

Marta Kupryś-Caruk^{1,2}

e-mail: marta.kuprys@ibprs.pl

¹ Zakład Technologii Fermentacji, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, Warszawa² Katedra Fizjologii Roślin, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, WarszawaWpływ preparatu enzymatycznego na kinetykę produkcji biogazu z miskanta olbrzymiego (*Miscanthus x giganteus* J.M. Greef & M. Deuter)

Wstęp

Biogaz powstaje w wyniku fermentacji metanowej substancji organicznej pochodzenia roślinnego i zwierzęcego. Składa się głównie z metanu i ditlenku węgla oraz stanowi odnawialne źródło energii, którego wzrost zużycia w Polsce jest obowiązkiem wynikającym z prawodawstwa krajowego jak i unijnego [2009/28/WE].

Przewiduje się, że w produkcji energii większe znaczenie będą miały surowce II generacji, czyli takie, które nie stanowią konkurencji dla produkcji żywności [Kołodziej i Matyka, 2012]. Z tego względu do produkcji biopaliw przeznaczane będą między innymi surowce lignocelulozowe, do których zaliczyć można introdukowane trawy wieloletnie, takie jak miskant olbrzymi. Tego typu materiały muszą być jednak poddane obróbce wstępnej, aby zwiększyć stopień rozkładu kompleksu lignocelulozowego [Mosier i in., 2005].

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu preparatu hemicyclulolitycznego na kinetykę produkcji biogazu z kiszzonek z miskanta olbrzymiego. Zakres pracy obejmował analizę składu chemicznego trawy po jej zakiszeniu (z dodatkiem enzymu lub bez), analizę biogazodochodowości kiszzonek oraz porównanie parametrów kinetycznych procesu fermentacji anaerobowej kiszzonek, wyznaczonych na podstawie dopasowania danych doświadczalnych do zmodyfikowanego równania *Gompertza*.

Badania doświadczalne

Materiały. Biomasa miskanta, pochodząca z kolekcji roślin energetycznych Wydziału Rolnictwa i Biologii Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego i prowadzonej w stacji doświadczalnej w Skierńewicach, zebrano w lipcu 2012 r. Ogólną charakterystykę substratu po zbiorze przedstawiono w tab. 1.

Tab. 1. Ogólna charakterystyka substratu

Sucha masa [%]	Sucha masa organiczna [% s.m.]	Celuloza [% s.m.]	Hemiceluloza [% s.m.]	Lignina [% s.m.]	Białko [% s.m.]
17,2	92,4	37,2	23,7	6,3	9,3

Po zbiorze biomasa rozdrobiono (na elementy o dł. ok. 1 cm) i zakiszono (w trzech powtórzeniach) bez (kiszonki kontrolne) oraz z dodatkiem preparatu enzymatycznego *CeluStar XL* firmy *Novozymes* o aktywności endo-1,4-β-ksylanazy (650 FXU/ml). Preparat po rozpuszczeniu w wodzie rozprowadzono w dawce 100 FXU·kg⁻¹ biomasy. Po zakiszeniu oznaczono skład chemiczny kiszzonek metodą NIRS (spektroskopia odbiciowa w bliskiej podczerwieni) z zastosowaniem kalibracji firmy *INGOT*[®]. Za zawartość celulozy przyjęto różnicę między zawartością włókien ADF i ADL; hemicelulozy – różnicę między zawartością włókien NDF i ADF, a za zawartość ligniny przyjęto zawartość frakcji włókien ADL. Suchą masę oznaczono zgodnie z *PN-EN 12880:2004*, suchą masę organiczną zgodnie z *PN-EN 12879*. Kwasy organiczne w kiszzonek oznaczono metodą enzymatyczną (testy UV firmy *r-Biopharm*).

Metody. Fermentację metanową przeprowadzono przy użyciu manometrycznych głowic pomiarowych *OxiTop*[®] *Control* (WTW) przymocowanych do szklanych butelek, w których umieszczony był wsad- mieszanina substratu i inokulum (zawartość fermentora wtórnego z biogazowni rolniczej) w proporcjach 1:20. Butelki ustawiano na magnetyczno-indukcyjnych systemach mieszających w szafie

termostatycznej. Fermentację prowadzono w stałej temperaturze 39°C, przy ciągłym mieszaniu wsadu, do momentu uzyskania stabilizacji ciśnienia (plateau). Pomiar ciśnienia powstającego gazu odbywał się codziennie. Skład biogazu oznaczono zapomocą analizatora *COMBIMASS*[®] *GA-m*. Podstawą obliczeń ilości uzyskanego biogazu było równanie stanu gazu doskonałego, z którego obliczono liczbę moli biogazu, a następnie korzystając z definicji objętości molarnej gazu obliczono objętość uzyskanego biogazu w warunkach normalnych.

W części pracy dotyczącej porównania parametrów procesu fermentacji anaerobowej kiszzonek z miskanta dokonano dopasowania danych doświadczalnych do zmodyfikowanego równania *Gompertza*:

$$M = P \exp \left\{ - \exp \left[\frac{R_m e}{P} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (1)$$

gdzie:

M – ilość wytworzonego biogazu w czasie *t*, [m³ Mg⁻¹s.m.o.]*P* – potencjalna (całkowita) produkcja biogazu, [m³ Mg⁻¹s.m.o.]*R_m* – maksymalna dzienna produkcja biogazu, [m³ Mg⁻¹s.m.o. d⁻¹],*λ* – czas trwania fazy opóźnienia, [d]*t* – czas fermentacji, [d]*e* – podstawa logarytmu naturalnego

Wyniki z eksperymentu dopasowywane były do równania za pomocą regresji nieliniowej. Estymację parametrów modelu regresji przeprowadzono nieliniową metodą najmniejszych kwadratów *Levenberga-Marquardta* (LM). Dopasowania funkcji *Gompertza* do danych doświadczalnych dokonano przy użyciu programu *Excel*. Ocenę dopasowania modelu przeprowadzono na podstawie współczynnika determinacji i błędu globalnego.

Wyniki i dyskusja

Dodatek preparatu enzymatycznego spowodował zmniejszenie zawartości hemicelulozy w kiszzonek w porównaniu do kiszzonek kontrolnych (Tab. 2).

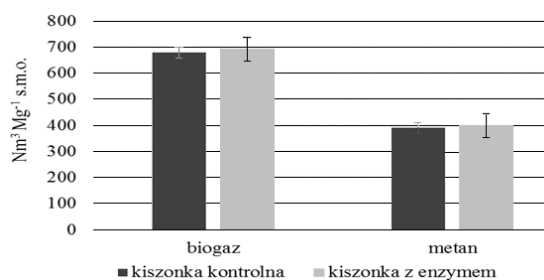
Tab. 2. Charakterystyka zakiszzonego substratu

Substrat	Sucha masa [%]	Sucha masa org. [% s.m.]	Celuloza [% s.m.]	Hemiceluloza [% s.m.]	Lignina [% s.m.]	Białko [% s.m.]
Kiszsonka kontrolna	16,8	92,2	37,1	23,5	6,2	6,4
Kiszsonka - enzym	16,8	90,0	37,1	22,9	6,2	6,8

Ponadto kiszsonki sporządzone z dodatkiem enzymów charakteryzowały się znacznie większą zawartością kwasu octowego, niż kiszsonki kontrolne (Tab. 3).

Tab. 3. Zawartość kwasów organicznych w kiszzonek

Substrat	pH	Kwasy organiczne [g kg ⁻¹ s.m.]		
		mlekowy	octowy	masłowy
Kiszsonka kontrolna	5,0	10,3	103,1	1,0
Kiszsonka - enzym	5,1	12,1	299,1	n.o.
n.o. – nie oznaczono (poniżej granicy oznaczalności metody)				



Rys. 1. Wydajność produkcji biogazu z kiszonek z miskanta olbrzymiego

Uzyskano wysoką produkcję biogazu, ponad 600 Nm³ Mg⁻¹ s.m.o. Nie zaobserwowano istotnie większej produkcji biogazu z kiszonek sporządzonych z preparatem enzymatycznym w porównaniu do kiszonek kontrolnych. Zawartość metanu w biogazie wynosiła 57,4±57,8% (Rys.1).

Uzyskana w badaniach produkcja biogazu z miskanta olbrzymiego, zebranego w połowie okresu wegetacyjnego, była ponad dwa razy większa od wyników badań innych autorów, którzy poddawali fermentacji metanowej biomase miskanta zebranego pod koniec sezonu wegetacyjnego (jesienią) [Klimiuk i in., 2010; Whittaker i in. 2016]. Badacze ci stwierdzili, że przyczyną uzyskanej przez nich niskiej produkcji biogazu (180-230 m³ Mg⁻¹ s.m.) była znacznie większa zawartość w biomacie miskanta trudno rozkładalnej celulozy, hemicelulozy czy ligniny w porównaniu do innych roślin stosowanych do produkcji biogazu np. kukurydzy. Klimiuk i in. [2010] twierdzili za Jordening i Winter [2005], że stopień rozkładu celulozy i hemicelulozy zależy w dużej mierze od zawartości ligniny, która inkrując celulozę, utrudnia do niej dostęp enzymów celulolitycznych. Im więcej jest w biomacie celulozy w formie krystalicznej, tym łatwiej hydrolyzowana jest przez celulazy. Wzrost stopnia rozkładu polisacharydów można osiągnąć stosując do zakiszenia materiału roślinnego preparaty enzymatyczne rozkładające struktury ścian komórkowych. Vervearen i in. [2010] stwierdzili, że największy wzrost uzysku biogazu można osiągnąć stosując w trakcie kiszenia biomasy roślinnej preparaty zawierające kombinację różnych homo- i heterofermentacyjnych szczepów bakterii mlekowych oraz enzymów o aktywności celulolitycznej, ksylanolitycznej i amylolitycznej. Wiąże się to również ze wzrostem zawartości kwasu octowego w kiszonkach, prekursora metanu bezpośrednio wykorzystywanego przez bakterie metanogenne do produkcji metanu [Pakarinen i in., 2011].

Dzięki dopasowaniu danych doświadczalnych do zmodyfikowanego równania Gomperta wyznaczono parametry, dzięki którym porównano kinetykę produkcji biogazu z miskanta olbrzymiego w zależności od sposobu jego zakiszenia (z enzymem lub bez) (Tab. 4).

Tab. 4. Porównanie parametrów wyznaczonych na podstawie zmodyfikowanego równania Gomperta

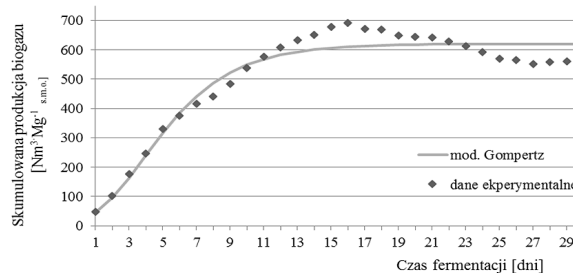
	Współczynniki regresyjne			Czas, po którym powstało 90% biogazu	Wsp. determinacji R ²	Błąd globalny δ _g
	P	R _m	λ			
	Nm ³ ·Mg ⁻¹ ·s.m.o.	Nm ³ ·Mg ⁻¹ ·s.m.o.·d ⁻¹	d			
K	674,2	44,6	2,96	20,00	95,7	9,60
E	620,4	77,6	0,90	10,45	94,2	7,63

K – kiszonka kontrolna; E – kiszonka z enzymem

Wyznaczone współczynniki determinacji oraz błędy globalne nie większe niż 9,60% wskazywały na dobre dopasowanie danych doświadczalnych do zmodyfikowanego równania Gomperta. Na podstawie wyznaczonych współczynników regresyjnych stwierdzono, że dodatek preparatu enzymatycznego w trakcie konserwacji biomasy miskanta, miał wpływ na przebieg procesu fermentacji metanowej uzyskanych kiszonek. W przypadku kiszonek sporządzonych z dodatkiem preparatu enzymatycznego zwiększeniu uległa maksymalna dzienna produkcja biogazu, a skróceniu lag faza (okres

od nastawienia fermentacji metanowej do uzyskania minimalnej, mierzalnej ilości biogazu) w porównaniu do fermentacji kiszonek kontrolnych. Ponadto 90% biogazu z kiszonek sporządzonych z enzymami uzyskano w czasie o połowę krótszym w porównaniu do fermentacji kiszonek kontrolnych (Tab. 4).

Na rys. 2. przedstawiono krzywą produkcji biogazu z kiszonki z miskanta olbrzymiego sporządzonej z preparatem enzymatycznym oraz dopasowanie danych doświadczalnych do zmodyfikowanego równania Gomperta.



Rys. 2. Dopasowanie danych doświadczalnych do modelu matematycznego

Dodatek preparatu enzymatycznego w trakcie konserwacji miskanta miał wpływ na zwiększenie zawartości kwasu octowego w kiszonkach, co mogło przyczynić się do zwiększenia szybkości produkcji biogazu, bo jak wskazuje wielu badaczy, kiszonki są doskonałym źródłem związków-prekursorów metanu [Vervearen i in., 2010].

Do oceny przebiegu fermentacji metanowej często wykorzystuje się zmodyfikowane równanie Gomperta. W badaniach Kacprzak i in. [2012] dane doświadczalne uzyskane z fermentacji metanowej mozgi kanaryjskiej dopasowano do zmodyfikowanego równania Gomperta i wykazano, że stosowanie inokulum przystosowanego do danego substratu skutkuje skróceniem lag fazy oraz zwiększa maksymalną dzienną produkcję biogazu w porównaniu do przebiegu fermentacji z zastosowaniem inokulum niezaadaptowanego wcześniej do danego substratu.

Warto zatem stosować enzymy w trakcie kiszenia biomasy przeznaczonych do produkcji biogazu nie tylko ze względu na możliwość przyspieszenia fermentacji metanowej, ale również z uwagi na to, że preparaty enzymatyczne wspomagają proces kiszenia przyczyniając się do poprawy jakości kiszonek [Pakarinen i in. 2011].

Wnioski

Zastosowanie preparatu enzymatycznego o aktywności hemicelulolitycznej do konserwacji biomasy miskanta olbrzymiego skutkuje zwiększeniem zawartości kwasu octowego w kiszonce, co z kolei wpływa na przyspieszenie powstawania biogazu w procesie fermentacji metanowej.

LITERATURA

- Kacprzak A., Krzystek L., Paździor K., Ledakowicz S., (2012). Investigation of kinetics of anaerobic digestion of Canary grass. *Chem. Papers*, 66(6), 550-555. DOI: 10.2478/s11696-012-0136-4
- Klimiuk E., Pokój T., Budzyński W., Dubis B., (2010). Theoretical and observed biogas production from plant biomass of different fibre contents. *Biores. Technol.* 101, 9527-9535. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.06.130
- Kołodziej B., Matyka M.(red), (2012). *Odnawialne źródła energii. Rolnicze surowce energetyczne*. PWRiL, Poznań
- Mosier N., Wyman Ch., dale B., Elander R., Lee Y., Holtzappple M., Ladisch M., (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Biores. Technol.*, 96, 673-686. DOI: 10.1016/j.biortech.2004.06.025
- Pakarinen A., Maijala P., Jaakkola S., Stoddard F., Kymalainen M., Viikari L., (2011). Evaluation of preservation methods for improving biogas production and enzymatic conversion yields of annual crops. *Biotechnol. Biofuels* 4, 20. DOI: 10.1186/1754-6834-4-20
- Whittaker C., Hunt J., Misselbrook T., Shield I., (2016). How well does *Miscanthus* ensile for use in an aerobic digestion. *Biomass Bioenergy* 88, 24-34. DOI:10.1016/j.biombioe.2016.03.018
- Vervearen H., Hostyn K., Ghekiere K., Willems G., (2010). Biological ensilage additives as pretreatment for maize to increase the biogas production. *Renew. Energy* 35, 2089-2093. DOI: 10.1016/j.renene.2010.02.010