení. Odhalil také, že se při jakékoli manipulaci s fermentorem musí ověřovat jeho těsnost, která má zásadní vliv na tlak, ORP, obsah rozpuštěného kyslíku a další veličiny. Dále bylo zjištěno, že je do budoucna nutné zvýšit rozsah pro měření přetlaku a vodivosti, protože jejich hodnoty byly vyšší, než bylo možné změřit.

Do neúspěchů pokusu lze zařadit příliš vysoký obsah rozpuštěného kyslíku a z výše uvedených důvodů nevyhodnocení bilance produkce CO_2 a CH_4 .

6 EXPERIMENT 2

6.1 Cíl pokusu

Cílem pokusu bylo pokračování ve zprovoznování měřících okruhů zařízení fermentoru a snížení obsahu rozpuštěného kyslíku v suspenzi anaerobního kalu a biomédia. Proto byl upraven konec měřícího okruhu – stejně jako v prvním pokusu vycházela plynná fáze z fermentoru přes ventil a sušící kolony do sond pro měření CO₂ a CH₄, dále přes přetlakový ventil do čerpadla, ale v tomto pokusu nad hladinu suspenze ve fermentoru.

6.2 Průběh pokusu

Pro stanovení slepého pokusu byly využity hodnoty z předchozího pokusu (ANuza-vA24.1.2008 [22]), na který tento pokus bezprostředně navazoval. Z toho důvodu byl přídavek substrátu 12,00 g glycerolu proveden již po 40 minutách od spuštění pokusu.

Údaje ze sond byly automaticky zaznamenávány nejprve v minutových intervalech, později v patnácti-minutových intervalech a ukládány na internetový server (pokus Glycerol 2 [22]). Po 116,5 hodinách byl pokus ukončen.

6.2.1 Průběh sledovaných veličin

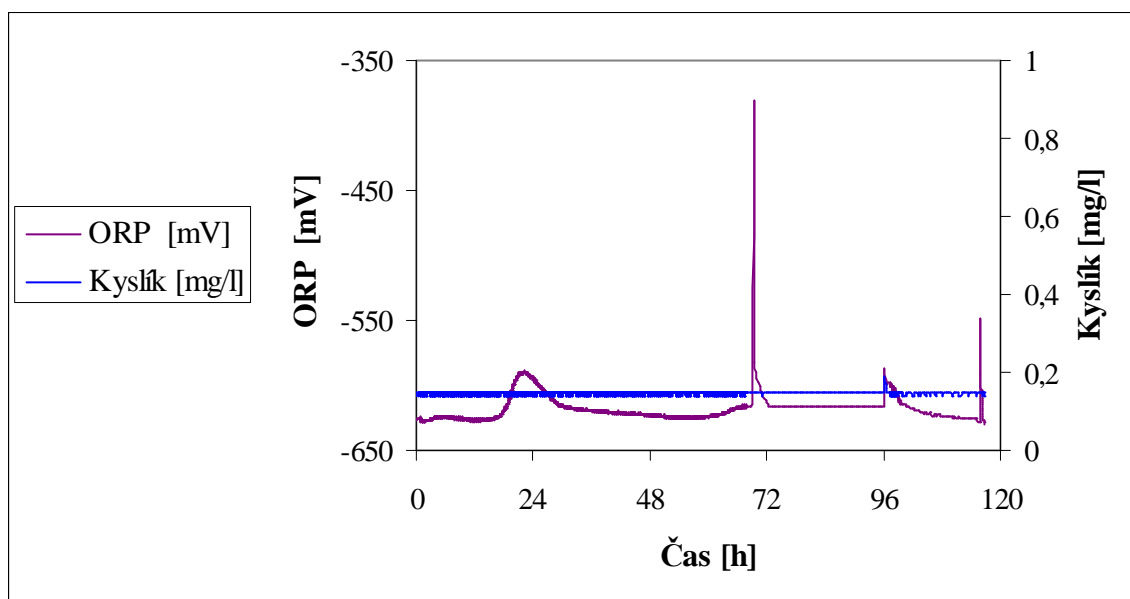
Teplota byla nastavena na 34 ± 1 °C, na začátku pokusu činila 33,08 °C a v jeho průběhu se pohybovala mezi 33 °C a 35 °C. Tento interval teplot lze považovat za optimální pro mikroorganismy podílející se na anaerobním rozkladu.

Míchání bylo stejně jako v minulém pokusu nastaveno na 120 otáček za minutu a nebylo nutné je jakkoli měnit. Hladina suspenze ve fermentoru se stejně jako v předchozím pokusu snižovala odběrem vzorků kapalné fáze na stanovení obsahu DOC. Z hodnoty 21,63 cm klesla o cca 0,5 cm.

Vodivost se v průběhu pokusu díky přísadkům hydroxidu sodného zvyšovala z 3558,85 μS/cm až na přibližně 4150 μS/cm. Zde se stejně jako v minulém pokusu projevil nedostatečný rozsah pro měření vodivosti z internetu, protože hodnoty z vodivostní sondy (převodníku Hach Lange) vystoupaly až na přibližně 4500 μS/cm.

Pokles sušiny suspenze ve fermentoru z 3,979 g/l na 3,166 g/l souvisí s ukládáním anaerobního kalu.

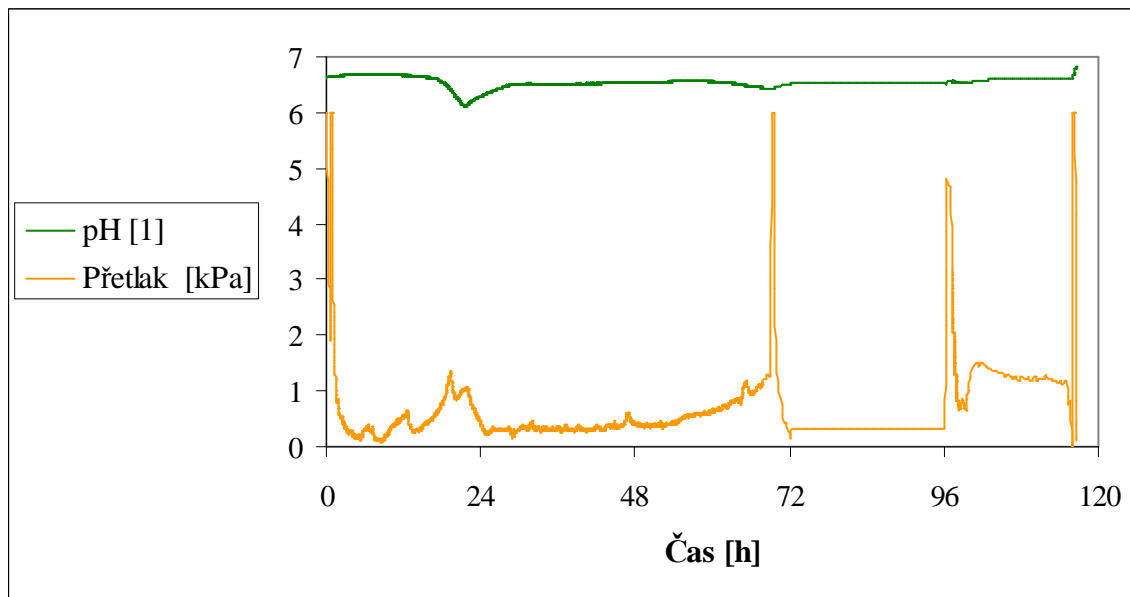
robního kalu v nepřístupných místech fermentoru.



Obr. 10. Hodnoty ORP a obsahu rozpuštěného kyslíku v průběhu 2. pokusu.

Obrázek (Obr. 10) zobrazuje relativně lineární průběh oxido-redukčního potenciálu okolo velice nízké hodnoty -615 mV. Nárůst ORP v 69. a 116. hodině průběžného času trvání pokusu odpovídá probublávání dusíkem při odběru vzorku kapalné fáze na stanovení DOC. V 72,5. hodině trvání pokusu došlo k poruše softwaru a na internetový server byly opakovaně ukládány stejné hodnoty všech zkoumaných veličin. Po restartu počítače v 96. hodině byl ORP vyšší než při zhroucení systému a na obrázku (Obr. 10) je tudíž vidět skokový nárůst, který však ve skutečnosti byl pozvolný. Na rozdíl od předchozího pokusu se ORP podařil udržet po celou dobu trvání pokusu v záporných a tudíž pro mikroorganismy anaerobního rozkladu příznivých hodnotách.

I přes potíže s utěsněním fermentoru se obsah rozpuštěného kyslíku v suspenzi anaerobního kalu a biomédia pohyboval mezi 0,13 mg/l a 0,14 mg/l (Obr. 10), což lze považovat za úspěch, protože tyto hodnoty jsou v porovnání s maximem v minulém pokusu 4,68 mg/l a průměrnou hodnotou přibližně 0,5 mg/l nesrovnatelně lepší.



Obr. 11. Hodnoty pH a přetlaku v průběhu 2. pokusu.

Obrázek (Obr. 11) znázorňuje poměrně lineární průběh pH začínající na hodnotě 6,62 a končící na hodnotě 6,81. Oproti předchozímu pokusu byly k fermentoru připojeny dvě peristaltická čerpadla pro dávkování kyseliny chlorovodíkové respektive hydroxidu sodného, což umožnilo pH udržovat na požadované hodnotě $7 \pm 0,5$. Propad pH ve 22. hodině průběžného času trvání pokusu souvisí s tvorbou organických kyselin vznikajících při anaerobním rozkladu. K tomuto propadu došlo, protože pH bylo korigováno zředěnými roztoky kyseliny respektive zásady (koncentrovanější roztok by pH vyrovnal mnohem rychleji, ale na druhou stranu působí korozivně a může dojít k „překmitu“ regulované veličiny).

Na obrázku (Obr. 11) je také zaznamenán nepříliš povzbudivý průběh přetlaku během pokusu. Bezprostředně po odpojení probublávání dusíkem klesl přetlak téměř na 0 a pouze při jeho opětovném připojení při odběru vzorků kapalné fáze na stanovení DOC přetlak vzrostl na minimálně 6 kPa. Zdroj úniku tlaku se odhalit nepodařilo. Od 72,5. hodiny trvání pokusu do 96. hodiny se ve fermentoru postupně hromadil plyn, aniž by byl tento nárůst (z výše uvedených důvodů) zaznamenán. Na obrázku (Obr. 11) je proto v 96. hodině průběžného času trvání pokusu vidět skokový nárůst přetlaku, který však ve skutečnosti byl pozvolný.

Tab. 5. Koncentrace rozpuštěného organického uhlíku v průběhu 2. pokusu.

Čas měření [h]	DOC [mg/l]
0	324,6
0,7	782,2
69	546,6
116	13,0

Vzhledem k tomu, že pokus bezprostředně navazoval na předchozí, měl obsah rozpuštěného organického uhlíku (Tab. 5) na počátku poměrně vysokou hodnotu 324,6 mg/l. V důsledku přidavku 12,00 g glycerolu, což se rovná přidavku 4,695 g uhlíku, skokově vzrostl obsah DOC na 782,2 mg/l. Dále koncentrace DOC očekávaně klesala přes hodnotu 546,6 mg/l po 72 hodinách průběhu pokusu až na 13,0 mg/l na konci pokusu. Tento pokles je však až moc razantní (odpovídal by 100 % rozkladu glycerolu) a pravděpodobně spíše než realitě odpovídá chybnému měření či spíše odběru vzorku. Pokles obsahu DOC byl doprovázen vzestupem produkce sledovaných plynů, vzhledem k potížím s netěsností fermentoru však nebylo možné produkci CO_2 a CH_4 vyhodnotit.

6.3 Vyhodnocení pokusu

Pokusem byly znovu ověřeny pracovní postupy a měřicí okruhy fermentoru při anaerobních podmínkách. V průběhu pokusu bylo zjištěno, že hodnoty ORP získané ze sondy opět neodpovídaly hodnotám naměřeným převodníkem Hach Lange, proto byly po ukončení pokusu na tyto hodnoty nakalibrovány. Na rozdíl od předchozího pokusu se však ORP podařilo udržet po celou dobu v záporných hodnotách. Obsah rozpuštěného kyslíku v suspenzi anaerobního kalu a biomédia se díky úpravě zapojení okruhu plynné fáze pohyboval pod 0,15 mg/l. Průběh pH byl lineárnější díky připojení dvou peristaltických čerpadel pro dávkování kyseliny chlorovodíkové respektive hydroxidu sodného, které pH udržovaly v blízkosti požadované zadané hodnoty 7. Kvůli potížím s netěsností fermentoru se nepodařilo zbilancovat produkci plynů CO_2 a CH_4 .

7 EXPERIMENT 3

7.1 Cíl pokusu

Cílem pokusu bylo vyřešení přetrvávajících potíží s netěsností fermentoru a další snížení obsahu rozpuštěného kyslíku v suspenzi anaerobního kalu a biomédia. Opět byl upraven měřicí okruh - systém byl uzavřen svorkou a plynná fáze byla po nárůstu na přetlak 6 kPa upouštěna přes přetlakový ventil a malý průtokoměr do ovzduší. Tato změna také usnadnila bilancování produkce vznikajících plynů CO_2 a CH_4 .

7.2 Postup práce

Postup práce byl stejný jako v prvním pokusu. Jedinými změnami byla sušina použitého anaerobního kalu činící 34,26 g/l a jeho odebraný objem k odstředění tudíž byl 1170 ml.

7.3 Průběh pokusu

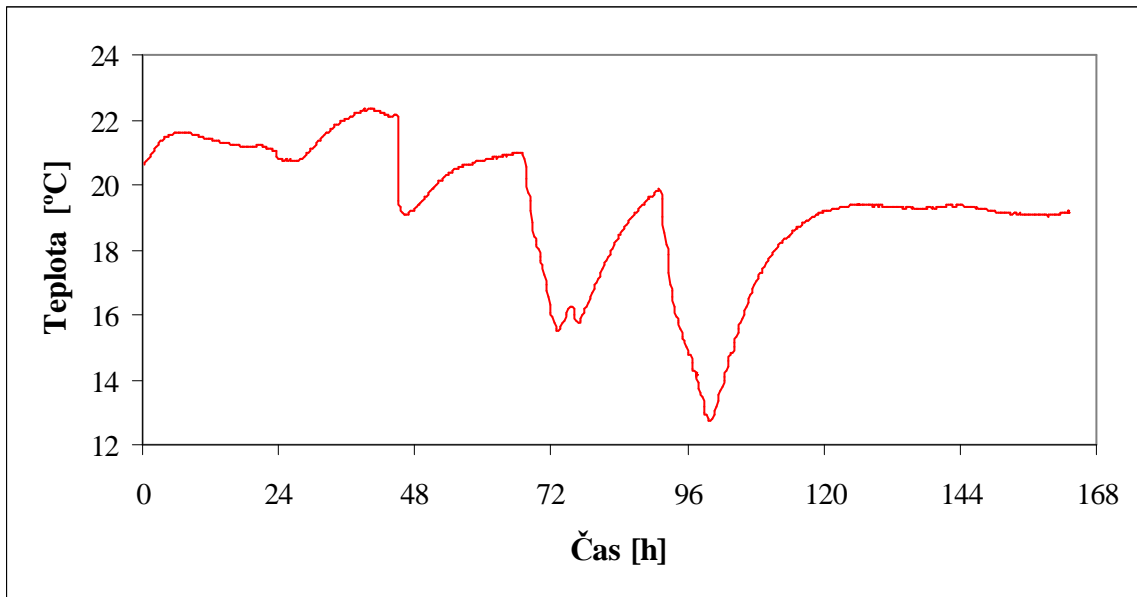
Prvních 44 hodin probíhal pokus bez substrátu jako slepý. Poté bylo přidáno 12,00 g glycerolu a tím začal vlastní pokus. Údaje ze sond byly zaznamenávány v patnácti-minutových intervalech a ukládány na internetový server (pokus Glycerol 3B [22]). Po 163 hodinách byl pokus ukončen.

7.3.1 Průběh sledovaných veličin

Míchání bylo stejně jako v předchozích pokusech nastaveno na 120 otáček za minutu a nebylo nutné je jakkoli měnit.

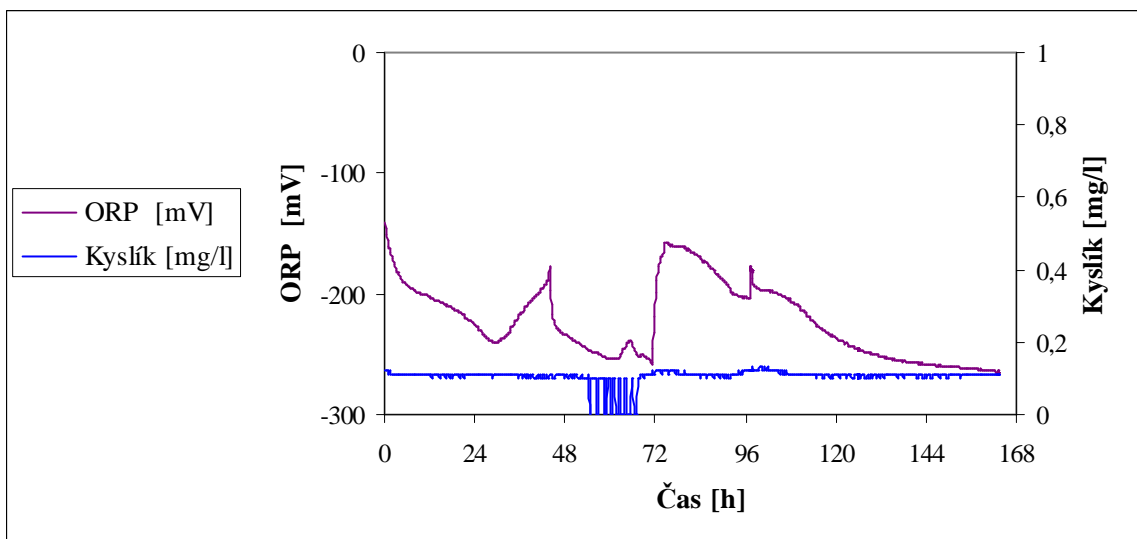
Hladina suspenze ve fermentoru se postupně z 20,28 cm snižovala odběrem vzorků kapalné fáze na stanovení obsahu DOC na konečných 18,07 cm, což činí oproti minulým pokusům značný pokles. Ten byl způsoben tím, že se při odběru vzorků několikrát ucpal ventil pro odběr kapalné fáze shluky anaerobního kalu a část obsahu fermentoru musela být proto odsána vývěvou. Vodivost se v průběhu pokusu téměř lineárně zvyšovala z 1816,25 $\mu\text{S}/\text{cm}$ na 2059,03 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Sušina suspenze ve fermentoru v průběhu pokusu klesla z 4,621 g/l na konečných 2,990 g/l. Tento pokles byl způsoben ukládáním kalu v nepříístupných místech fermentoru, tvorbou větších shluků anaerobního kalu a opakovaným odsátím menšího množství kalu při odběru vzorků kapalné fáze na stanovení DOC.



Obr. 12. Hodnoty teploty v průběhu 3. pokusu.

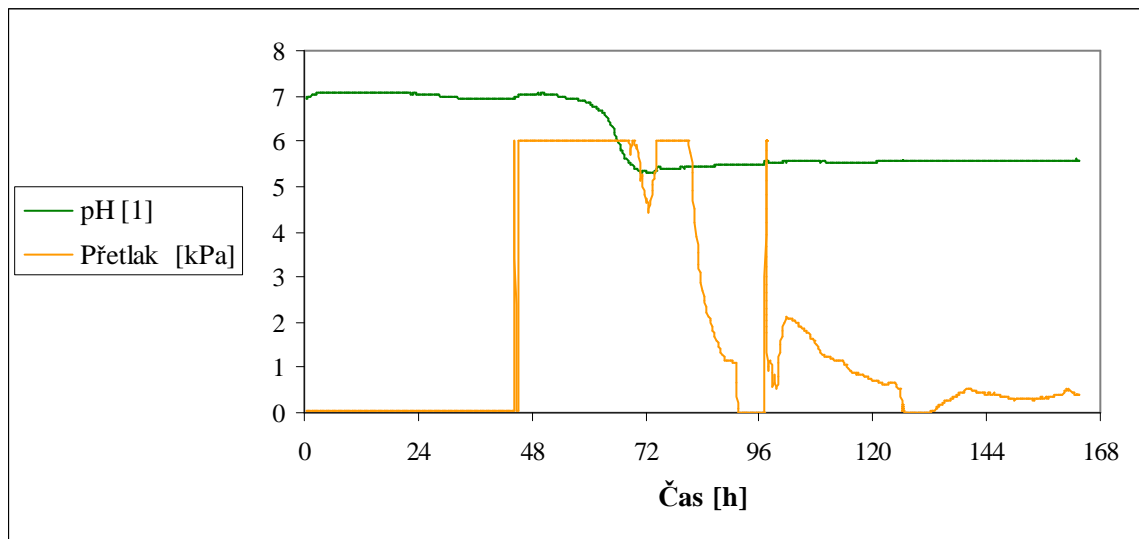
Před začátkem pokusu došlo nedopatřením ke zničení topného tělesa. V průběhu pokusu tudíž nemohl být obsah fermentoru zahříván na požadovanou teplotu 35 ± 1 °C, která je vhodná pro mikroorganismy podílející se na anaerobním rozkladu. Teplota na začátku pokusu byla 20,59 °C, během pokusu se pak měnila v závislosti na teplotě v místnosti, ve které byl fermentor umístěn od 12,7 °C do 22,3 °C (Obr. 12). Takto nízká teplota podstatně negativně ovlivnila celý provedený pokus.



Obr. 13. Hodnoty ORP a obsahu rozpuštěného kyslíku v průběhu 3. pokusu.

Obrázek (Obr. 13) zobrazuje nelineární průběh ORP, jenž kolísal v rozmezí -140,55 mV (na začátku) až -265,03 mV (na konci pokusu). Opakovaný pokles ORP při ustálení systému a jeho nárůst byl způsoben probubláváním dusíkem při odběru vzorků kapalné fáze na stanovení DOC. Stejně jako v předchozím pokusu se však ORP podařil udržet po celou dobu trvání pokusu v záporných a tudíž pro mikroorganismy anaerobního rozkladu příznivých hodnotách.

I přes opětovné potíže s utěsněním fermentoru obsah rozpuštěného kyslíku v suspenzi anaerobního kalu a biomédia nepřekročil 0,13 mg/l (Obr. 13). Jedná se tedy o hodnotu srovnatelnou s minulým pokusem.



Obr. 14. Hodnoty pH a přetlaku v průběhu 3. pokusu.

Při přípravě fermentoru na tento pokus prasknul nástavec pro dávkování kyseliny chlorovodíkové a hydroxidu sodného. Během pokusu tedy nebylo možné ovlivňovat hodnotu pH a udržovat ho peristaltickými čerpadly kolem požadované hodnoty 7 jako tomu bylo v předchozím pokusu. Obrázek (Obr. 14) znázorňuje skoro lineární průběh pH v prvních 56 hodinách trvání pokusu kolem hodnoty 7, posléze pH kleslo v průběhu 16 hodin na 5,31, odkud opětovně pomalu rostlo až do konce pokusu na hodnotu 5,59. Zmíněný výrazný a rychlý pokles pH pravděpodobně souvisí se spotřebováním dodaného fosforečnanového pufru mikroorganismy.

Na obrázku (Obr. 14) je také zaznamenán vývoj přetlaku v průběhu pokusu. Prvních 44 hodin probíhal pokus přes víkend a nebyl tudíž hledán zdroj úniku přetlaku. Po natlakování

fermentorů dusíkem kvůli odběru vzorku kapalně fáze na stanovení DOC byl odhalen únik plynu u ventilu výstupu plynné fáze z fermentoru, po jehož utěsnění přetlak vzrostl na minimálně 6 kPa. Přetlak na této hodnotě vydržel až do dalšího odběru vzorku v 75. hodině průběžného času trvání pokusu. Od 82. hodiny přetlak postupně klesl na 0 a ani po natlakování dusíkem kvůli dalšímu odběru vzorku v 98. hodině se nedokázal udržet. Netěsnost se však i přes veškerou snahu nalézt nepodařilo.

Tab. 6. Koncentrace rozpuštěného organického uhlíku v průběhu 3. pokusu.

Čas měření [h]	DOC [mg/l]
0	464,2
44	48,2
45	462,8
75	429,2
98	441,4
163	452,6

Jak lze vidět v tabulce (*Tab. 6*), naměřené hodnoty koncentrace DOC se při tomto pokusu nepohybovaly příliš logicky a to pravděpodobně v důsledku (z výše uvedených důvodů) příliš nízké teploty a pH nevhodných pro anaerobní proces. Během prvních 44 hodin probíhal pokus bez substrátu jako slepý a přesto zaznamenal obsah DOC nečekaně velký pokles o 416 mg/l. Dá však také polemizovat, jestli nebylo měření první hodnoty chybné, nicméně tuto teorii nelze zpětně kvalifikovaně potvrdit ani vyvrátit. Následoval očekávaný nárůst obsahu DOC po přidání substrátu na 462,8 mg/l. Teoreticky však měl narůst až na hodnotu 635,1 mg/l, této hodnoty nebylo dosaženo kvůli nedostatečnému rozpuštění přidaného glycerolu před odběrem vzorku na stanovení DOC. Dále obsah DOC zaznamenal logický pomalý pokles v důsledku spotřebovávání jediného zdroje organického uhlíku mikroorganismy na 429,2 mg/l. Poté měla koncentrace DOC nadále klesat, namísto toho však až do konce pokusu pomalu narůstala na konečných 452,6 mg/l. Dle naměřených hodnot bylo rozloženo pouze 2,5 % glycerolu, což rozhodně neodpovídá realitě a potvrzuje teorii o chybném měření obsahu DOC v tomto pokusu. Chyba měření byla pravděpodobně způsobena nutným opakovaným odsátím menšího množství kalu kvůli ucpanému ventilu na od-

běr kapalně fáze a také zamražením vzorků na stanovení DOC bez předchozí filtrace. Díky zamražení nebyla tato chyba měření odhalena a napravena, protože vzorky byly stanovovány až po ukončení pokusu. Díky úniku plynů z fermentoru a minimální tvorbě CO_2 a CH_4 v důsledku nevhodných procesních podmínek opět nebylo možné plynou produkci zbilancovat.

7.4 Vyhodnocení pokusu

Před začátkem pokusu došlo nedopatřením ke zničení topného tělesa a prasknutí nástavce pro dávkování kyseliny chlorovodíkové a hydroxidu sodného. V průběhu pokusu tudíž nemohl být obsah fermentoru zahříván na požadovanou teplotu $35\text{ }^\circ\text{C}$ a nebylo možné udržovat pH kolem požadované hodnoty 7. Tyto skutečnosti tak od začátku podstatně negativně ovlivňovaly celý pokus, zejména se pak podepsaly pod nelineární průběh ORP a pH. Obsah rozpuštěného kyslíku v suspenzi anaerobního kalu a biomédia se díky další úpravě zapojení okruhu plynné fáze pohyboval pod $0,13\text{ mg/l}$.

Provedený pokus potvrdil skutečnost, že je nutné dodržovat optimální podmínky pro anaerobní rozklad. Neprobíhá-li proces tak, jak by měl probíhat, mikroorganismy nedokážou během jednoho týdne rozložit dodaný substrát a produkce plynů je tak nízká, že ji nelze zbilancovat.

8 EXPERIMENT 4

8.1 Cíl pokusu

Cílem pokusu bylo vyřešení opakujících se potíží s netěsností fermentoru a kvůli podezření na únik plynů z přetlakového ventilu znemožňující jejich správné vyhodnocení byl i tentokrát měřicí okruh upraven - plynná fáze proudila ze sond pro měření produkce CO₂ a CH₄ přímo do malého průtokoměru a poté do ovzduší.

8.2 Postup práce

Postup práce byl stejný jako v předchozím pokusu. Jedinými změnami byla sušina použitého anaerobního kalu činící 27,85 g/l a jeho odebraný objem k odstředění tudíž byl 1436 ml.

8.3 Průběh pokusu

Prvních 68,5 hodin probíhal pokus bez substrátu jako slepý. Poté bylo přidáno 12,00 g glycerolu a tím začal vlastní pokus. Údaje ze sond byly zaznamenávány v třiceti-minutových (při odpouštění plynů v 30 sekundových a později 3 sekundových) intervalech a ukládány na internetový server (pokus Glycerol 5 AN11.4.2008 [22]). Po 164,5 hodinách byl pokus ukončen.

8.3.1 Průběh sledovaných veličin

Teplota byla nastavena pouze na 29 ± 1 °C, protože (pravděpodobně správná) teplota získaná ze sondy ukazovala o 6 °C více než byla teplota zobrazující se na internetu. Po 68 hodinách průběhu pokusu byl opraven vadný kontakt teplotní sondy a hodnoty ze sondy i internetu se začaly shodovat, proto byla teplota přenastavena na 34 ± 1 °C. Od nastavených hodnot se teplota během pokusu odchýlila jen v řádu setin °C a byla tudíž optimální.

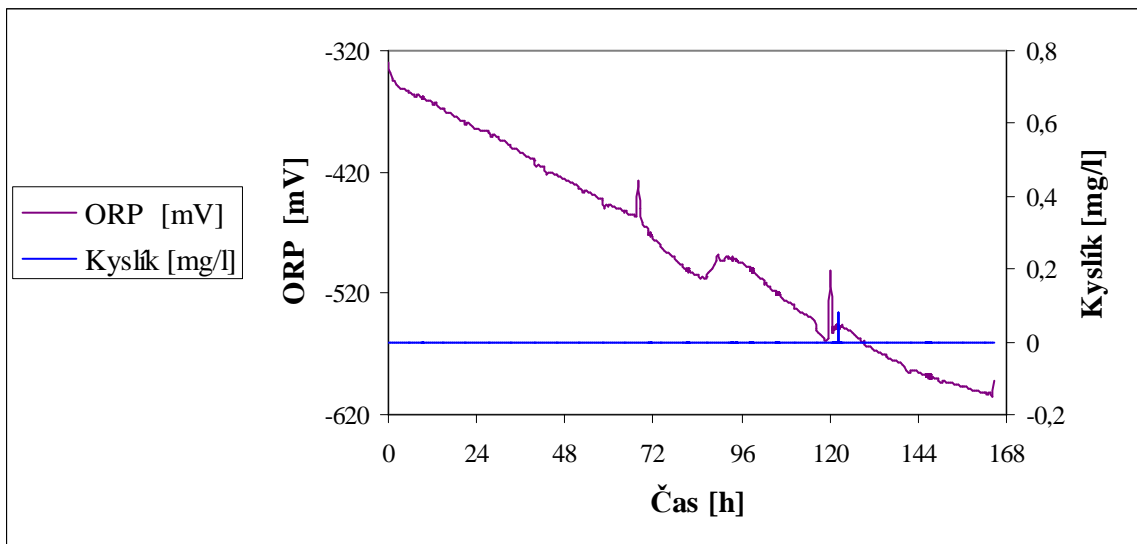
Míchání bylo stejně jako ve všech předchozích pokusech nastaveno na 120 otáček za minutu a nebylo nutné je jakkoli měnit. Hladina suspenze ve fermentoru se opět snižovala odběrem vzorků na stanovení obsahu DOC. Z hodnoty 21,95 cm klesla na 20 cm.

Vodivost byla konstantní a pohybovala se mezi 4145 μS/cm a 4151 μS/cm. Zde se stejně jako v předchozích pokusech projevil nedostatečný rozsah pro měření vodivosti z internetu, protože hodnoty z vodivostní sondy (převodníku Hach Lange) byly vyšší. Pokles sušiny suspenze ve fermentoru z 4,565 g/l na 4,069 g/l souvisí s ukládáním anaerobního kalu

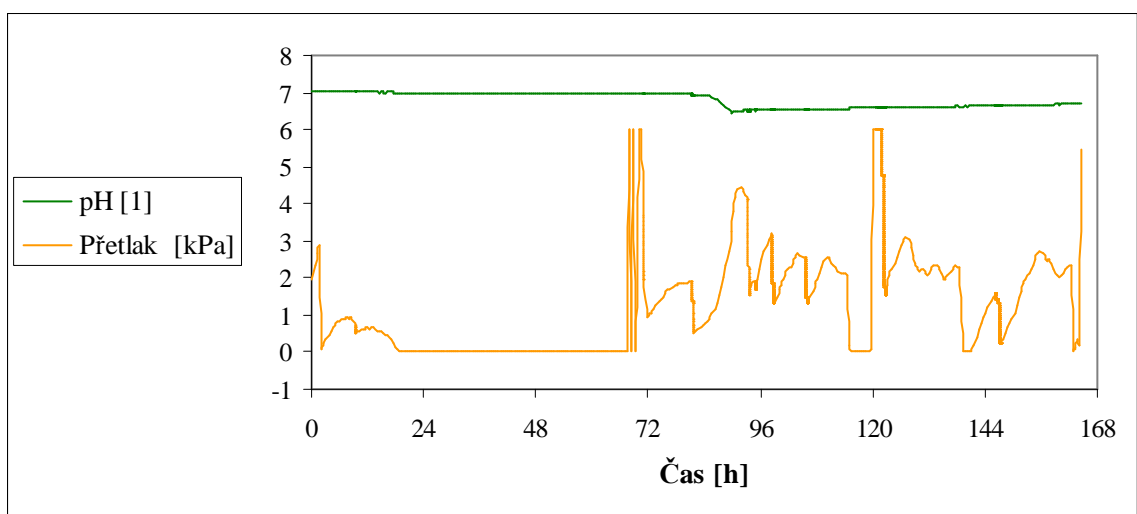
v nepřístupných místech fermentoru.

Obrázek (Obr. 15) zobrazuje téměř lineární pokles ORP z hodnoty -329,39 mV na -604,6 mV. I přes opakovaný nárůst v 68,5., 92. a 120. hodině průběžného času trvání pokusu, odpovídající probublávání dusíkem při odběru vzorků, se ORP opět podařil udržet v záporných hodnotách.

Na obrázku (Obr. 15) lze také vidět konstantní průběh obsahu rozpuštěného kyslíku v suspenzi anaerobního kalu a biomédia na hodnotě 0 mg/l. Skutečné hodnoty ze sondy (převodníku Hach Lange) se pohybovaly maximálně do 0,08 mg/l. Jedná se o nejnižší hodnotu ze všech provedených pokusů, která je pro anaerobní procesy dostačující.



Obr. 15. Hodnoty ORP a obsahu rozpuštěného kyslíku v průběhu 4. pokusu.



Obr. 16. Hodnoty pH a přetlaku v průběhu 4. pokusu.

Obrázek (*Obr. 16*) znázorňuje poměrně lineární průběh pH mezi hodnotami 6,46 a 7,04. Propad pH v 89. trvání pokusu pravděpodobně souvisí se spotřebováním dodaného fosforečnanového pufru mikroorganismy.

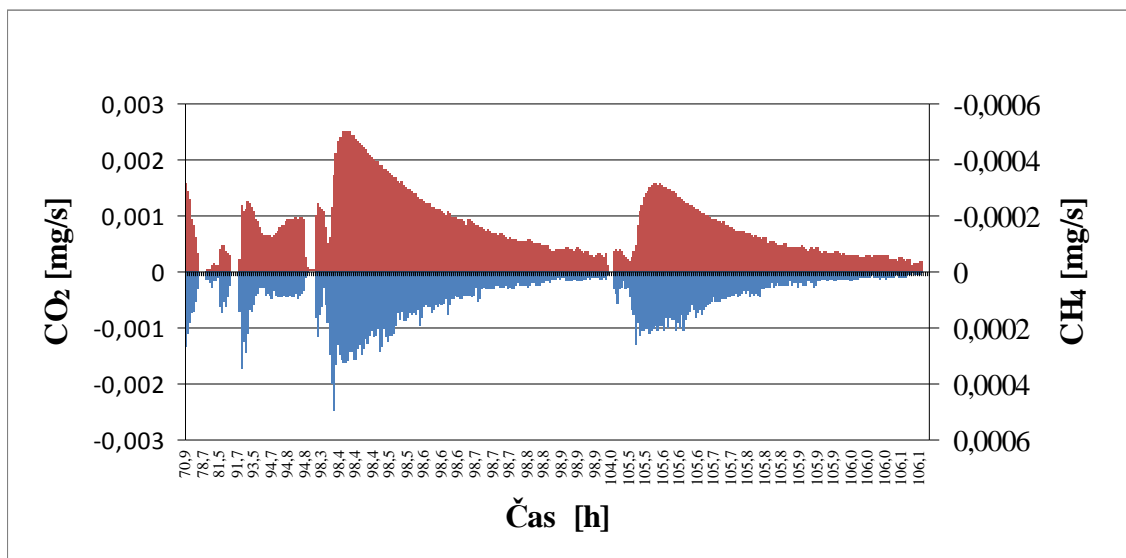
Na obrázku (*Obr. 16*) je také zaznamenáno výrazné kolísání přetlaku během pokusu. Trojí zvýšení přetlaku nad 4 kPa prezentuje probublávání dusíkem při odběru vzorků (92., 120. a 164,5. hodina průběžného času trvání pokusu). Nulový přetlak mezi 19. a 68. hodinou trvání pokusu byl způsoben únikem plynu z fermentoru díky netěsnosti u ventilu odběru kapalné fáze. Tento únik nebyl kompenzován produkcí bioplynu, protože pokus v tuto dobu byl ve fázi slepého pokusu (minimální produkce bioplynu). Skokové nárůsty respektive poklesy přetlaku v období 68. a 70,5. hodiny odpovídají probublávání dusíkem při odběru vzorku respektive utěšňování ventilu odběru kapalné fáze. Výrazné kolísání přetlaku od 72,5. hodiny až do konce pokusu souvisí s kumulováním plynů ve fermentoru a jejich opakovaným dálkově řízeným ručním upouštěním za účelem zbilancování produkce CO₂ a CH₄.

Tab. 7. Koncentrace rozpuštěného organického uhlíku v průběhu 4. pokusu.

Čas měření [h]	DOC [mg/l]
0	92,9
68,5	86,4
70	648,8
164,5	323,5

V tabulce (*Tab. 7*) je vidět, že obsah DOC během prvních 68,5 hodin trvání pokusu, kdy tento probíhal bez substrátu jako slepý, klesl o 6,5 mg/l. Po přidavku 12,00 g glycerolu obsah DOC adekvátně skokově vzrostl na 648,8 mg/l. V důsledku spotřebovávání jediného zdroje organického uhlíku mikroorganismy pak obsah DOC na konci pokusu klesl na hodnotu 323,5 mg/l (což odpovídá 57,8 % rozkladu glycerolu). Tento průběh koncentrace DOC ze všech provedených pokusů nejlépe odpovídal předpokladům, což je důsledek správných odběrů vzorků i měření a zredukování počtu odběrů na čtyři (na začátku pokusu, před a po přidavku substrátu a na konci pokusu).

8.4 Bilance produkce vznikajících plynů CO₂ a CH₄



Obr. 17. Bilance produkce vznikajících plynů CO₂ a CH₄.

Pomocí programu MS Excel® byla provedena bilance produkce vznikajících plynů CO₂ a CH₄. V průběhu pokusu bylo z fermentoru upuštěno 944 ml plynu obsahujícího 1,0 mg uhlíku ve formě CO₂ a 7,7 mg uhlíku ve formě CH₄. K těmto hodnotám je nutné připočíst obsah plynu obsaženého v nádobě fermentoru o objemu 8,4 l. Množství plynu v nádobě bylo získáno vynásobením množství CO₂ a CH₄ v odpuštěném plynu objemem plynné fáze v nádobě bioreaktoru. Celkové vypočtené množství vyprodukovaného uhlíku ve formě CO₂ bylo 9,5 mg a uhlíku ve formě CH₄ 71,9 mg. Ze stanovení obsahu DOC však vyplývá, že bylo mikroorganismy rozloženo 2732,5 mg uhlíku. Obrovský rozdíl mezi množstvím uhlíku změřeným v bioplynu a úbytkem stanoveným pomocí DOC byl pravděpodobně způsoben únikem plynů v důsledku netěsnosti fermentoru a nepromícháváním plynné fáze.

8.5 Vyhodnocení pokusu

Poslední čtvrtý pokus lze označit za nejúspěšnější ze všech provedených pokusů, což demonstuje popis nejdůležitějších veličin anaerobního rozkladu. Teplota byla v průběhu celého pokusu 34 °C a měnila se pouze v řádu setin °C. ORP během pokusu lineárně klesal a opět se podařilo udržet v záporných hodnotách. Obsah rozpuštěného kyslíku v suspenzi anaerobního kalu a biomédia byl konstantní a ze všech pokusů na nejnižší hodnotě 0,08 mg/l. Do budoucna nutné zvýšit rozsah pro měření obsahu rozpuštěného kyslíku, protože

jeho hodnoty byly nižší, než bylo možné změřit. Průběh pH byl ze všech pokusů nejlineárnější.

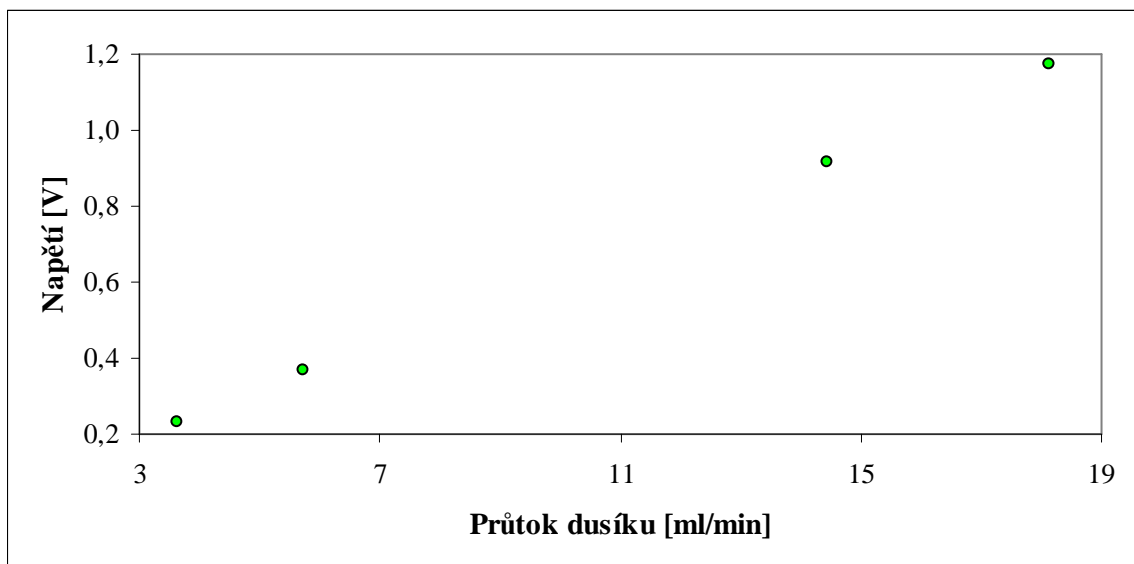
Na rozdíl od ostatních pokusů bylo možné zbilancovat produkci vznikajících plynů CO_2 a CH_4 , nicméně ta neodpovídala množství rozloženého uhlíku. Nejvhodnějším řešením vedoucím ke správnému zbilancování plynné produkce bude pravděpodobně umístění měřících částí sond přímo do nádoby fermentoru se zajištěným mícháním plynné fáze. Druhou možností je sestavit měřící okruh plynné fáze jako tomu bylo v druhém pokusu, avšak se zajištěním plynotěsnosti (nové plynotěsné čerpadlo).

Relativní úspěch pokusu byl způsoben omezením zásahů do fermentoru (odběry vzorků kapalné fáze) a vhodným uspořádáním aparatury pro měření plynné fáze. Z hlediska zpracování dat byla přínosem dlouhá perioda archivace, která byla operativně zkracována na interval několika sekund pouze v době odběru plynné fáze.

9 OSTATNÍ PROVEDENÁ MĚŘENÍ

9.1 Ověření sond pro měření CO₂ a CH₄

Při ověřování lineární odezvy malého průtokoměru v měřicím rozsahu byl pomocí bublinkového průtokoměru celkem čtyřikrát nastaven rozdílný průtok dusíku z tlakové láhve v rozmezí od 0 ml/min do 20 ml/min. Dusíková tlaková láhev s přednastaveným průtokem byla napojena přímo na sondy a bylo měřeno výstupní napětí. Lineární závislost odezvy malého průtokoměru v oblasti měřicího rozsahu se potvrdila a bylo také zjištěno, že při nulové hodnotě průtoku je na svorkách malého průtokoměru určité napětí (*Obr. 18*).



Obr. 18. Závislost napětí na průtoku dusíku.

Při ověřování nezávislosti výstupního napětí ze sond pro měření koncentrace CO₂ a CH₄ na průtoku byl pomocí bublinkového průtokoměru nastaven dvakrát průtok dusíku z tlakové láhve a dvakrát průtok standardu z tlakové láhve v rozmezí 200 – 1 000 ml/min. Tlakové láhve byly postupně s přednastaveným průtokem napojeny na sondy, na nichž bylo měřeno výstupní napětí a posléze přepočítáno na proud. Z tabulky (*Tab. 8*) vyplývá, že při rozdílu průtoku dusíku 357 ml/min jsou rozdíly ve výstupním napětí na sondách pro měření koncentrace CO₂ a CH₄ 1 mV respektive 0 mV. Při rozdílu průtoku standardu 350 ml/min jsou rozdíly ve výstupním napětí na sondách pouze 2 mV. Naměřená data tak potvrzují nezávislost výstupního napětí ze sond na průtoku ve výrobcem garantované oblasti (0,2 – 3 l/min). Z důvodu zajištění stálého průtoku bylo zvoleno první zapojení měřicího okruhu.

Tab. 8. Naměřené hodnoty průtoků a výstupních napětí.

Průtok dusíku [ml/min]	Napětí na sondě CO ₂ [mV]	Napětí na sondě CH ₄ [mV]	Průtok standardu [ml/min]	Napětí na sondě CO ₂ [mV]	Napětí na sondě CH ₄ [mV]
538	369	398	536	412	616
895	368	398	886	414	618

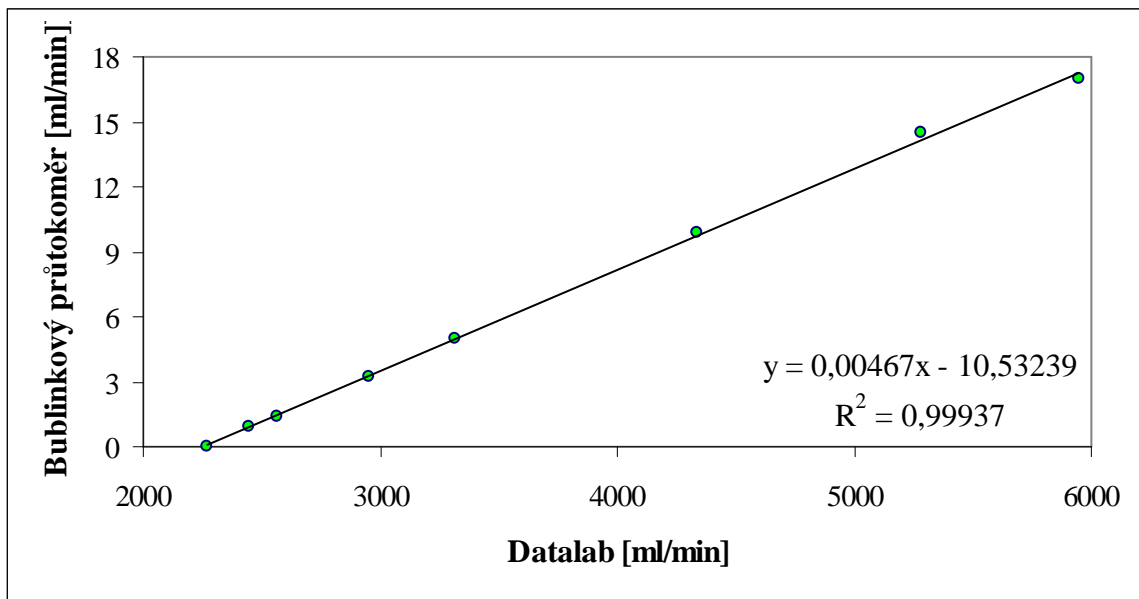
9.2 Kontrola zapojení sond pro měření CO₂ a CH₄

Po ukončení prvního pokusu bylo zjištěno, že hodnoty koncentrace CO₂ a CH₄, které v průběhu pokusu kolísaly v rozmezí 0,2 - 0,7 % se takto chovaly i po jeho ukončení, kdy byla produkce plynů nulová. Dále bylo zjištěno, že sondy pro měření koncentrace CO₂ a CH₄ ukazovaly stále stejné výstupní napětí ± 126 mV, což bylo způsobeno chybným zapojením sond. Obdobný problém se vyskytl i u malého průtokoměru. Po správném zapojení (viz. PŘÍLOHA I a PŘÍLOHA II) bylo proto nutné zjistit přepočtové vztahy pro Datalab, aby sondy i průtokoměr ukazovaly správné hodnoty.

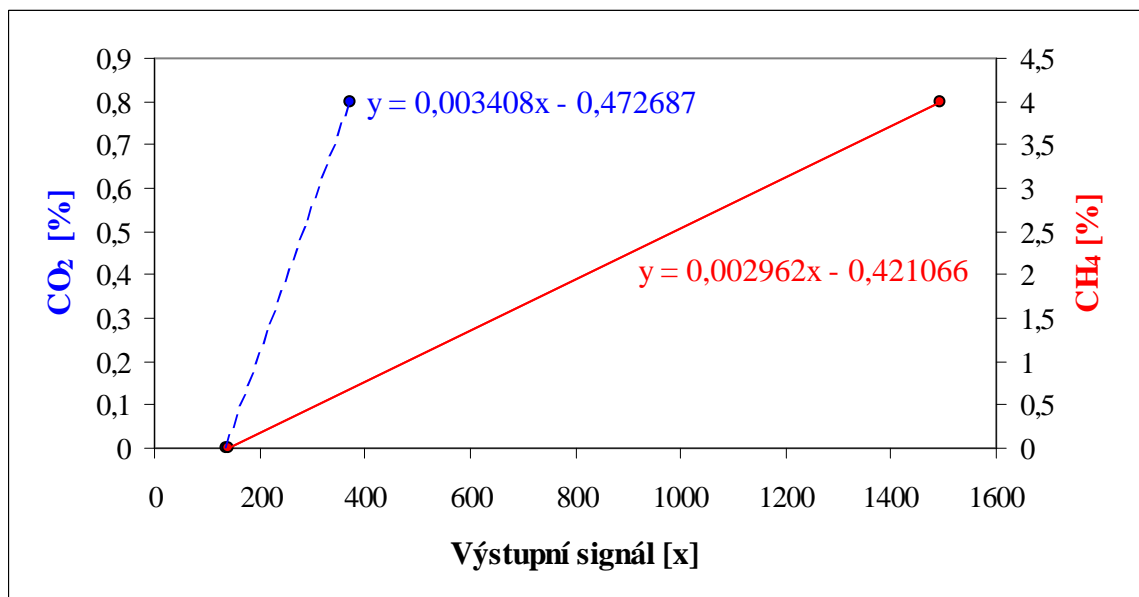
9.2.1 Zjištění parametrů rovnic přepočtových vztahů pro Datalab

Při kalibraci malého průtokoměru byl pomocí bublinkového průtokoměru celkem osmkrát nastaven rozdílný průtok dusíku z tlakové láhve v rozmezí od 0 ml/min do 20 ml/min. Dusíková tlaková láhev s přednastaveným průtokem byla napojena na malý průtokoměr a byly zapisovány hodnoty průtoku dusíku v Datalabu. Pomocí naměřených dat byla sestrojena kalibrační křivka (Obr. 19) a lineární regresí byla získána rovnice, jejíž parametry byly zapsány do Datalabu.

Postup při kalibraci sond pro měření koncentrace CO₂ a CH₄ byl podobný. Pomocí bublinkového průtokoměru byl čtyřikrát nastaven rozdílný průtok standardu z tlakové láhve, která byla napojena přímo na sondy a byly zapisovány hodnoty výstupního signálu v Datalabu. Pomocí naměřených dat byly sestrojeny kalibrační křivky (Obr. 20) a lineární regresí byly získány rovnice, jejichž parametry byly zapsány do Datalabu.

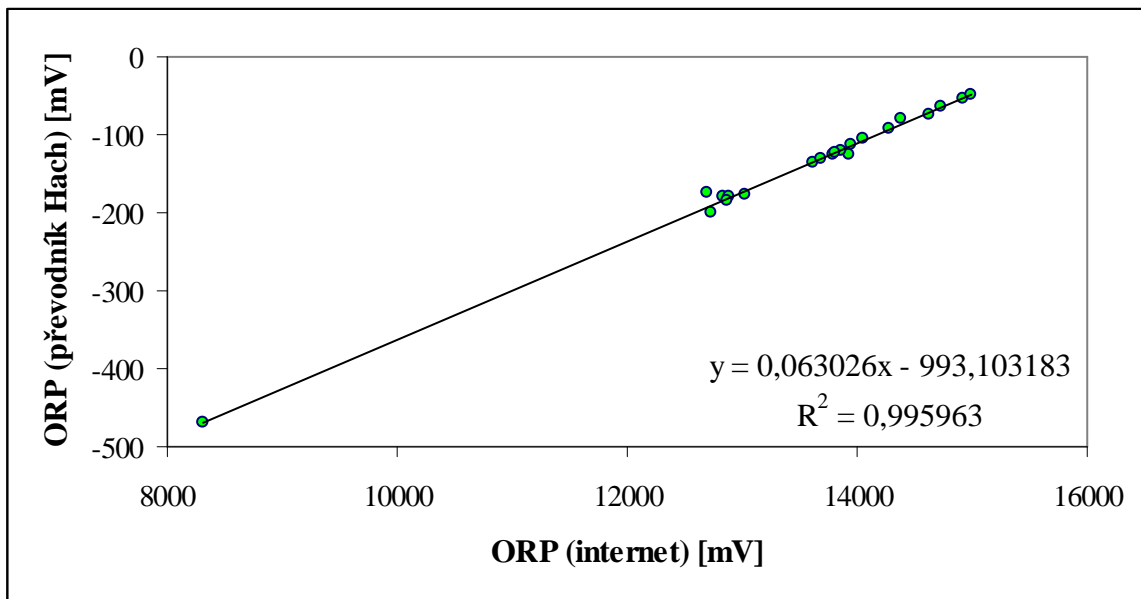


Obr. 19. Závislost průtoku dusíku bublinkovým průtokoměrem na hodnotách průtoku dusíku v Datalabu.



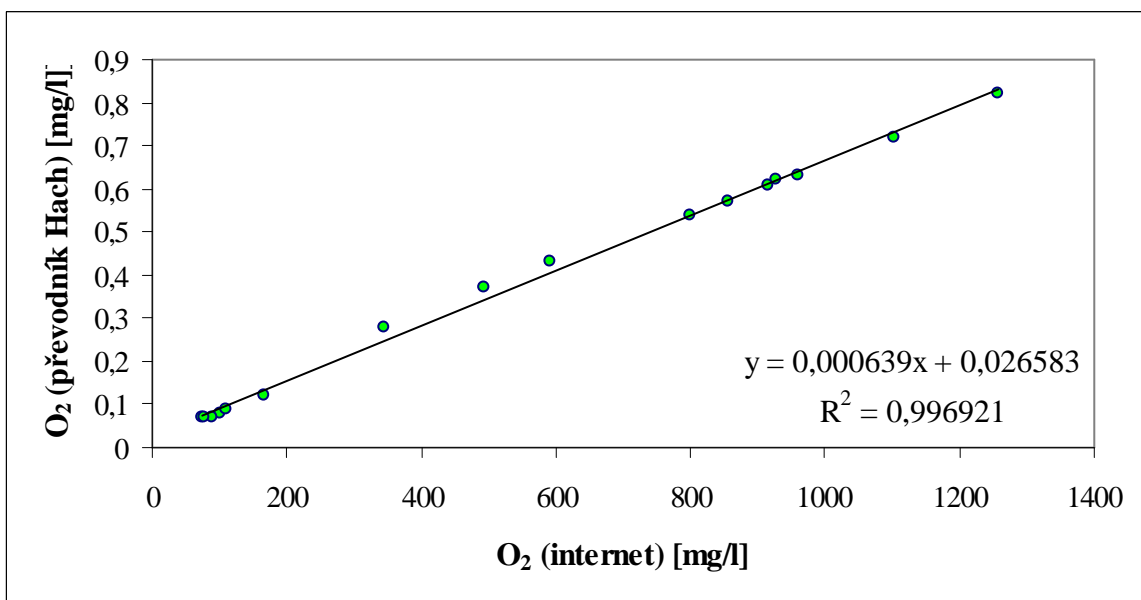
Obr. 20. Závislost koncentrace CO_2 a CH_4 na hodnotách v Datalabu.

Při kalibraci sondy na měření ORP byl do fermentoru pomocí čerpadla vháněn kyslík, díky kterému ORP vzrůstal. Byly zaznamenávány jeho hodnoty naměřené převodníkem Hach a hodnoty zobrazené na internetu. Pomocí získaných dat byla sestrojena kalibrační křivka (Obr. 21) a lineární regresí byla získána rovnice, jejíž parametry byly zapsány do Datalabu.



Obr. 21. Závislost ORP naměřeného převodníkem Hach na hodnotách zobrazených na internetu.

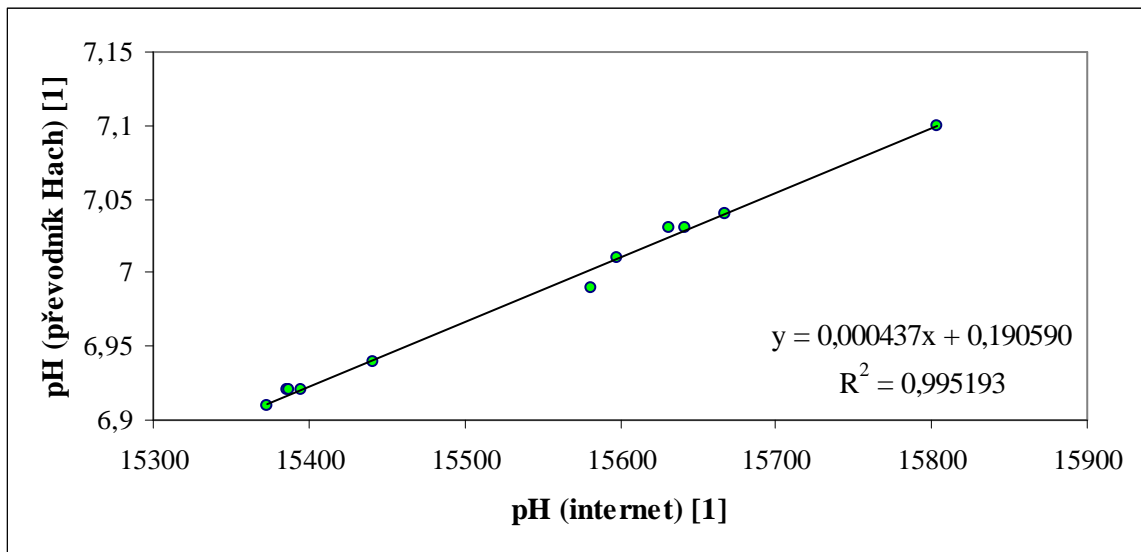
Postup při kalibraci sondy na měření obsahu rozpuštěného kyslíku byl stejný, jeho kalibrační křivka je zobrazena na obrázku (Obr. 22).



Obr. 22. Závislost obsahu rozpuštěného kyslíku naměřeného převodníkem Hach na hodnotách zobrazených na internetu.

Při kalibraci sondy na měření pH byla do fermentoru vhozena pecička hydroxidu sodného, díky čemuž pH rostlo. Byly zaznamenávány jeho hodnoty naměřené převodníkem Hach a

hodnoty zobrazené na internetu. Pomocí získaných dat byla sestrojena kalibrační křivka (Obr. 23) a lineární regresí byla získána rovnice, jejíž parametry byly zapsány do Datalabu.



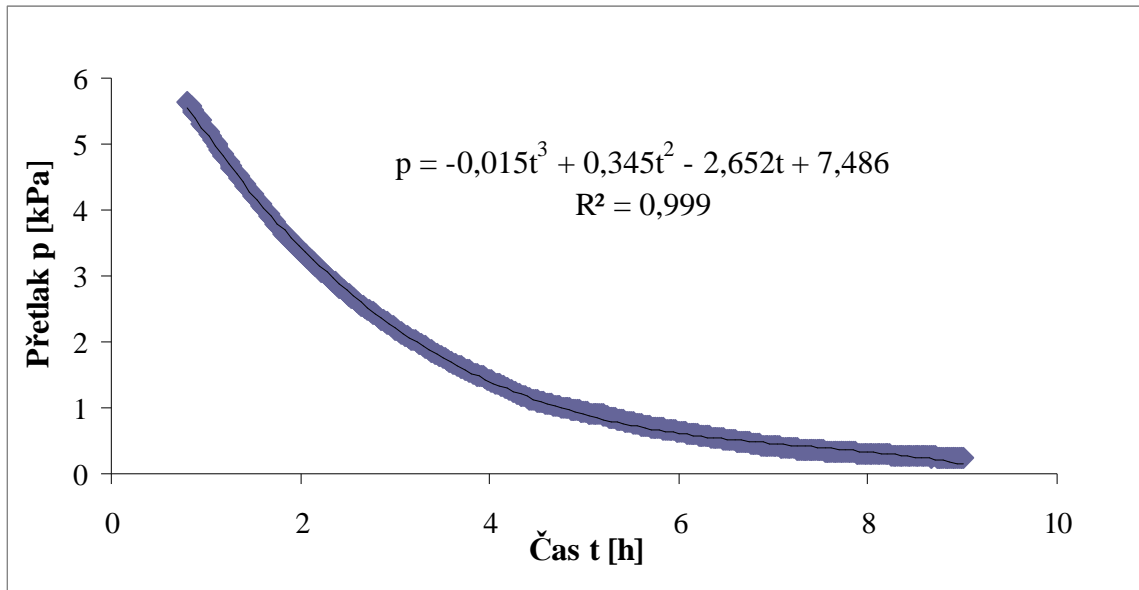
Obr. 23. Závislost pH z převodníku Hach na hodnotách zobrazených internetem.

Na obrázku (Obr. 24) je zobrazena tabulka pro zadávání parametrů přepočtových vztahů jednotlivých sledovaných veličin do Datalabu.

zobrazená hodnota = a * analogovy vstup + b				
AI 01 (teplota)	a	0,003000	b	-6,5295
AI 02	a	1,000000	b	0,0000
AI 03 (vodivost)	a	0,133400	b	-10,0000
AI 04 (pH)	a	0,000419	b	0,4000
AI 05 (ORP)	a	0,079700	b	-1305,0000
AI 06 (O2)	a	0,000633	b	0,0082
AI 07 (FNU)	a	0,058280	b	0,0000
AI 08	a	1,000000	b	0,0000
AI 09	a	1,000000	b	0,0000
AI 10 (tlak)	a	0,000183	b	0,0000
AI 11 (hladina)	a	0,001900	b	-12,5000
AI 12 (průtok)	a	0,005720	b	-37,5000
AI 13 (malý průtok)	a	0,004654	b	-10,4404
AI 14 (CO2)	a	0,003408	b	-0,4727
AI 15 (CH4)	a	0,002962	b	-0,4211
AI 16	a	0,003052	b	0,0000

Obr. 24. Tabulka pro zadávání parametrů přepočtových vztahů do Datalabu.

9.3 Tlaková ztráta



Obr. 25. Tlaková ztráta.

Do bioreaktoru díky netěsnostem pronikal kyslík, který nepříznivě zvyšoval ORP a obsah rozpuštěného kyslíku. Zmíněné netěsnosti mohly vznikat buď v měřicím okruhu nebo ve vlastní nádobě fermentoru. Měřicí okruh byl před každým pokusem upravován s cílem odstranit netěsnosti. Za účelem zkoumání těsnosti nádoby fermentoru byl proveden test, na jehož základě byl sestrojen graf tlakové ztráty (Obr. 25). Pomocí něj lze zjistit objem uniklých plynů a ze softwarového hlediska jej lze použít pro bilanci produkce CO_2 a CH_4 .

ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo poloprovozní ověření pracovních postupů při práci s fermentorem za anaerobních podmínek, nalezení nedostatků a ověření jejich odstraňování. Dále pak zprovoznění měřících okruhů zařízení fermentoru, zejména sond pro měření plyné fáze. V rámci možností byly pokusy diplomové práce zaměřeny na anaerobní rozklad glycerolu s ohledem na produkci bioplynu.

Bylo zjištěno, že hodnoty ORP, pH a teploty získané ze sond neodpovídaly hodnotám naměřeným na laboratorním potenciometru, pH metru respektive rtuťovém teploměru, proto byly na tyto hodnoty nakalibrovány. Dále bylo objeveno a opraveno chybné zapojení sond pro měření plyné fáze. Před začátkem druhého pokusu byly připojeny dvě peristaltická čerpadla pro dávkování kyseliny chlorovodíkové respektive hydroxidu sodného, díky nimž se pH udržovalo v blízkosti požadované zadané hodnoty $7 \pm 0,5$ a jeho průběh byl lineárnější.

Před jednotlivými pokusy byl upravován měřící okruh plyné fáze. Důvodem k těmto změnám byla snaha o zvýšení plynůstnosti okruhu měření plyné fáze a zefektivnění bilance produkovaného bioplynu. Jako nejvhodnější zapojení se ukázalo takové, kdy plyná fáze byla kontrolovaně odpouštěna z fermentoru přes sušící kolonu do sond pro měření koncentrace CO_2 a CH_4 . Bioplyn pokračoval přímo do malého průtokoměru a poté do ovzduší. Toto zapojení je výhodné pro měření koncentrace a objemu odpouštěného bioplynu. Pro přesné změření celkové produkce bioplynu je nutné změřit i plyn, který zůstává v nádobě bioreaktoru. Pro tento účel je pravděpodobně nejvhodnějším řešením umístění měřících částí sond přímo do nádoby fermentoru se zajištěným mícháním plyné fáze. Druhou možností je sestavit dvojici okruhů pro měření plyné fáze. U prvního okruhu by se plyn nasával nad hladinou suspenze, proudil přes sušící kolony do sond pro měření koncentrace CO_2 a CH_4 a plynostným čerpadlem by byl vháněn zpět do nádoby fermentoru (těsně pod víko). Druhý okruh by tvořil ventil odběru plyné fáze s navazujícím malým průtokoměrem. Tento pomocný okruh by sloužil ke kontrolovanému upouštění produkovaného bioplynu.

Po výše zmíněných úpravách se ve čtvrtém pokusu veškeré zkoumané veličiny pohybovaly v optimálních hodnotách a podařilo se zbilancovat produkci vznikajících plynů CO_2 a CH_4 . Díky provedeným pokusům bylo také zjištěno, že je do budoucna nutné zvýšit rozsah pro měření přetlaku a vodivosti, protože jejich hodnoty byly vyšší, než bylo možné změřit.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] DOHÁNYOS Michal a kolektiv. *Anaerobní čistírenské technologie*. 1. vyd. Brno: NOEL, 2000. 339 s. ISBN 80-86020-19-3.
- [2] CHUDOBA Jan, DOHÁNYOS Michal, WANNER Jiří. *Biologické čištění odpadních vod*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1991. 465 s. ISBN 80-03-00611-2.
- [3] HORÁKOVÁ Dana. *Bioremediace* [on line]. Poslední revize 12.1.2007 [cit. 2007-12-18] Dostupné z: <http://is.muni.cz/do/1499/el/estud/prif/ps06/3062932/bioremediace_FRVS_2006-2.pdf>.
- [4] BRYANT M. P. *The microbiology of anaerobic degradation and methanogenesis with special reference to sewage*, 107. Seminar on Microbiol. Energy Conversion, E. Goltz K. G., Ed., Göttingen, Germany 1976.
- [5] ZEIKUS J. G. *Microbial population in digesters*, 61. Anaerobic Digestion, Stafford D. A., Weatley B. I. and Hughes D. E. Ed., London, Applied Science Publishers 1980.
- [6] MCINERNEY M. J., BRYANT M. P. *Review of methane fermentation fundamentals*, 19. Fuel Gas Production From Biomass. Ed., Donald L. Wise, P. h. D., 1, 1981.
- [7] *Bioekologie* [on line]. Poslední revize 25.11.2004 [cit. 2007-12-22]. Dostupné z: <<http://www.vscht.cz/kch/kestazeni/sylaby/bioekologie.pdf>>.
- [8] ŽÍDEK Michal. *Anaerobní digesce zvolených substrátů v laboratorních podmínkách*. Sborník příspěvků ze semináře Možnosti energetického využití biomasy pod záštitou Prof. Ing. Tomáše Čermáka, CSc., rektora VŠB-TU Ostrava. Ostrava: Vysoká škola Báňská – Technická univerzita Ostrava, 2005. s. 169.
- [9] TORIEN D. F., HATTINGH W. H. J. *Water Res.* 3, s. 385 (1969).
- [10] ZHENDER A. J. B. *Ecology of methane formation*. *Water Pollut. Microbiol.* 2, s. 349 (1978).
- [11] ZEIKUS J. G. *Microbial Intermediary Metabolism in Anaerobic Digestion*, 23. Anaerobic Digestion. Ed. Hughes et al., Elsevier Biomedical Press B. V. 1981.

- [12] HARPER S. R., POHLAND F. G. *Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological waste water treatment*. Biotechnol. Bioeng., roč. 28, s. 585 (1986).
- [13] DAGUE R. R. J. *Water Pollut. Contr. Fed.* 40, s. 2021 (1968).
- [14] KOLENA Jiří, et al. *Glycerin – potencionální surovina pro petrochemikálie a komponenty do paliv*. Konference Aprochem 2007. Milovy - Sněžné n. M., 2007. s. 1156-1160.
- [15] PATNAIK P. R. *Hybrid neural simulation of a fed-batch bioreactor for a nonideal recombinant fermentation*. Bioprocess and Biosystems Engineering. 2001, roč. 24, č. 3, s. 151–161. ISSN 1615-7591.
- [16] KAŠTÁNEK František. *Bioinženýrství*. 1. vyd. Praha: Academia, 2001. 334 s. ISBN 80-200-0768-7.
- [17] SEDLAČÍK Radek. *Technologické ověření provozních funkcí zařízení fermentoru*. Zlín, 2006. 72 s. Diplomová práce na Technologické fakultě Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně.
- [18] Control Web [on line]. Poslední revize 28.3.2008 [cit. 2008-5-7]. Dostupné z: <<http://www.mii.cz/cat?id=94&lang=405>>.
- [19] HRUŠKA František. *Internet a laboratoře integrované automatizace*. Jemná mechanika a optika. 2006, roč. 51, č. 2, s. 43–46. ISSN 0447-6441.
- [20] HRUŠKA František, DVOŘÁČKOVÁ Marie, SEDLAČÍK Radek. *Biochemické procesy v laboratořích integrované automatizace na UTB ve Zlíně*. Automa. 2007, roč. 13, č. 12, s. 43-45, ISSN 1210-9592.
- [21] ŠRÁMEK Jiří. *Ověření provozu laboratorního fermentoru pro výukové účely*. 2007. 90 s. Diplomová práce na Technologické fakultě Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně.
- [22] Výpis veřejně dostupných experimentů DE5 [on line]. Poslední revize 7.5.2008 [cit. 2008-5-5]. Dostupné z: <<http://www.labi.fai.utb.cz/newhtml/ListExps5.html?from=5&LngVer=cz>>.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AE	Aerobní.
AN	Anaerobní.
CH ₄	Methan.
CO ₂	Oxid uhličitý.
DOC	Rozpuštěný organický uhlík.
FNU	Formazinová nefelometrická jednotka.
LED	Elektroluminiscenční dioda.
ORP	Oxido-redukční potenciál.
PCB	Polychlorované bifenyly.
USA	Spojené státy americké.

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Schéma anaerobního rozkladu organických látek. 1 – hydrolýza, 2 – acidogeneze, 3 – acetogeneze, 4 – oxidace redukováných organ. produktů, 5 – acetogenní respirace, 6 – methanogeneze z k. octové, 7 – methanogeneze z jednoduhlíkatých substrátů, 8 – oxidace k. octové, 9 – oxidace vodíku [1].</i>	12
<i>Obr. 2. Cyklus redukce oxidu uhličitého na methan. MFR – methanofuran, H₄MPT – tetrahydromethanopterin, CH₃-S-CoM – methylkoenzym M, H-S-CoM – koenzym M, F₄₂₀ – “5-deazaflavin“, F₄₃₀ – “nikltetrapyrrol“, B – esenciální koenzym neznámé struktury, RPG efekt – spojení methylreduktázy s aktivací CO₂ [1].</i>	16
<i>Obr. 3. Fotografie fermentoru použitého v diplomové práci.</i>	22
<i>Obr. 4. Ukázka obrazovky získané programem Control Web na obrazovku počítače přes internetové rozhraní.</i>	23
<i>Obr. 5. Schéma fermentoru použitého v diplomové práci. 24 - chlazení průtokem, 21 - sonda pro měření relativního tlaku, 22 - sonda pro měření výšky hladiny, 2a/2b/2c/2d - ventily pro dávkování peristaltickými čerpadly, 3d - ohřev topným tělesem, 19 - motor na míchání, 7 - sonda pro měření vodivosti, 8 - sonda pro měření pH, 9 - sonda pro měření obsahu rozpuštěného kyslíku, 10 - sonda pro měření ORP, 11 - sonda pro měření turbidity, 12 - lokální vyhodnocovací jednotka SC1000, 13 - ventil pro odběr plynné fáze, 14 - sonda pro měření produkce CO₂, 15 - sonda pro měření produkce CH₄, 17 - ventil pro odběr kapalné fáze [20].</i>	24
<i>Obr. 6. Fotografie sond pro měření plynné fáze.</i>	25
<i>Obr. 7. Schéma zapojení okruhu plynné fáze. 1 - fermentor, 2 - sušící kolony, A/B/C/D - zapojení při jednotlivých pokusech, CO₂ - sonda pro měření produkce oxidu uhličitého, CH₄ - sonda pro měření produkce methanu, M - motor míchání, P - čerpadlo, V - přetlakový ventil, ρ - malý průtokoměr.</i>	31
<i>Obr. 8. Hodnoty ORP a obsahu rozpuštěného kyslíku v průběhu 1. pokusu.</i>	34
<i>Obr. 9. Hodnoty pH a přetlaku v průběhu 1. pokusu.</i>	35
<i>Obr. 10. Hodnoty ORP a obsahu rozpuštěného kyslíku v průběhu 2. pokusu.</i>	39
<i>Obr. 11. Hodnoty pH a přetlaku v průběhu 2. pokusu.</i>	40
<i>Obr. 12. Hodnoty teploty v průběhu 3. pokusu.</i>	43

<i>Obr. 13. Hodnoty ORP a obsahu rozpuštěného kyslíku v průběhu 3. pokusu.</i>	<i>43</i>
<i>Obr. 14. Hodnoty pH a přetlaku v průběhu 3. pokusu.</i>	<i>44</i>
<i>Obr. 15. Hodnoty ORP a obsahu rozpuštěného kyslíku v průběhu 4. pokusu.</i>	<i>48</i>
<i>Obr. 16. Hodnoty pH a přetlaku v průběhu 4. pokusu.</i>	<i>48</i>
<i>Obr. 17. Bilance produkce vznikajících plynů CO₂ a CH₄.</i>	<i>50</i>
<i>Obr. 18. Závislost napětí na průtoku dusíku.</i>	<i>52</i>
<i>Obr. 19. Závislost průtoku dusíku bublinkovým průtokoměrem na hodnotách průtoku dusíku v Datalabu.</i>	<i>54</i>
<i>Obr. 20. Závislost koncentrace CO₂ a CH₄ na hodnotách v Datalabu.</i>	<i>54</i>
<i>Obr. 21. Závislost ORP naměřeného převodníkem Hach na hodnotách zobrazených na internetu.</i>	<i>55</i>
<i>Obr. 22. Závislost obsahu rozpuštěného kyslíku naměřeného převodníkem Hach na hodnotách zobrazených na internetu.</i>	<i>55</i>
<i>Obr. 23. Závislost pH z převodníku Hach na hodnotách zobrazených internetem.</i>	<i>56</i>
<i>Obr. 24. Tabulka pro zadávání parametrů přepočtových vztahů do Datalabu.</i>	<i>56</i>
<i>Obr. 25. Tlaková ztráta.</i>	<i>57</i>

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1. Výbava laboratorních fermentorů BioFlo 110, 310, 415 a fermentoru LF20.....</i>	<i>26</i>
<i>Tab. 2. Počáteční hodnoty sledovaných veličin 1. pokusu.....</i>	<i>33</i>
<i>Tab. 3. Naměřené hodnoty pH, ORP a sušiny v průběhu 1. pokusu.</i>	<i>34</i>
<i>Tab. 4. Koncentrace rozpuštěného organického uhlíku v průběhu 1. pokusu.</i>	<i>36</i>
<i>Tab. 5. Koncentrace rozpuštěného organického uhlíku v průběhu 2. pokusu.</i>	<i>41</i>
<i>Tab. 6. Koncentrace rozpuštěného organického uhlíku v průběhu 3. pokusu.</i>	<i>45</i>
<i>Tab. 7. Koncentrace rozpuštěného organického uhlíku v průběhu 4. pokusu.</i>	<i>49</i>
<i>Tab. 8. Naměřené hodnoty průtoků a výstupních napětí.</i>	<i>53</i>

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Tabulka zapojení sond na sběrnici datalab.

Příloha P II: Schéma zapojení sond na sběrnici datalab.

**PŘÍLOHA P I: TABULKA ZAPOJENÍ SOND NA SBĚRNICI
DATALAB.**

svorkovnice	číslo svorky	modul	DataLab	název signálu	el. rozsah	fyz. rozsah	
X3	1	AO	AO/DO GND	společná zem analog OUT/dig. OUT			
	2		AO/DO GND	společná zem analog OUT/dig. OUT			
	3		AO/DO GND	společná zem analog OUT/dig. OUT			
	4		AO/DO GND	společná zem analog OUT/dig. OUT			
	5		AO/DO GND	společná zem analog OUT/dig. OUT			
	6		AO/DO GND	společná zem analog OUT/dig. OUT			
	7		AO/DO GND	společná zem analog OUT/dig. OUT			
	8		AO/DO GND	společná zem analog OUT/dig. OUT			
	9		AO/DO GND	společná zem analog OUT/dig. OUT			
	10		C1	signal.LED		0-10V	signalizace stavu
	11		C2		rezerva	0-10V	
	12		C3	servo provzdušnění		0-10V	servo 0- 100%
	13		C4	servo chladič vody		0-10V	servo 0- 100%
	14		C5	servo odběru plynu		0-10V	servo 0- 100%
	15		C6	servo odběru kapaliny		0-10V	servo 0- 100%
	16		C7		rezerva	0-10V	
	17		C8		rezerva	0-10V	
neprochází přes svorkovnici		DO	DO1	ovládání re1 - Z1 dávkování zásady			
			DO2	ovládání re2 - Z2 dávkování kyseliny			
			DO3	ovládání re3 - Z3 volná			
			DO4	ovládání re4 - Z4 volná			
			DO5	ovládání re5 - Z5 dmychadlo			
			DO6	ovládání re6 - topné těleso			
			DO7		rezerva		
X3	18		DO8		rezerva		
	19				rezerva		
X4	1	AI	A1	teplota ve fermentoru	0-10V	0-100°C	
	2		A2	rezerva (výstup z D5.4, IFMA)	0-10V		
	3		A3	vodivost (SC1000)	0-10,2V	0-4000 uS/cm	
	4		A4	pH (SC1000)	0-10,2V	0-14	
	5		A5	ORP (SC1000)	0-10,2V	0 až +1000 mV	
	6		A6	redox (SC1000)	0-10,2V	0-20 ppm	
	7		A7	turbidita (SC1000)	0-10,2V	0-1000 FTU	
	8		A8		rezerva	0-10V	
	9	B1		rezerva	0-10V		
	10	AI	B2	tlak	0-10V	0-6 kPa	
	11		B3	hladina	0-10V	0-50 cm	
	12		B4	průtok	0-10V	0-150 l/h	
	13		B5	NH3	0-10V	0-10%	
	14		B6	CO2	0-10V	0-20%	
	15		B7	NH4	0-10V	0-50%	
	16		B8	pěna	0-10V	0-100	

PŘÍLOHA P II: SCHÉMA ZAPOJENÍ SOND NA SBĚRNICI DATALAB.

