

# Korištenje enzima u procesu proizvodnje bioplina iz miskantusa (*Miscanthus x Giganteus*)

---

Kandrać, Oliver

Master's thesis / Diplomski rad

2020

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:*

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek /  
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:656928>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-28**



Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet  
agrobiotehničkih  
znanosti Osijek**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical  
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of  
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Oliver Kandrać, absolvent

Diplomski studij Biljna proizvodnja

**Korištenje enzima u procesu proizvodnje bioplina iz miskantusa**  
**(*Miscanthus x Giganteus*)**

Diplomski rad

Osijek, 2020.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Oliver Kandrać,

Diplomski studij Biljna proizvodnja

**Korištenje enzima u procesu proizvodnje bioplina iz miskantusa**  
***(Miscanthus x Giganteus)***

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. Prof.dr.sc. Bojan Stipešević, predsjednik
2. Prof.dr.sc. Davor Kralik, mentor
3. Prof.dr.sc. Ranko Gantner, član

Osijek, 2020.

# SADRŽAJ

<b>1.UVOD .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1.BIOPLIN.....</b>	<b>5</b>
2.1.1.HIDROLIZA .....	6
2.1.2.ACIDOGENEZA.....	7
2.1.3.ACETOGENEZA .....	7
2.1.4.METANOGENEZA .....	7
2.1.5.ANAEROBNA DIGESTIJA.....	8
2.1.6.SIROVINE ZA PROIZVODNJU BIOPLINA .....	9
2.1.7.PRIMJENA BIOPLINA .....	9
<b>2.2.MISKANTUS.....</b>	<b>10</b>
2.2.1.KARAKTERISTIKE .....	11
2.2.2.UZGOJ .....	12
2.2.3.ŽETVA.....	13
2.3.ENZIMI.....	13
2.3.1.METHAPLUS.....	13
2.3.2.AXIASE.....	15
<b>3.CILJ ISTRAŽIVANJA .....</b>	<b>16</b>
<b>4.MATERIJALI I METODE .....</b>	<b>16</b>
4.1.UZORKOVANJE.....	16
4.2. METODA ANAEROBNE FERMENTACIJE.....	17
4.3.ANALIZA SASTAVA BIOPLINA.....	18
4.4.ANALIZA SUHE TVARI .....	18
4.5.ODREĐIVANJE SADRŽAJA PEPELA I ORGANSKE TVARI .....	19
4.6.ODREĐIVANJE pH .....	19
<b>5.REZULTATI ISTRAŽIVANJA.....</b>	<b>19</b>
5.1.UDIO SUHE I ORGANSKE TVARI U SUPSTRATU .....	19
5.2.ORGANSKA TVAR.....	21
5.3.KONCENTRACIJA pH .....	23
5.4.KOLIČINA PROIZVEDNENOG BIOPLINA .....	25
5.5.DINAMIKA PROIZVODNJE BIOPLINA.....	27
5.6.SASTAV BIOPLINA .....	30
<b>6.RASPRAVA.....</b>	<b>36</b>
<b>7.ZAKLJUČAK .....</b>	<b>39</b>

<b>8.LITERATURA .....</b>	<b>42</b>
<b>9.SAŽETAK .....</b>	<b>41</b>
<b>10.SUMMARY .....</b>	<b>44</b>
<b>11.POPIS TABLICA.....</b>	<b>44</b>
<b>12.POPIS GRAFOVA .....</b>	<b>45</b>
<b>13.POPIS SLIKA .....</b>	<b>44</b>

## 1. UVOD

Sve veće promjene u vremenskim uvjetima i povećanje emisije stakleničkih plinova prisilile su nas je da potražimo nove izvore energije, koji neće imati veliki utjecaj na okoliš kao fosilna goriva. Jedan od načina rješenja tog problema su alternativni izvori energije kojima se sve više pridodaje pažnje i koji se konstantno razvijaju kako bi smanjili potrošnju fosilnih goriva. Ne samo što se prilikom izgaranja fosilnog goriva otpuštaju štetni plinovi i količina fosilnih goriva je ograničena. Razvitkom alternativnih izvora energije ili obnovljivim izvorima energije smanjili bi ovisnost o fosilnom gorivu kao jedinom načinu energije. Prema zakonima Republike Hrvatske obnovljivi izvori energije definiraju se kao „*izvori energije koji su sačuvani u prirodi i obnavljaju se u cijelosti ili djelomično, posebno energija vodotoka, vjetra, ne akumulirana sunčeva energija, biodizel, biomasa, bioplin, geotermalna energija itd.*”([www.fzoeu.hr](http://www.fzoeu.hr)).

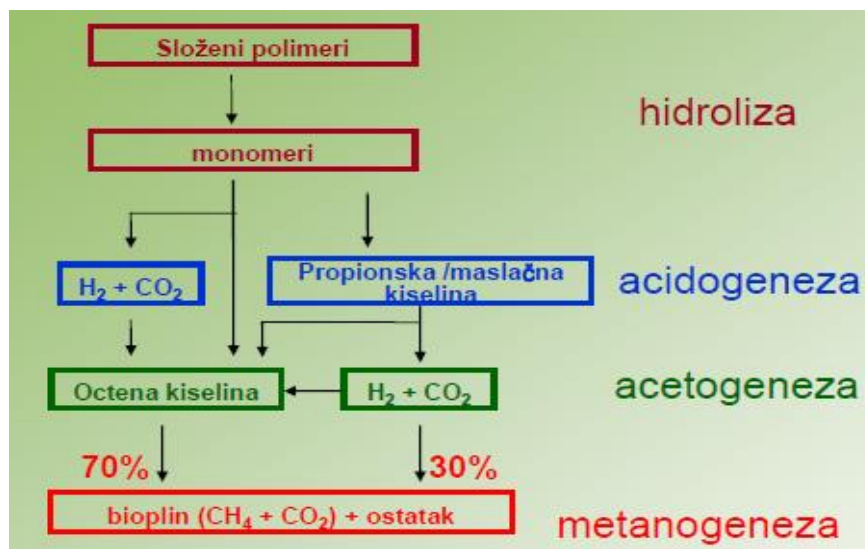
## 2. PREGLED LITERATURE

### 2.1. Bioplin

Bioplin kao alternativni izvor energije ima veliki potencijalni izvor energije. Za proizvodnju bioplina mogu se koristiti različite sirovine organskog podrijetla. Procesom anaerobnog truljenja biomase nastaje bioplin. Proizvedeni plin najčešće u sebi sadrži 55-75% metana, 25-44% ugljikovog dioksida i 5% smjese vodika, dušika, amonijaka, sumporovodika, ugljikovog monoksida, kisika i vodene pare. Dobiveni bioplin se najčešće koristi kao izvor za dobivanje toplinske ili električne energije koja se dobiva izgaranjem u plinskim motorima, kotlovima i turbinama, te zbog svoje velike energetske vrijednosti može biti adekvatna zamjena za fosilna goriva. Sve započinje procesom anaerobnog truljenja biomase gdje dolazi do razgradnje pomoću bakterija. Proces razgradnje odvija se u 4 osnovne faze. Faze razgradnje biomase su: faza hidrolize, acidogeneze, acetogeneze i metanogeneze. ( Ivana Majkovčan 2012.)

„ Za vrijeme hidrolize enzimi razbijaju velike molekule na manje, koje mogu proći kroz bakterijske membrane. U kiseloj fazi se složene molekule kao što su bjelancevine, masti i

ugljkovodici cijepaju s bakterijama u kiselom mediju na organske kiseline, ugljikov dioksid, vodik i amonijak. U posljednoj fazi proizvodi se metan, djelomično iz ugljikovog dioksida i vodika, a najviše fermentacijom kiselina i alkohola. U postrojenju za proizvodnju bioplina sve faze su simultano odvijaju, a dominacija jedne faze smanjuje proizvodnju metana.“ (Kralik i sur. (2009)



Slika 1. Proces anaerobne digestije

Izvor: [http://www.eihp.hr/hrvatski/pdf/Big\\_east\\_obuka/4\\_Hecht\\_Anaerobna\\_digestija.pdf](http://www.eihp.hr/hrvatski/pdf/Big_east_obuka/4_Hecht_Anaerobna_digestija.pdf)

### 2.1.1. Hidroliza

Prva faza anaerobe digestije tijekom koje se krupnije čestice organske tvari (polimeri) razlažu na manje čestice (monomeri i oligomeri) koje se lakše razlažu i oslobađaju energiju. Polimeri su ugljikohidrati, lipidi, bjelančevine i aminokiseline koje je tokom procesa transformiraju u glukozu, glicerol, pirimidine i purine. Hidrolitički enzimi dolaze od hidrolitičkih bakterija koje pretvaraju biopolimere u jednostavnije spojeve, a samim time su i lakše topljivi spojevi. Pomoću enzima lipaze se prevodi lipid u glicerol i masne kiseline, polisaharidi uz pomoć celulaze, celobiazze, ksilanaze i amilaze prevode u monosaharide, a proteini pomoću proteaze u aminokiseline. Prvenstveno produkti u ovoj fazi su neki jednostavni šećeri, masne kiseline i aminokiseline. (Gerardi, 2003; Dueblein & Steinhäuser, 2008. i sur.)

### **2.1.2. Acidogeneza**

Za vrijeme acidogeneze, koja se još naziva fermentacija, uz pomoć acidogenih bakterija proizvodi hidrolize transformiraju se u metanogene spojeve. Aminokiseline, jednostavni šećeri i masne kiseline razgrađuju se sve do octene kiseline, vodika i ugljikovog dioksida, koji se razgrađuju metanogenim bakterijama. Tijekom acidogeneze nastaju hlapljive masne kiseline, uključujući octenu kiselinu ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), propionsku kiselinu ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$ ) i maslačnu kiselinu ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ ) te alkoholi koji se mogu direktno razgraditi djelovanjem metanogenih bakterija već se moraju dodatno oksidirati. ([https://bib.irb.hr/datoteka/587858.Andrea\\_Hublin\\_disertacija.pdf](https://bib.irb.hr/datoteka/587858.Andrea_Hublin_disertacija.pdf))

### **2.1.3. Acetogeneza**

Za vrijeme fermentacije neki produkti ne mogu se direktno razgraditi do metana djelovanjem metanogenih bakterija. Ti produkti su uglavnom hlapljive masne kiseline i alkoholi. U procesu acetogeneze ti se produkti oksidiraju do octene kiseline i vodika. Proizvodnjom vodika povećava se parcijalni tlak u reaktoru, što inhibira metabolizam acetogenih bakterija. Tijekom metanogeneze vodik se transformira u metan.

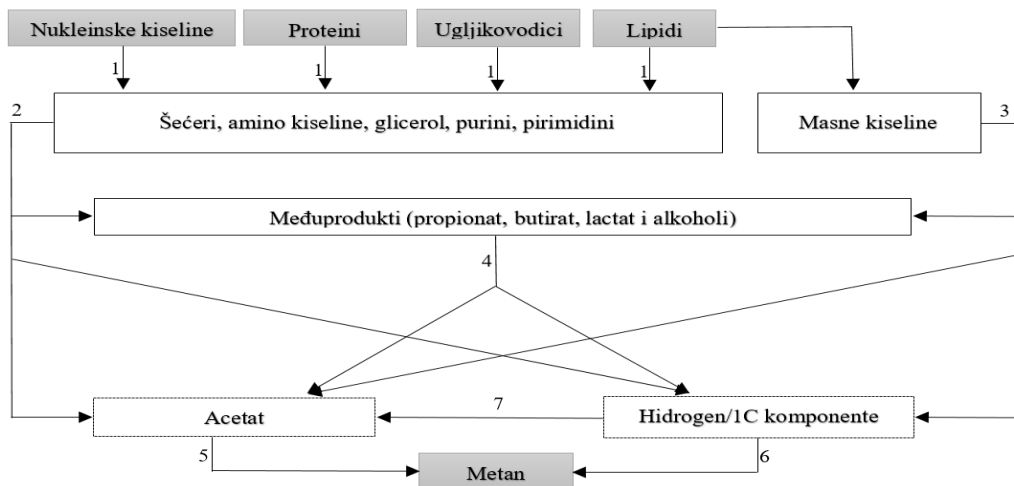
### **2.1.4. Metanogeneza**

Metanogeneza je posljednji korak u cijelom procesu anaerobne razgradnje. To je najsporija biokemijska reakcija u proizvodnji bioplina.

Proces acetogeneze i metanogeneze uglavnom se provode paralelno kao sitopijsko djelovanje acetogenih bakterija i metanogenih arheobakterija, dviju metabolički različitih vrsta bakterija. Niski parcijalni tlak vodika uvjetuje da su acetogene reakcije termodinamički povoljne (promjena slobodne energije je manja od nule). Tijekom metanogeneze vodik se razgrađuje pri višim tlakovima. Zbog toga se reakcije acetogeneze i metanogeneze provode paralelno, u uskom rasponu vrlo niskih tlakova.

([https://bib.irb.hr/datoteka/587858.Andrea\\_Hublin\\_disertacija.pdf](https://bib.irb.hr/datoteka/587858.Andrea_Hublin_disertacija.pdf))





Slika.2. Dijagram reakcijskog slijeda kompleksnih organskih molekula u anaerobnoj digestiji (1) hidroliza; (2) fermentacija; (3) beta-oksidacija; (4) acetogeneza; (5) acetoklasna metanogeneza; (6) hidrogenotrofna metanogeneza; (7) homoacetogeneza

Izvor: prilagođeno prema Bohutskyi i Bouwer (2013)

#### 2.1.4. Anaerobna digestija

U ovom procesu organska materija se razgrađuje mehanički i kemijski. Kako bi postigli da se taj proces što bolje odvija trebamo biomasu što bolje usitniti te ju sterilizirati i pasterizirati kako bi se pobili svi mikroorganizmi koji nisu poželjni u procesu proizvodnje. Kemijskim putem iz supstrata koji služi za dobivanje bioplina razlaže se na sve jednostavnije spojeve, te u svakom od procesa sudjeluju različite vrste mikroorganizama. Sve to se odvija u velikim spremnicima koji se još nazivaju digestori. Anaerobna digestija koja se odvija u digestorima uglavnom traje oko 20-ak dana, ako se temperatura u digestoru održava u rasponu od 40-55 stupnjeva. Kako bi postigli što bolje uvjete za proizvodnju plina bitno je redovito miješanje smjese, te atmosfera bez prisustva kisika. U suprotnom nema razvitka metanskih bakterija.

Proces još može zaustaviti prevelika koncentracija amonijaka unutar digestora, a to dolazi kao nusproizvod razgradnje bjelančevina, te za uspješnu anaerobnu digestiju razinu amonijaka potrebno je držati ispod kritične razine. Anaerobne bakterije su odgovorne za razgradnju supstrata. Fermentatori su bakterije rodova: *Clostridium*, *Methanobacterium* i *Methanosarcina*. Na rast i aktivnost bakterija snažno utječu količina kisika, temperatura, pH vrijednost, hranjive tvari, miješanje i dr. Metanogene bakterije su isključivo anaerobne i zbog toga se mora spriječiti dotok kisika u digestor.

Nakon bioplina koji je nastao procesom anaerobne digestije ostaje i digestat koji se može upotrijebiti kao organsko gnojivo na poljima te bi tako zbrinuli „organski otpad“ koji ostaje nakon proizvodnje bioplina. Digestat kao gnojivo ima više prednosti nad primjenom stajskog gnoja. Prednosti su to što je značajno manja količina neugodnih mirisa, onesposobljenje virusa, bakterija i parazita u tretiranom supstratu te smanjena pojava opeklina na listovima tretiranih biljaka radi manjeg udjela masnih kiselina zbog njihova raspadanja tijekom procesa anaerobne digestije. U odnosu na sirovu gnojovku digestat ima veći udio dušika i fosfora te se time povećava i njegova iskoristivost kao gnojiva. (Kralik i sur. (2009)

### **2.1.5. Sirovine za proizvodnju bioplina**

Kao sirovina najčešće se uzima gnoj ili gnojovka u kombinaciji s drugom sirovinom biljnog podrijetla (bogate škrobom, šećerom, uljima) ili životinjskog podrijetla (bogate proteinima i mastima). Bioplin se dobiva iz organskih materijalna, a podrijetlo sirovina može varirati od stočnih otpadaka, žetvenih viškova, ostataka ulja od povrća do organskih otpadaka iz kućanstava. (<http://www.eihp.hr>)

Sirovine koje se koriste u proizvodnji bioplina:

- stajski gnoj i gnojovka (goveda, svinje, perad)
- ostaci poljoprivredne proizvodnje (žetveni ostaci, propali usjevi)
- organski otpad iz prehrambeno – prerađivačke industrije (ostaci biljnog i životinjskog podrijetla)
- organski dio komunalnog otpada iz kućanstva i ugostiteljske djelatnosti
- otpadni mulj od pročišćavanja otpadnih voda
- energetski usjevi (kukuruz, uljana repica, pšenica-slama, razne vrste trava i sl.)
- odlagalište otpada (organski dio komunalnog otpada)

### **2.1.6. Primjena bioplina**

Bioplinska postrojenja su kompleksna instalacija koja se sastoji od velikog broja elemenata koji međusobno surađuju kako bi se proizvelo što više bioplina. Organizacija i konstrukcija postrojenja ovisi o vrsti sirovina na proizvodnju bioplina i količina sirovina koja je dostupna za proizvodnju. Ovisno o obliku sirovine primjenjuju se različite tehnike i tehnologije, te prilagođene konstrukcije fermentora kako bi se postigla što bolja prerada sirovine. Digestat

ostaje kao nusproizvod nakon proizvodnje bioplina iz supstrata, te je jako bitno njegovo skladištenje nakon izlaska iz digestora. Digestat se u poljoprivredi koristi kao gnojivo.

Proces proizvodnje bioplina u poljoprivrednim bioplinskim postrojenjima obično se odvija u četiri faze:

1. Transport, isporuka, skladištenje i prethodna obrada sirovine
2. Proizvodnja bioplina (AD)
3. Skladištenje digestata, eventualno kondicioniranje i primjena
4. Skladištenje bioplina, kondicioniranje i korištenje (Kralik i sur. (2009))

Digestat se u poljoprivredi koristi kao gnojivo. Kvaliteta digestata određena je tehnikom i tehnologijom koja je korištena za dobivanje bioplina. Kvaliteta sirovine određuje udio suhe tvari, struktura, podrijetlo i dr. Nakon fermentacije digestat se ispumpava iz digestora u spremnike koji služe za skladištenje. Digestat se još može skladištiti u otvorenim kontenjerima s prirodnim ili umjetnim plutajućim slojem koji se koristi kako bi smanjio emisiju s površine na najmanju moguću razinu.

Prema relativnoj veličini, funkciji i lokaciji, postoje tri glavne kategorije poljoprivrednih bioplinskih postrojenja:

- Bioplinska postrojenja za obiteljska gospodarstva (mala postrojenja)
- Bioplinska postrojenja za farme (srednje velika postrojenja)
- Centralizirana bioplinska postrojenja sa zajedničkom kodigestijom (velika postrojenja) (Al Seadi i sur. 2008.)

Kako bi se povećala proizvodnja bioplina sve se više koriste usjevi s velikom energetske vrijednosti koji se dodaju u digestor kao supstrat uz gnojovku (svinjsku, govedu) i silažu. Jedan od ti usjeva je i miskantus, te se još koriste razni enzimi kako bi se poboljšala razgradnja organskog materijala te kako bi došlo do što boljeg oslobađanja plina.

## **2.2. Miskantus**

Nije poznata u našim krajevima, dok u europski okvirima je već duže vrijeme poznata te je uvedena u biljke kao brzorastuća trava. Izvorno potječe iz japanskih nizina i s pacifičkih otoka, a u Europi je prvi put kultivirana 1930-ih godina. Zbog svoje visoke energetske vrijednosti prenesena je u područja u kojima je razvijena industrija. Razvoj miskantusa

potjekao je iz nekoliko naučnih institucija i sveučilišta iz Njemačke. Uzgaja se u Danskoj, Nizozemskoj, Poljskoj, Švicarskoj, Austriji, Mađarskoj, Velikoj Britaniji te Francuskoj već od 1982. Početkom 1990-ih je privukao veliku pozornost kao potencijalna biomasa, prije svega zbog visoke produktivnosti, čak i u hladnijim uvjetima. (Ligero i sur.2010.)

### **2.2.1. Karakteristike**

Pripada sorti trske. Višegodišnja je kultura, lako je za održavat i isplativa za uzgajati. Eksploatacija miskantusa traje 20-30 godina od sadnje. Što je dugačak period, do prvih većih prinosa dolazi se u razdoblju od 3 do 6 godina. Godišnji prinos iznosi od 20 do 25 tona po hektaru.

*Miscanthus x giganteus* je visoko produktivna, sterilna, rizomska, C4 višegodišnja trava koju treba smatrati sirovinom za proizvodnju energije. Idealne biljke za proizvodnju biomase su:

- višegodišnje biljke
- pohranjuju ugljik u tlo
- imaju visoku učinkovitost korištenja vode
- nisu invazivne
- nisku potrebu za gnojidbom

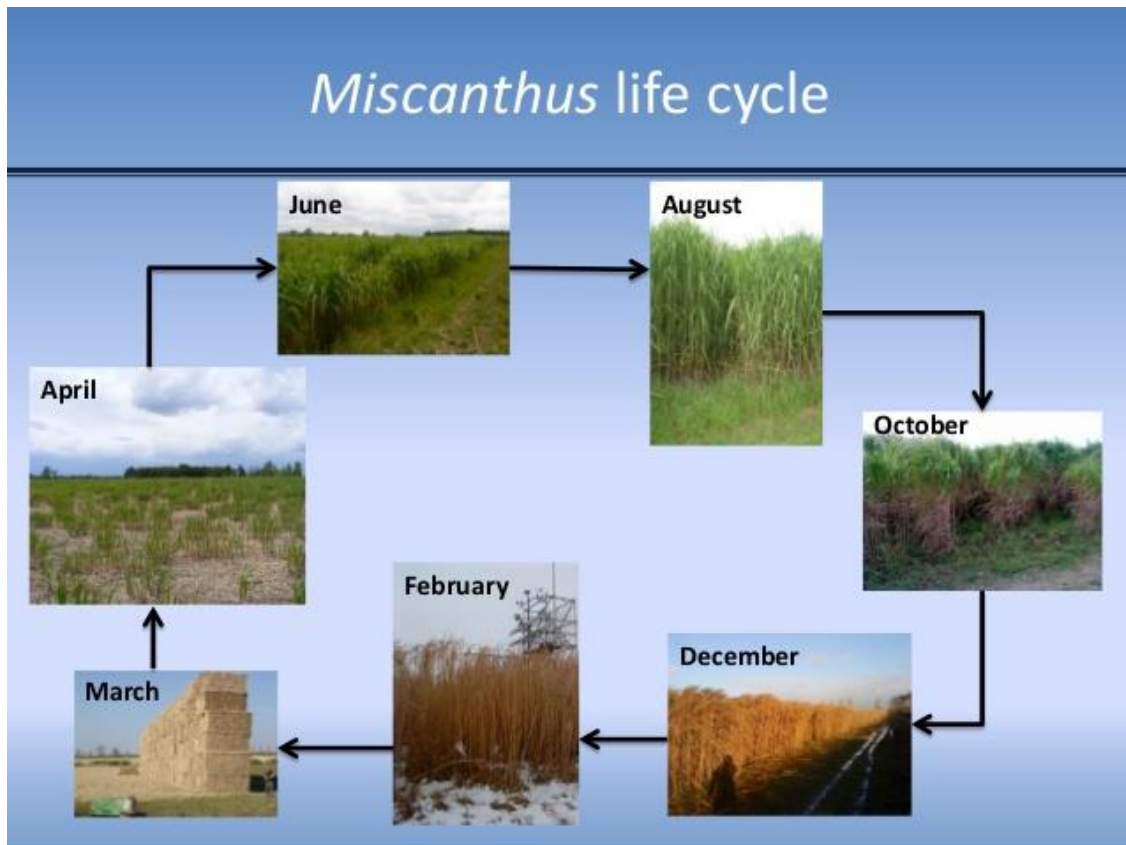
Jedina trava koja posijeduje sve ove karakteristike, kao i proizvodnju velike količine biomase je *Miscanthus x giganteus* (Anderson i sur., 2011.)

*Miscanthus x giganteus* je biljka koju odlikuje sposobnost za akumulaciju velike količine nadzemne mase u odnosu na druge C4 biljke. *Miscanthus* je C4 biljka kao što su i kukuruz, šećerna trska i sirak..

Međutim, u uvjetima niskog zračenja i u hladnijim temperaturnim uvjetima, kao što su oni u rasponu od 12°C do 14°C, C4 doživljava inhibiciju, smanjujući fiksaciju ugljika. Poboljšanjem slabijeg svjetla i hladnije klime C4 fotosinteza ima potencijal za ranijim sezonskim porastom, povećanim geografskim područjima i povećanim prinosom ( Sage i sur., 2012.).

*Miscanthus* ima značajnu ulogu u grupi bioenergetskih usijeva. Jer je pogodan za održavanje ekološke stabilnosti i može se uzgajati na tlima lošije kvalitete ili na zaraslim površinama. Pogodan je još iz razloga što poboljšava pedološki sustav tla te povećava asimilaciju raznih elemenata u tlu. Nema velike zahtjeve prilikom uzgoja i njege usijeva. Te nisu velike potrebe za vodom.

Sastav *Miscanthusa* ovisi o sezoni, terminu žetve i bioklimatskoj lokaciji. Podaci pokazuju da ukupni sadržaj lignina u suhoj masi *Miscanthusa* iznosi 23%, celuloze 37% i hemiceluloze 22% dok suha biomasa *Miscanthusa* sadrži 38% celuloze, 24% hemiceluloze i 24% lignina. ( Han i sur., 2011.)



Slika 3. Godišnji ciklus *Miscanthusa*

Izvor: (<https://www.slideshare.net/AndyRobertson4/miscanthus-ceh-ph-d-presentation-8313-25483020>)

U Hrvatskoj se *Miscanthus* uzgaja na manjim površinama, za sada nije dovoljno zastupljen iako se površine pod *Miscanthusom* stalno povećavaju. Velika količina obradive površine koja se ne obrađuje zbog lošije kvalitete tla bi bila pogodna za uzgoj *Miscanthusa*. Neke zemlje kao što su na primjer Njemačka dodjeljuju poticaje za uzgoj *Miscanthusa*, dok se u drugim državama (Kina) pokazala kao jako dobra sirovina za industriju papira. Te ga neke zemlje uzgajaju pored prometnica kao što su autoput, jer zbog svog visokog rasta i guste vegetacije dobar je izolator zvuka sa prometnica.

### 2.2.2. Uzgoj

*Miscanthus x giganteus* lako se prilagođava svim tipovima tla. Pogodni pH tla za uzgoj *Miscanthus* bi se trebao nalaziti u rasponu od 5,5 do 8,0 pH. Preporučeni broj biljaka po

hektaru je od 13 000 – 15 000 biljaka po hektaru. Da bi se postigao taj sklop potrebno je zasijati 18 000 biljaka po hektaru. I gušći sklop je pogodniji za smanjivanje utjecaja i rasta korovnih biljaka. Rizomi se sade na dubinu od 5-10 cm ovisno o vremenskim uvjetima prilikom sadnje. Sadnja se odvija u kasno proljeće, kada nema pojave mraza. Preporučeno vrijeme za sadnju je od travnja do lipnja. Ključni elementi za rast i razvoj miscantusa su dušik, fosfor i kalij. Mogu se primijeniti prije ili poslije sadnje. Jedna od glavnih stvari pri podizanju nasada miscanthusa je suzbijanje korova u prvoj godini kada su oni najintenzivniji i najopasniji za usjev miscantusa. Nakon dobre obrade i pripreme tla za nasad miscantusa, od druge godine pa na dalje nema potrebe za korištenjem herbicida za suzbijanje korovnih biljaka.

### **2.2.3. Žetva**

Odnos kvantitete i kvalitete požnjevene biomase Miscanthusa ovisi o vremenu žetve. Zimski gubici (opalo lišće, lišće u procesu raspadanja, vršni dijelovi stabljike) mogu dovesti do smanjenja suhe biomase od 30-50 %, ali sušenje u polju smanjuje i sadržaj vode i mineralnih materija u usjevu, što daje čistiju sirovinu za proizvodnju goriva i omogućuje zadržavanje više nutrijenata u zemljištu (Dželetović i sur., 2009.).

Ovisno o uvjetima uzgoja i vremenu žetve, prinos suhe tvari Miscanthus x giganteus iznosi 25 t/ha. Žetva često dolazi tek u drugoj vegetacijskoj godini. Nasad može biti 20 godina na istoj površini nakon čega slijedi presađivanje zbog iscrpljenosti tla i ne ekonomičnosti prilikom daljnjeg uzgoja. Žetvu je najbolje obaviti kada je udio vlage u biljci ispod 20%, jer time olakšavamo skladištenje, obradu te poboljšavamo gorivu vrijednost.

## **2.3. Enzimi**

Enzimi se koriste kako bi pospješili proces razgradnje organske tvari na manje elemente. U sklopu ovog istraživanja korištena su dva enzima. To su enzimi MethaPlus i axiase.

### **2.3.1. MethaPlus**

MethaPlus je složena enzimska smjesa dobivena fermentacijom određenih vrsta Trichoderma reesei. Glavne enzimske aktivnosti MethaPlus su celuloza, ksilanaza i beta-glukanaza.

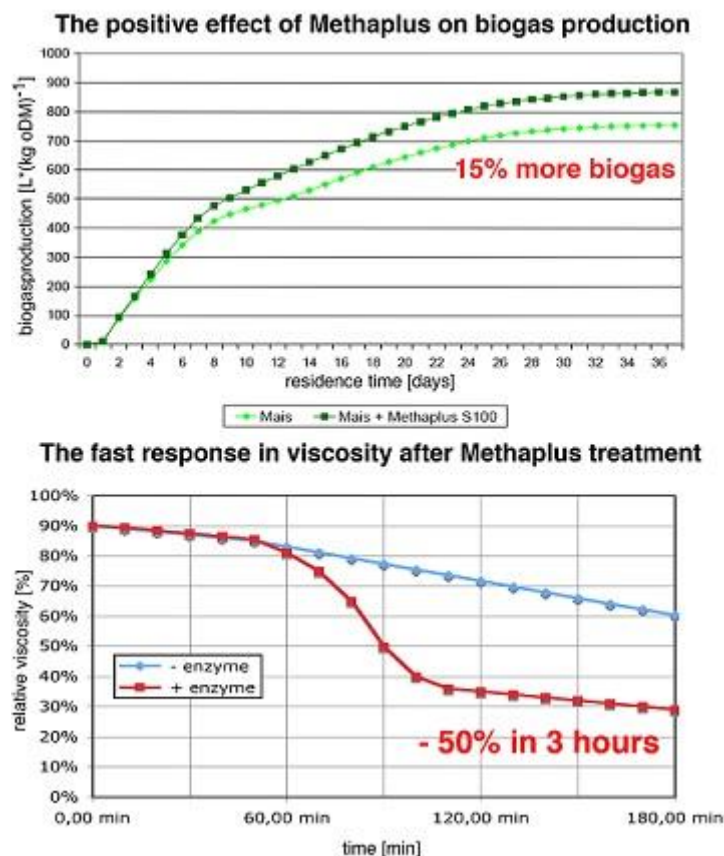
U procesima fermentacije bioplina MethaPlus povećava brzinu hidrolize vlakana (i s tim ubrzava proizvodnju plina).

### 2.3.1.1. Funkcija i primjena

Dodatkom MethaPlus enzima celulozi i hemicelulozi koji sadrži organski materijal u fermentorima bioplina dobivamo supstrat pristupačniji za mikroorganizme koji stvaraju metan i u anaerobnim uvjetima rezultira povećanim proizvodom bioplina. Dodatni učinci dodavanja MethaPlus su smanjena viskoznost mase digestata i smanjeni plutajući sloj.

Tipična doza MethaPlus za kontinuiranu primjenu je 100 - 250 grama / tonu suhog organskog materijala / dan.

U običajnim fermentacijskim uvjetima bioplina, MethaPlus je aktivan u području pH od 4,5 do 8, te u temperaturnom rasponu 35 - 50 °C. Pri temperaturama iznad 65 °C većina enzimskih aktivnosti u MethaPlus bit će neaktiviran.



Slika 4. Djelovanje MethaPlusa

Izvor: <http://www.dsmbiogas.com/en-US/Our-products/MethaPlus>

### 2.3.2. Axiase

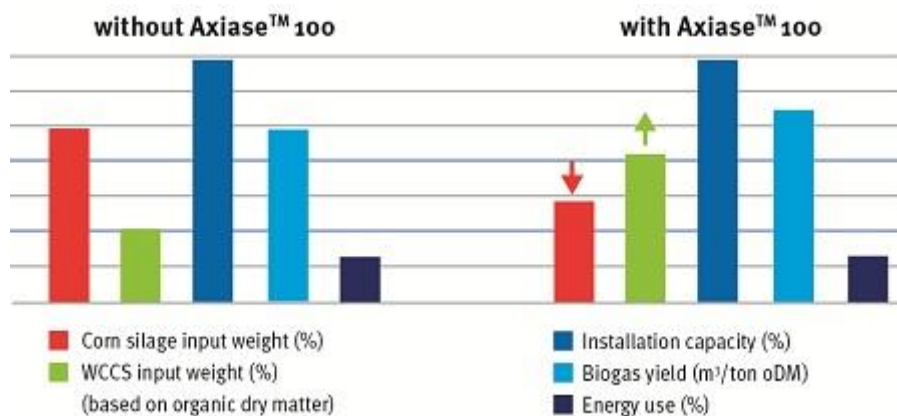
Axiase sadrži enzime koji razgrađuju pektine, beta-glukane, pentozane, hemicelulozu i celuloza. Axiase omogućava povećanje upotrebe širokog spektra vlakana na bazi žitarica.

#### 2.3.2.1. Funkcija i primjena

Zbog tehničkih ograničenja, dosad nije bilo moguće koristiti znatno više vlakana na bazi žitarica u proizvodnji bioplina. U procesu bioplina, Axiase pospješuje raspad dugolančanih, vodenih veziva polisaharida do vodotopivih šećera kratkih lanaca i na taj način optimizira protok sadržaja fermentatora. Znatno smanjujući viskoznost, Axiase proizvođačima bioplina daje veću fleksibilnost supstrata i istovremeno povećava njihov energetske prinos. Doziranje Axiase ovisi o organskim suhim tvarima i svojstvima sluzi u supstrati koji se koriste u postrojenju za bioplin.

Axiase se nanosi i dodaje u 3 faze između početnih 500 i kasnije 100 grama po toni od supstrat kako bi se povećao ukupni udio silaže u ukupnom unosu supstrata.

Kako bi se koncentracija enzima u fermentoru održala stabilnom, Axiase mora se dodavati svakodnevno i za najbolji rezultati izravno u fermentor. Ako to nije moguće, Axiase možete dodati u postupak bioplina pomoću čvrstih raspršivača ili spremnika za miješanje.



Slika 5. Djelovanje Axiase

Izvor: <http://www.dsmbiogas.com/en-US/Our-products/Axiase-100>



### 3. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog istraživanja je utvrditi povećanje proizvodnje bioplina postupkom anaerobne fermentacije stajskog gnoja u koodigestiji s miskantusom tretiranim s dva enzima (MethaPlus i axiasa). Na temelju dobivenih rezultata utvrdit će se proizvedena kvantiteta i kvaliteta bioplina.

### 4. MATERIJALI I METODE

#### 4.1. Uzorkovanje

Uzorak gnojovke koji se služio u istraživanju uzet je s farme Orlovnjak koja se nalazi na cesti između Antunovca i Tenja. Kapacitet farme je 850 muznih krava, što je u prosjeku dnevna proizvodnja 16 000 -18 000 l mlijeka. Uglavnom je zastupljena pasmina Holstein Friezina. Farma ima zaokružen ciklus proizvodnje, gdje se na istoj lokaciji obavlja odgoj vlastitog podmlatka od teleta, visoko steonih junica pa sve do muznih krava. (<https://zito.hr/hr/djelatnosti>)



Slika 6. Farma Orlovnjak (<http://www.termesgrupa.hr/hr/index.php/clanice/farma-muznih-krava-orlovnjak-doo.html>)

Farma Orlovnjak je 2016. izgradila postrojenje za proizvodnju bioplina. Sa farme Orlovnjak uzet je uzorak od 6 litara svježe goveđe gnojovke. Uzorak je uziman iz prijamne jame te je uzeti uzorak pri dolasku u laboratorij raspoređen po kontrolnoj i eksperimentalnoj grupi.

Te se još u eksperimentalnim grupama koristio miskantushus koje je prethodno bio usitnjen, njega smo dodavali u sve grupe osim kontrolne grupe gdje je bila samo gnojovka.

Uz miskanthus još smo u eksperimentalne grupe dodavali enzim MethaPlus i Axiase koji su proizvedeni od strane DSM-a. DSM se nalazi u Nizozemskoj. Njihov cilj je poboljšati kvalitetu naših proizvoda i našeg života.

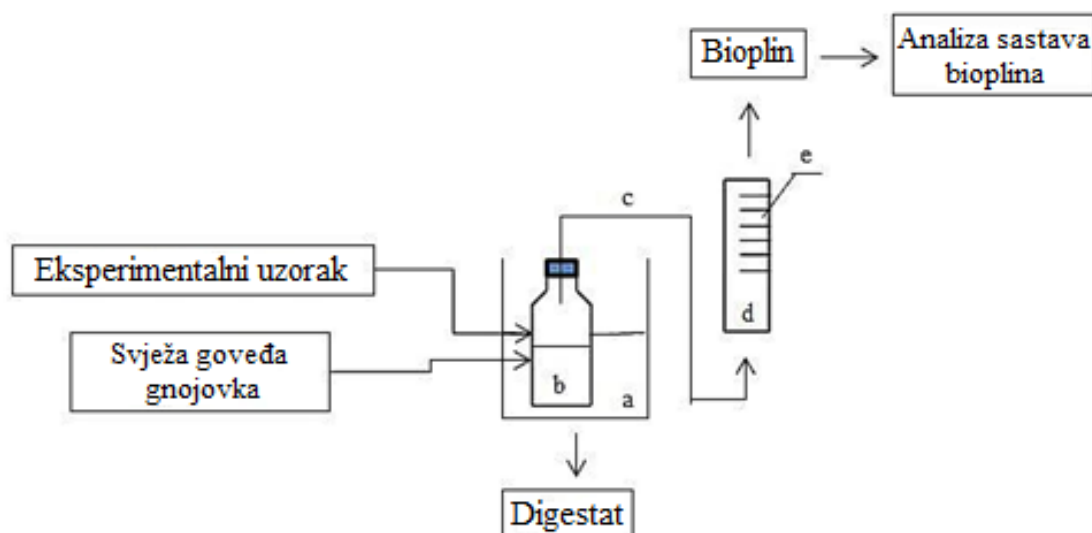
U svakoj grupi na kojoj smo provodili istraživanja dijelila su se još na tri uzorka kako bi dobili veći broj parametara koje ispituje. Samim time povećava se točnost ispitivanih elemenata. Razlog tome je veći broj ispitivanih podataka.

#### 4.2. Metoda anaerobne fermentacije

Za proizvodnju bioplina koristile su se 3 skupine uzoraka:

- svježa goveđa gnojovka 500 g (100%) prikupljena je sa farme Orlovnjak, Tenja iz prijemne jame smještene prije ulaska u bioplinsko postrojenje - kontrola skupina K;
- smjesa 475 g (95% ukupne biomase) svježe goveđe gnojovke + 25 g miskantus (5% ukupne biomase) - eksperimentalna skupina A;
- smjesa 475 g (95% ukupne biomase) svježe goveđe gnojovke + 25 g miskantus sa Axiase (5% ukupne biomase) - eksperimentalna skupina B.
- smjesa 475 g (95% ukupne biomase) svježe gnojovke + 25 g miskantusa sa MethaPlus (5% ukupne biomase)

Kontrola je postavljena u dva ponavljanja dok su eksperimentalne skupine postavljane u 3 ponavljanja.



Slika 7. Shematski prikaz provedbe procesa anaerobne fermentacije: termostatska vodena kupelj (a); reaktorska boca (b); PVC cijev (c); prezasićena otopina NaCl (d); menzura za prikupljanje bioplina (e)

Izvor: prilagođeno po Kovačić (2017)

Anaerobna fermentacija se provodila u diskontinuiranim bioreaktorima zapremnine 1 litre pri termofilnim uvjetima (55°C) u kupelji tijekom razdoblja do 30 dana. Fermentacija se svakodnevno pratila, a proizvedeni bioplin sakupljan je kroz prezasićenu otopinu NaCl u graduiranim menzurama (2 litre) spojenim na bioreaktore preko PVC cijevi.



Slika 8. Provedba procesa anaerobne fermentacije

Izvor: autor

### 4.3. Analiza sastava bioplina

Sastav uzorka bioplina i to udio metana (CH<sub>4</sub>), ugljikovog dioksida (CO<sub>2</sub>) i dušika (N), analiziran je pomoću plinskog kromatografa Varian 3900 opremljen TCD detektorom prema modificiranoj metodi HRN ISO 6974-4:2000. Temperatura injektora bila je 150°C, Temperatura detektora 150°C, Temperatura kolone 90°C. Tip kolone: 10x1/8" od nehrđajućeg čelika (Restek SN: C14030) za analizu metana, dušika, ugljičnog dioksida, a plin nositelj je helij s protokom kroz kolonu 1 mL/min.

### 4.4. Analiza suhe tvari

Suha tvar u uzorcima utvrđena je sušenjem 100 g svježeg uzorka u sušioniku, na 75°C kroz 24 sata, zatim dodatna 3 sata na temperaturi od 105°C do konstantne mase (Thompson, 2001.). Udio ukupne suhe tvari u uzorku izračunata je prema jednadžbi:

$$\text{Ukupna suha tvar (\%)} = [ \text{neto suha tvar (g)} \div \text{neto svježi uzorak (g)} ] \times 100$$

#### **4.5. Određivanje sadržaja pepela i organske tvari**

Ukupan sadržaj pepela i organske tvari određen je žarenjem na 550°C tijekom 3-4 sata (Thompson, 2001.) u peći za žarenje, a korišteni su uzorci suhe tvari nakon sušenja na 75°C i sljedeće formule:

$$\text{pepeo ( \% )} = [ \text{neto masa pepela nakon } 550 \text{ }^{\circ}\text{C ( g )} \div \text{neto suhi uzorak ( g )} ] \times 100$$

$$\text{organska tvar} = [ 1 - \text{neto pepela nakon } 550 \text{ }^{\circ}\text{C ( g )} \div \text{neto suhi uzorak ( g )} ] \times 100$$

#### **4.6. Određivanje pH**

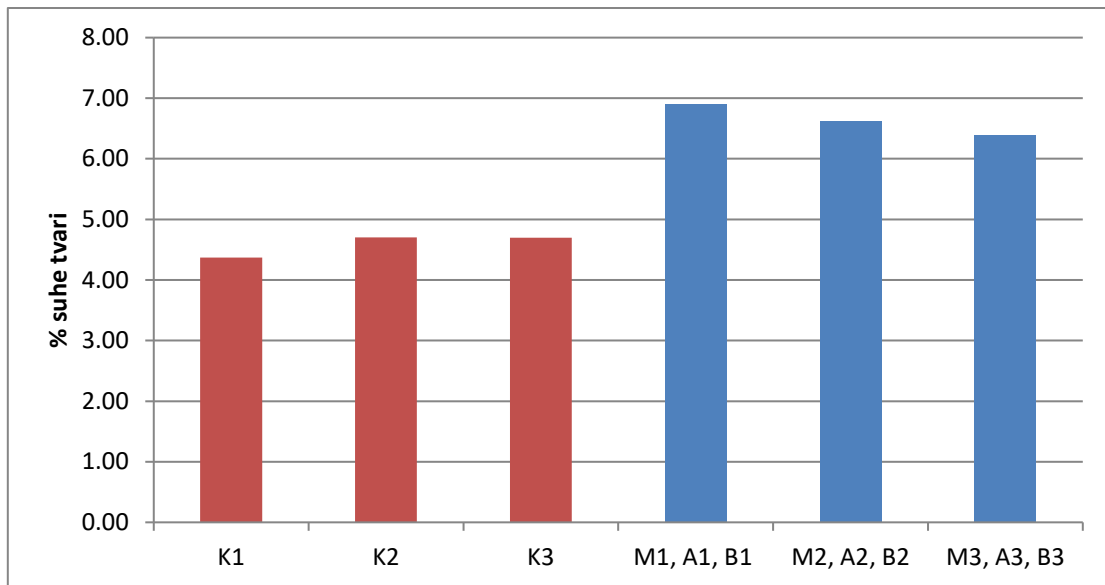
Određivanje pH vrijednosti u uzorcima obavljeno je pH metrom Mettler Toledo FiveEasy.

### **5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA**

#### **5.1. Udio suhe i organske tvari u supstratu**

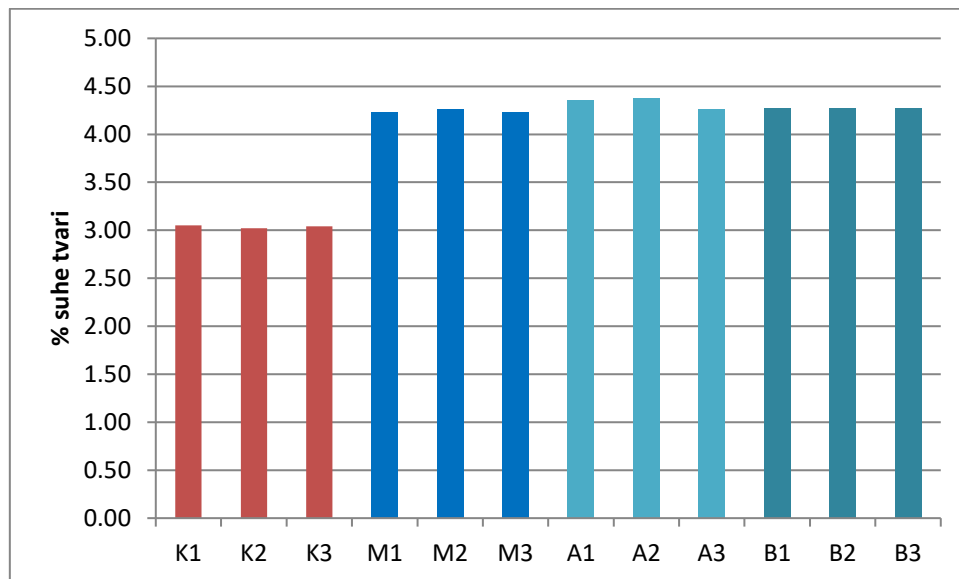
Niska koncentracija suhe tvari karakteristična je za govedu gnojovku, te dodavanjem miskantusa mijenjamo udio suhe tvari (ST) u njoj. Kod eksperimentalnog uzorka koristili smo 5 % miskantusa. Zbog toga su primjetne razlike kod udijela suhe tvari kod eksperimentalne i kontrolne grupe. Te u eksperimentalne uzorke su se još dodavali enzimi MethaPlus (120 mg) i Axiase (60 mg)

Prosječna vrijednost suhe tvari u miskantusu koji je dodavan gnojovci iznosi 43,82 %. Prosjek udijela suhe tvari u kontrolnim uzorcima K1, K2 i K3 iznosi 4,59 %, a u eksperimentalnim grupama sa enzimima axiase A1, A2 i A3 i u grupi sa methapulus B1, B2 i B3, te u grupi sa miskantusom bez enzima M1, M2 i M3 udio suhe tvari iznosi 6,64 %,

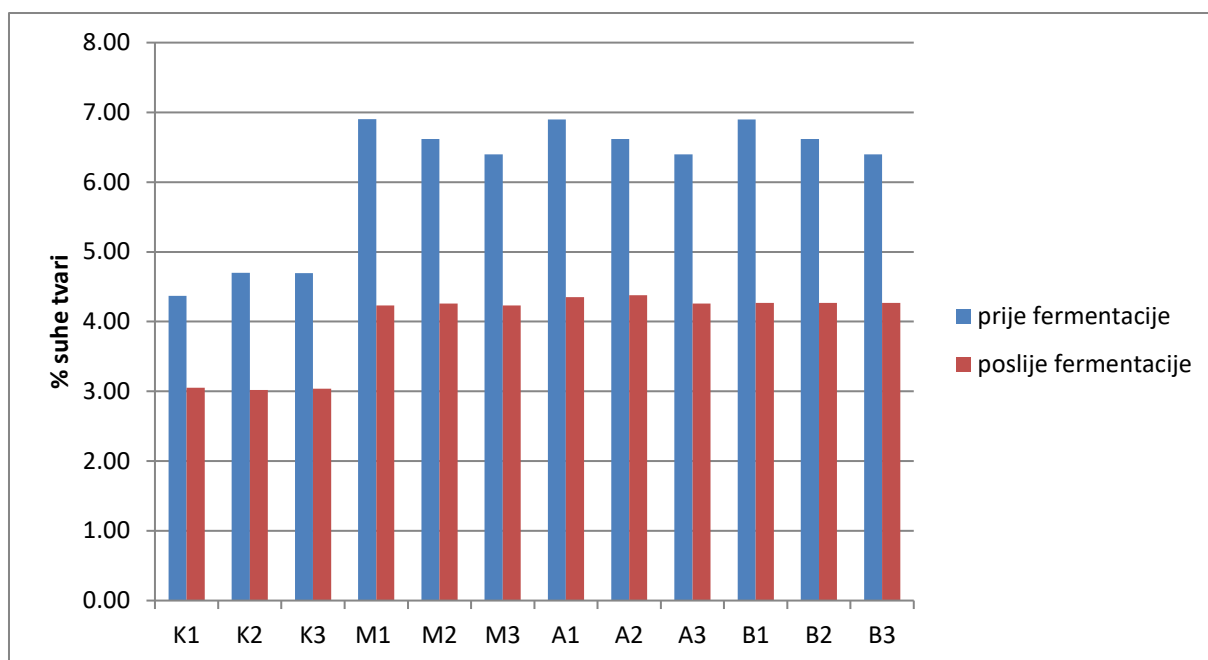


Grafikon 1. Udio suhe tvari u supstratima prije istraživanja

Nakon fermentacije, prosječni postotak suhe tvari smanjio se u kontrolnim grupama K1, K2 i K3 na 3,04 % , i u eksperimentalnim grupi sa enzimom axiase A1,A2 i A3 iznosi 4,33 % i u grupi sa enzimom methapulus B1, B2 i B3 iznosi 4,27 % , te u grupi sa miskanthusom bez enzima M1, M2, M3 iznosi 4,24 %.



Grafikon 2. Udio suhe tvari nakon fermentacije



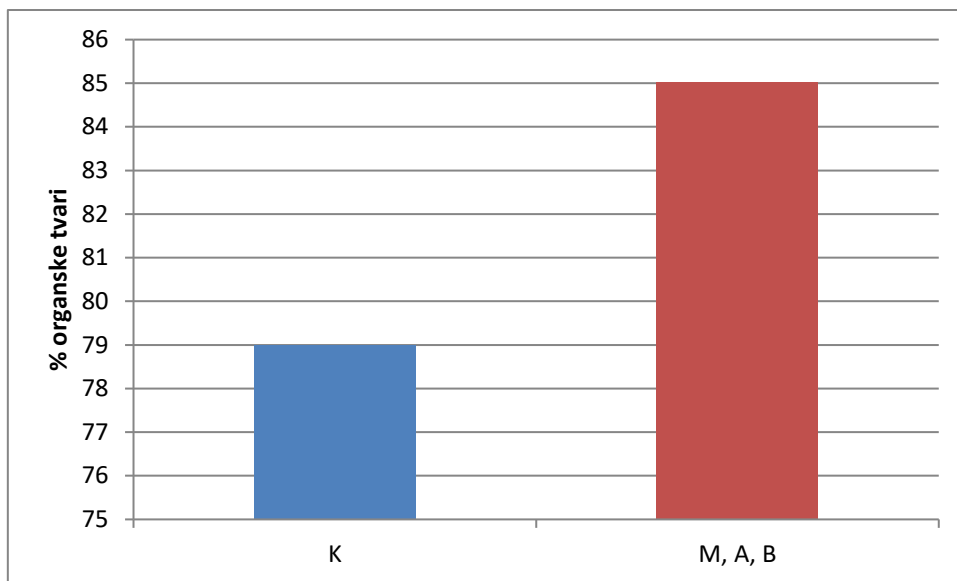
Grafikon 3. Usporedba postotka suhe tvari prije i nakon fermentacije

U kontrolnoj grupi K prosječna vrijednost suhe tvari prije fermentacije je bila 4,59 %, a nakon fermentacije udio suhe tvari se smanji na 3,04 % , gledajući odnos prije i poslije koncentracija suhe tvari se smanjila za otprilike 33,77 %. U eksperimentalnim grupama sa enzimom Axisase i MethaPlus, te miskantusom bez enzima udio suhe tvari prije fermentacije je bio 6,64 %. Nakon fermentacije u eksperimentalnoj grupi sa enzimom Axisase udio suhe tvari je 4,33 %, što je razlika za udio suhe tvari prije fermentacije za 34,8 %. U grupi sa enzimom MethaPlus udio suhe tvari poslije fermentacije je 4,27 %, što znači da razlika prije i poslije fermentacije iznosi 35,7 %. Te u grupi s miskantusom bez enzima udio suhe tvari poslije fermentacije je 4,24 % , što je razlika od 36,14 % prije i poslije fermentacije.

## 5.2. Organska tvar

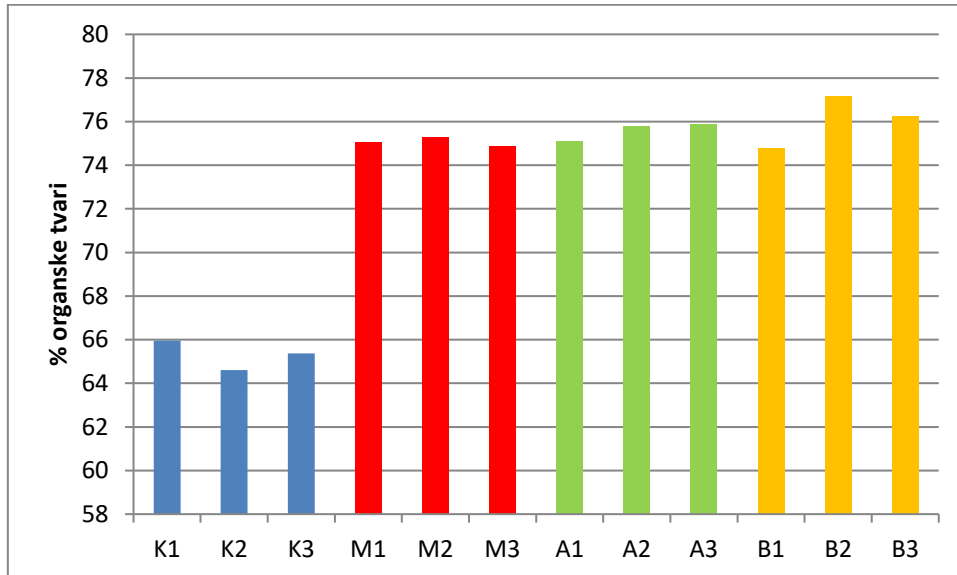
Jedan od glavnih parametara za proizvodnju bioplina je količina suhe tvari te sadržaj organske tvari u gnojovci i silaži. Organska tvar je glavni izvor koji mikroorganizmi iskorištavaju za proizvodnju metana (bioplina). Što je veći udio organske tvari veća je i proizvodnja bioplina.

Prije fermentacije najveća zabilježena količina organske tvari je kod Miskantusa te iznosi 96,27 %. Dok je u kontrolnoj grupi K prosječna organska tvar iznosila 79 %. U eksperimentalnim grupama A, B i M prosječna organska tvar prije fermentacije je iznosila 85,03 %. Te udio organske tvari gnojovke je 82,50 %.

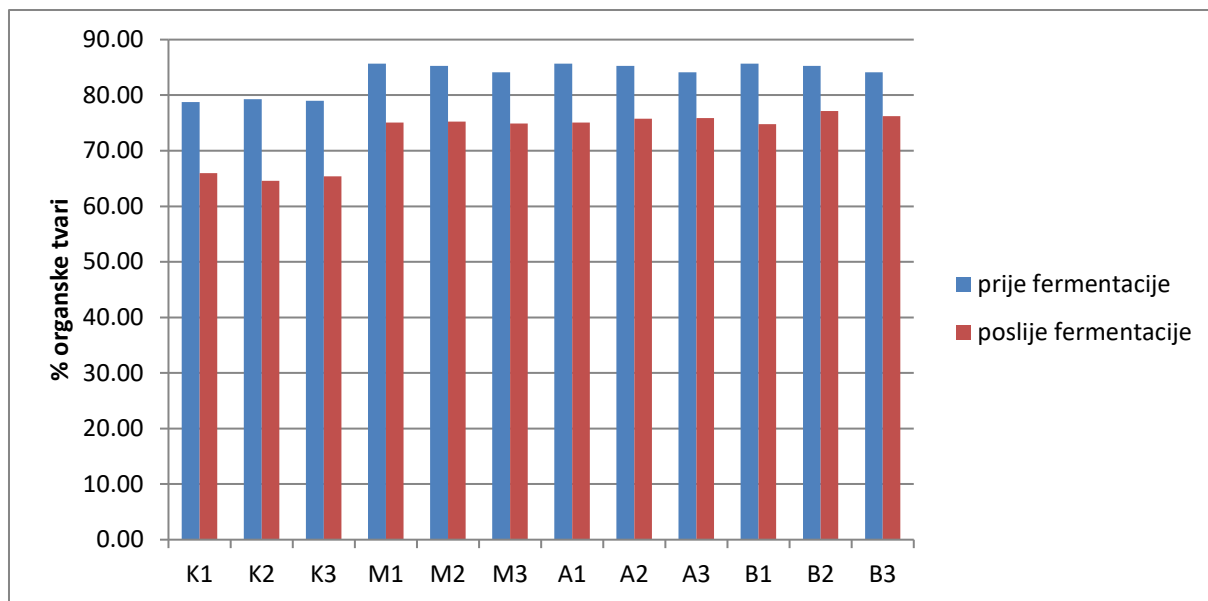


Grafikon 4. Postotak organske tvari u supstratu prije fermentacije

Nakon fermentacije došlo je do smanjena udjela organske tvari. Prosječni postotak kontrolne grupe (K) smanjio se na 65,31 %. Te u eksperimentalnoj grupi (A) sa enzimom Axiase smanjio se na 75,58 %, u grupi (B) sa enzimom MethaPlus se smanjilo na 76,05 %, te u grupi (M) sa miskantusom bez enzima se smanjio na 75,06 %.



Grafikon 5. Postotak organske tvari u supstratu nakon fermentacije



Grafikon 6. Udio organske tvari u supstratu prije i poslije fermentacije

U kontrolnoj grupi K prosječna vrijednost organske tvari prije fermentacije je iznosila 79%, a poslije fermentacije udio organske tvari je 65,31%, što znači da je došlo do smanjenja od 17,33%. U eksperimentalnoj grupi prosječna vrijednost organske tvari iznosila je 85,03% za grupe K, A i B.

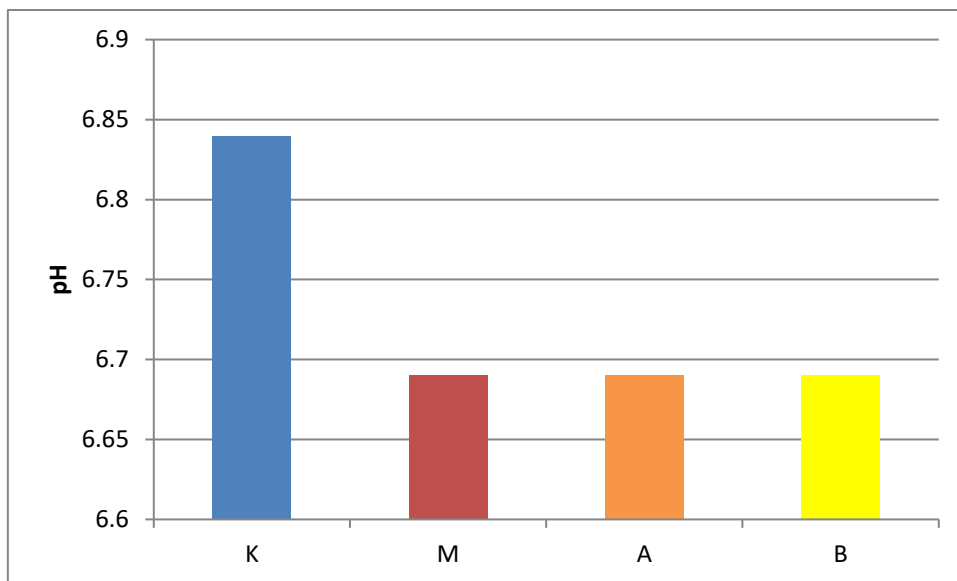
U grupi (A) gdje je korišten enzim Axiase prosječna organska tvar nakon fermentacije je iznosila 75,58%, što znači da je došlo do smanjenja od 11,11%. Kod grupe (B) gdje je korišten enzim MethaPlus prosječna vrijednost organske tvari nakon fermentacije je 76,05%, što znači da je došlo do smanjenja od 10,60%. Te kod grupe (M) gdje je korišten miskantus bez enzima je prosječna organska tvar nakon fermentacije 75,06%. Što je smanjenje od 11,73% u odnosu na količinu organske tvari prije fermentacije.

### 5.3. Koncentracija pH

Na rast i razvoj metanognih mikroorganizama uvelike utječe pH vrijednost supstrata. Te tako vrijednost pH je od 6,6 do 7,6 kod procesa metanogeneze. Dok u procesu anaerobne fermentacije dolazi do konstantne promjene pH te tako se on mijenja u granicama od 5,5 do 8,2 tijekom cijelog procesa.

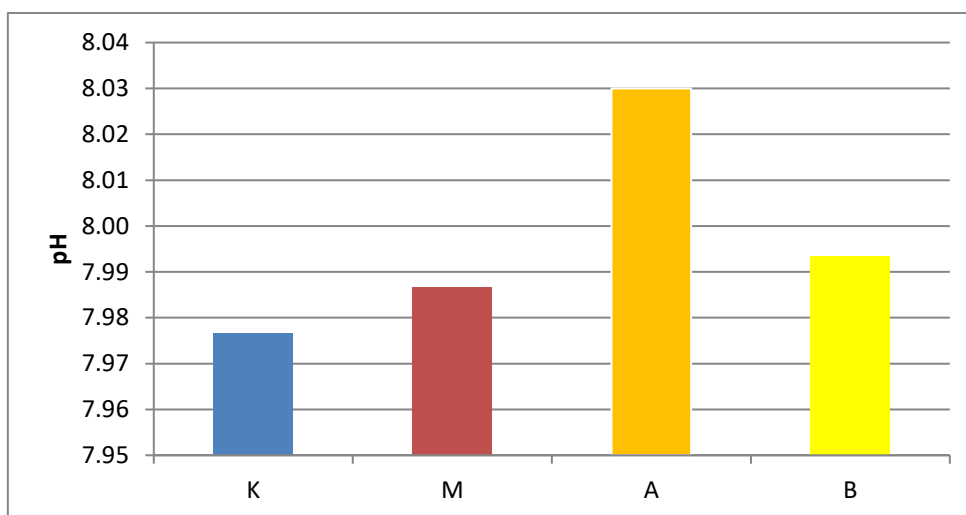
pH vrijednost kontrolnog uzorka (K) je 6,84, a dok je u eksperimentalnim uzorcima (A,B i M) pH vrijednost iznosila 6,69. Prije fermentacije vrijednost pH kod miskantusa je iznosila 4,86.





Grafikon 7. Visina koncentracije pH u uzorcima prije fermentacije.

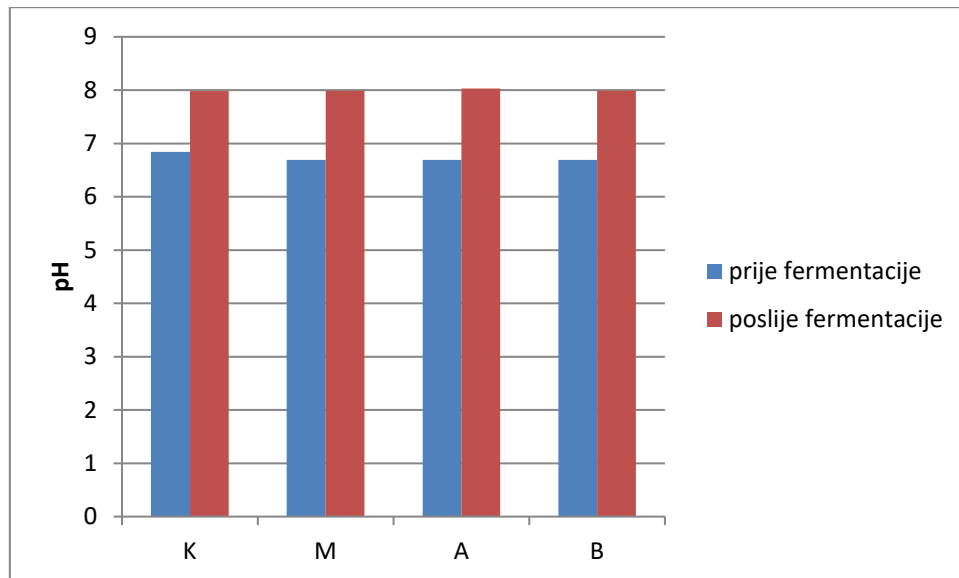
Prosječna vrijednost pH se povećala nakon procesa fermentacije. Te je tako u kontrolnoj grupi (K) nakon fermentacije pH iznosio 7,98. U eksperimentalnoj grupi sa enzimom Axiase (A) prosječni pH je iznosio 8,03, dok je sa enzimom MethaPlus (B) prosječna vrijednost pH iznosila 7,99. Te sa miskantusom bez enzima (M) prosječna pH vrijednost iznosila je 7,99 nakon fermentacije.



Grafikon 8. Visina koncentracije pH u uzorcima nakon fermentacije

U kontrolnoj grupi (K) prije fermentacije prosječna vrijednost pH je bila 6,84, a poslije fermentacije je iznosila 7,98. Što znači da je došlo do povećanja od 16,67%. U eksperimentalnim grupama (A,B i M) prosječna vrijednost pH prije fermentacije je iznosila 6,69. Poslije fermentacije uzorak sa enzimom Axiase (A) je imao vrijednost pH od 8,03, što

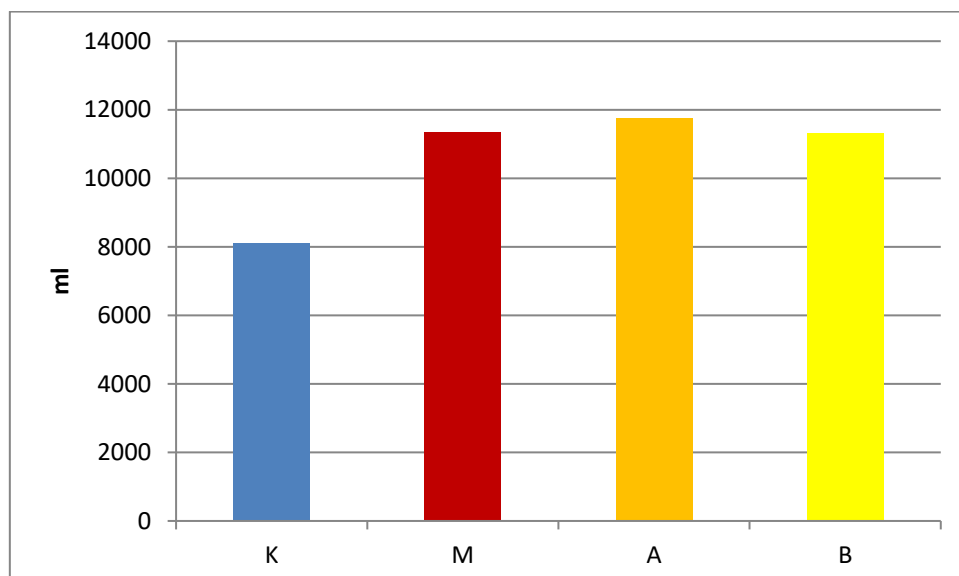
znači da se pH vrijednost povećala za 20,03%. U uzorku s enzimom MethaPlus (B) nakon fermentacije pH vrijednost je iznosila 7,99, što je povećanje od 19,43%. Kod uzorka s miskantusa bez enzima (M) pH vrijednost poslije fermentacije je bila 7,99, što je povećanje od 19,43% isto kao i kod uzorka sa enzimom MethaPlus.



Grafikon 9. Komparacije prosječnih pH vrijednosti prije i nakon procesa fermentacije između kontrolne grupe (K) i eksperimentalne (A,B i M)

#### 5.4. Količina proizvedenog bioplina

Količina plina koja je proizvedena iz supstrata od 500 ml u ispitivanom razdoblju od 35 dana prikazana je grafom 10. U eksperimentalnim je dodavano 25 grama Miskantusa u 475 grama gnojovke te su još dodavani enzimi Axiase (60 mg) i MethaPlus (120 mg).

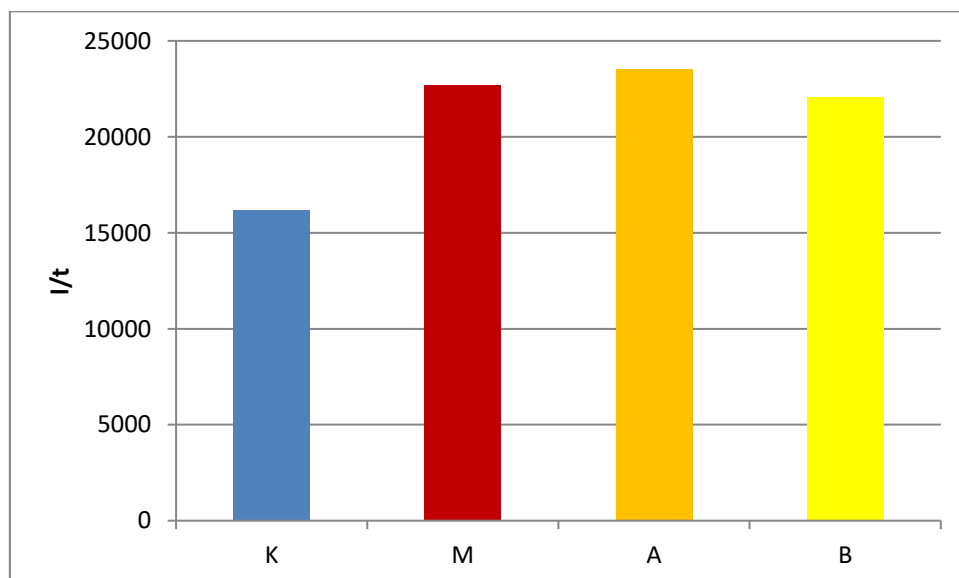


Grafikon 10. Ukupna količina proizvedenog bioplina

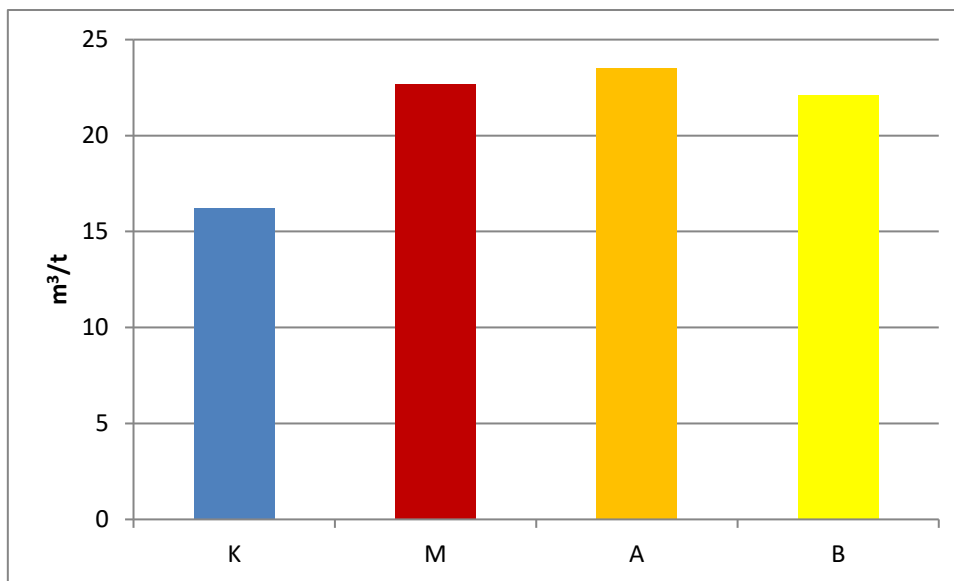
U kontrolnoj grupi (K1,K2,K3) prosječna vrijednost proizvedenog plina iznosila je 8088,33 ml/500 ml. U eksperimentalnoj grupi proizvodnja plina sa enzimom Axiase (A1,A2,A3) iznosi 11750 ml/500 ml, a sa enzimom MethaPlus (B1,B2,B3) proizvodnja plina je iznosila 11036,67 ml/500 ml. Dok s miskantusom bez enzima (M1,M2,M3) proizvodnja plina je iznosila 11335 ml/500 ml.

Uzmemo li u obzir vrijednosti proizvedenog plina jasno je vidljivo da je u eksperimentalnoj grupi došlo do veće proizvodnje plina nego u kontrolnoj grupi. Najveću proizvodnju plina u eksperimentalnoj grupi ima je uzorak sa enzimom Axiase (A) sa proizvodnjom od 11750 ml/500 ml, te tako nadmašujući kontrolnu grupu sa proizvodnjom za 45% više proizvedenog plina. Drugu najbolju proizvodnju plina imao je miskantus bez enzima (M) sa proizvodnjom od 11335 ml/500 ml, a najlošiju je imao uzorak s enzimom MethaPlus (B) i iznosila je 11036,67 ml/500 ml.

Prikaz kolika je količina proizvedenog plina izraženom u litrama iz jedne tone ispitivanog supstrata. U kontrolnoj skupini (K) proizvodnja plina je 16176,66 l/t. U eksperimentalnoj skupini sa enzimom Axiase (A) količina proizvedenog plina je 23500 l/t, a sa enzimom MethaPlus proizvodnja plina iznosi 22073,34 l/t. Kao kod miskantusa bez enzima proizvodnja bi bila 22670 l/t.



Grafikon 11. Količina proizvedenog bioplina (l/t)

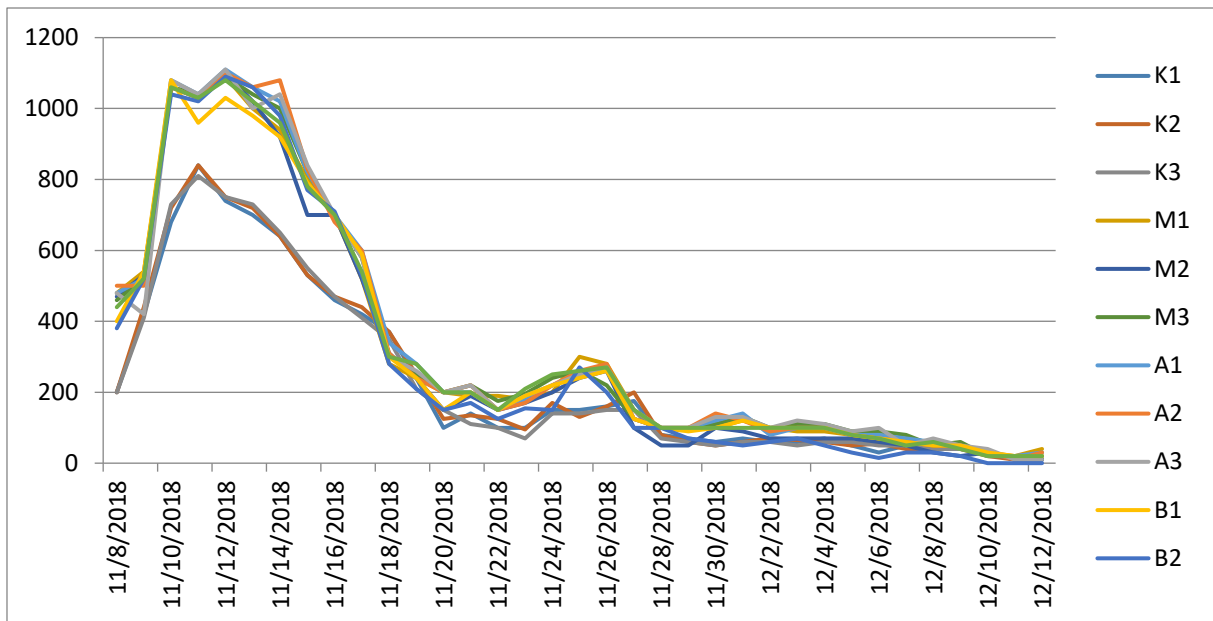


Grafikon 12. Količina proizvedenog bioplina (m<sup>3</sup>/t)

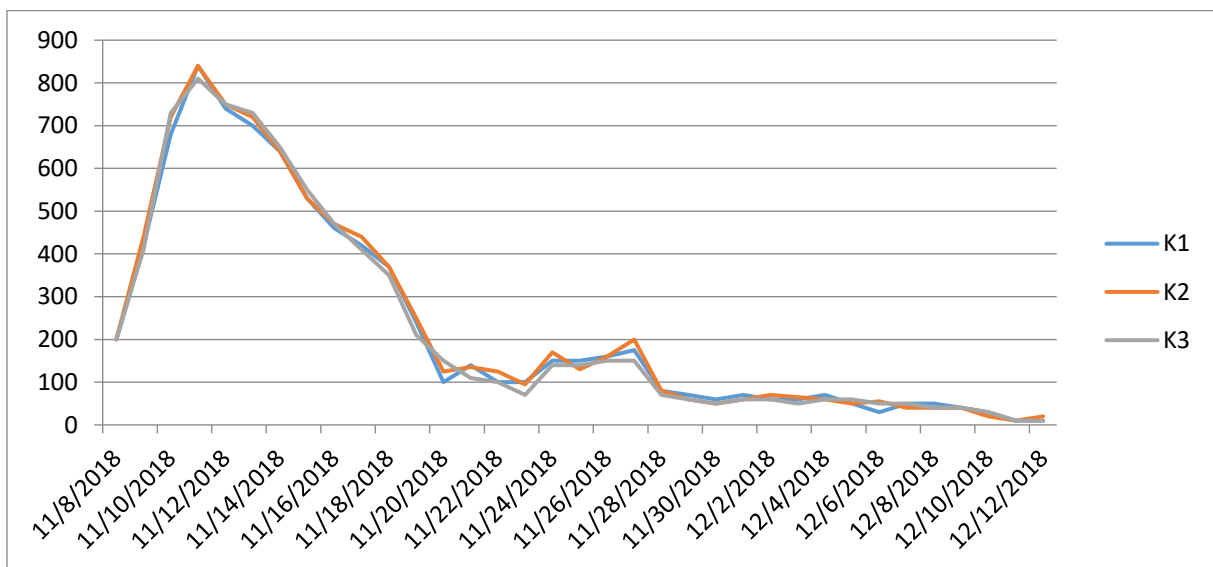
### 5.5. Dinamika proizvodnje bioplina

Intenzitet stvaranja plina je dosta neujednačen kao što možemo vidjeti u grafikonu 11. Nakon drugoga dana uglavnom u svim grupama (kontrolnoj i eksperimentalnoj) počinje s većom proizvodnjom plina po danu.

Eksperimentalne grupe sa enzimom Axiase i miskantusom bez enzima su imali najujednačeniju proizvodnju plina po dana. Najveća proizvodnja je zabilježena kod uzorka s enzimom Axiase koja iznosi 1100 ml bioplina po danu. Kod eksperimentalnog uzorka sa enzimom MethaPlus proizvodnja plina je bila dosta neujednačena po danima i brzo je počelo s opadanjem proizvedene količine plina po danu. Kod svih uzoraka intenzivna proizvodnja plina krenula je već od trećeg dana, a intenzitet proizvodnje opada nakon sedmoga odana, a kod nekih uzoraka osmoga dana.

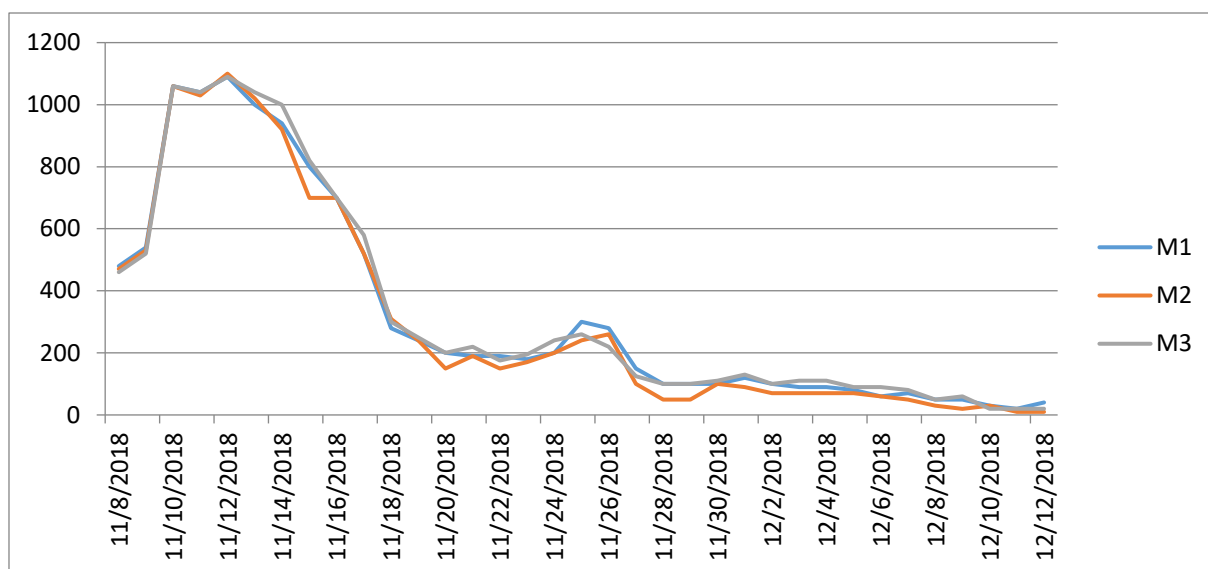


Grafikon 13. Dinamika proizvodnje plina



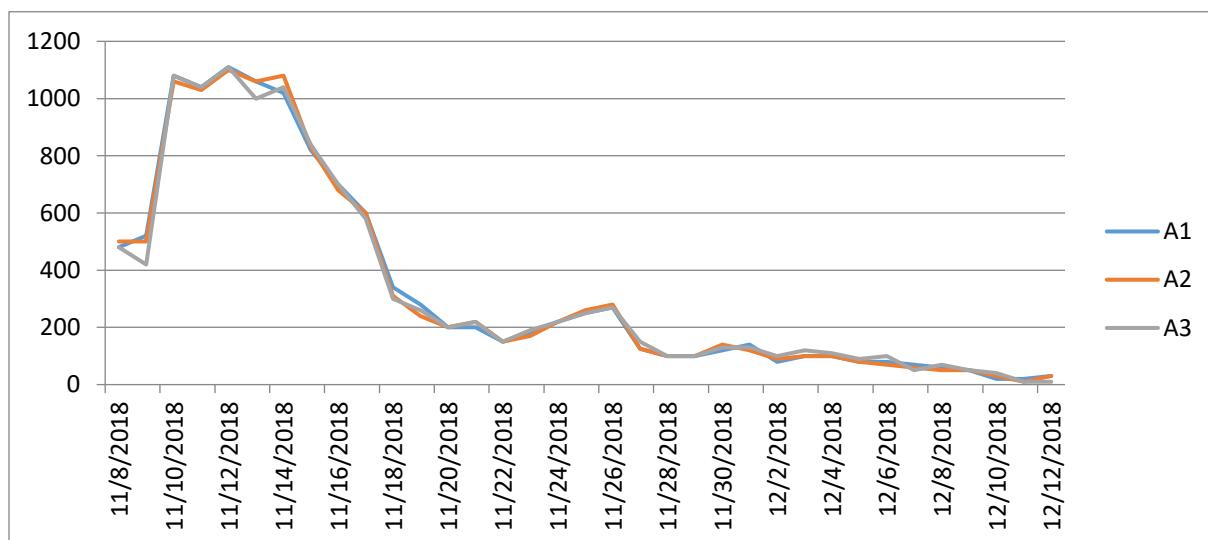
Grafikon 14. Dinamika proizvodnje bioplina u kontrolnoj grupi

U kontrolnoj grupi najintenzivnija dinamika stvaranja plina je bila u prva četiri dana, nakon četvrtog dana proizvodnja plina opada. Sva tri kontrolna uzorka imali su uglavnom sličnu dinamiku i proizvodnju plina. Nije bilo većih odstupanja unutar kontrolne grupe. Jedino je uzorak K2 imao veću proizvodnju u četvrtom dana kada je proizvodnja plina bila najintenzivnija.



Grafikon 15. Dinamika proizvodnje bioplina u eksperimentalnoj grupi miskantusa bez enzima

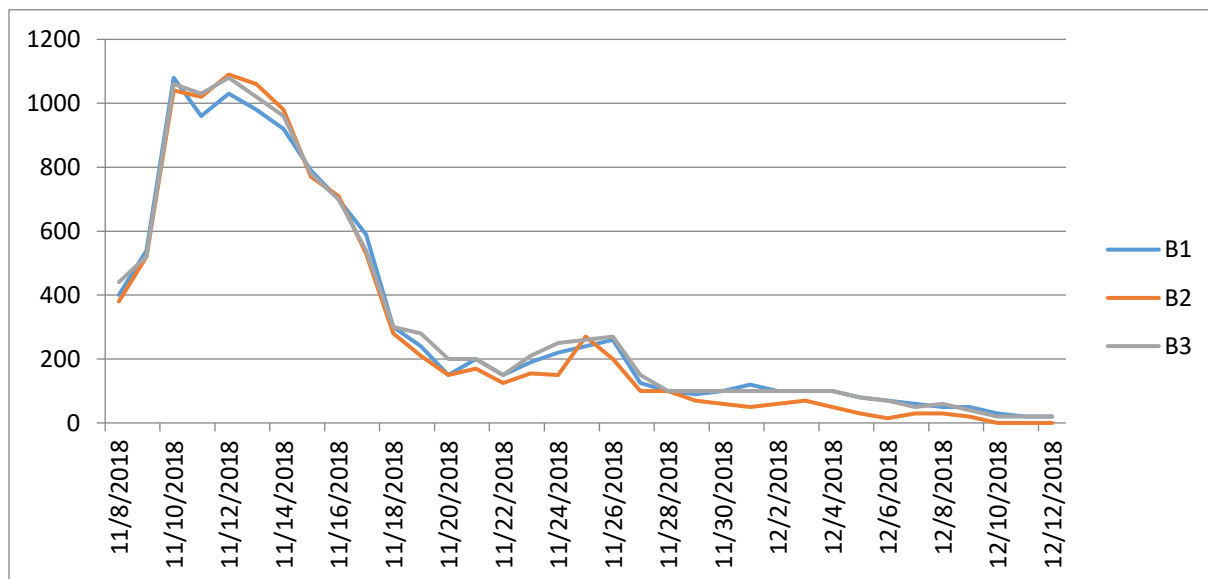
Dodavanjem miskantusa kontrolnoj skupini dolazi do vidljivih promjena po pitanju dinamike i proizvodnje plina. Najintenzivnija proizvodnja je bila u prvih šest dana, nakon sedmog dana postepeno se smanjuje proizvodnja plina. Sva tri uzorka su imala ujednačenu dinamiku proizvodnje plina.



Grafikon 16. Dinamika proizvodnje bioplina u eksperimentalnoj grupi sa enzimom Axiaze

Nakon dodavanja miskantusa u kontrolnu grupu dodali smo još i enzim Axiaze. Te je iz grafikona vidljiva bolja proizvodnja plina naspram kontrolne grupe i uzorka samo sa miskantusom. Prvih sedam dana je najintenzivnija proizvodnja nakon toga dolazi do postepenog smanjivanja proizvedenog plina po danu. Što znači da je u usporedbi sa uzorkom

gdje je samo bio miskantus intenzivna proizvodnja trajala dan duže. Što je na kraju i rezultiralo većom količinom proizvedenog plina.



Grafikon 17. Dinamika proizvodnje bioplina u eksperimentalnoj grupi sa enzimom MethaPlus

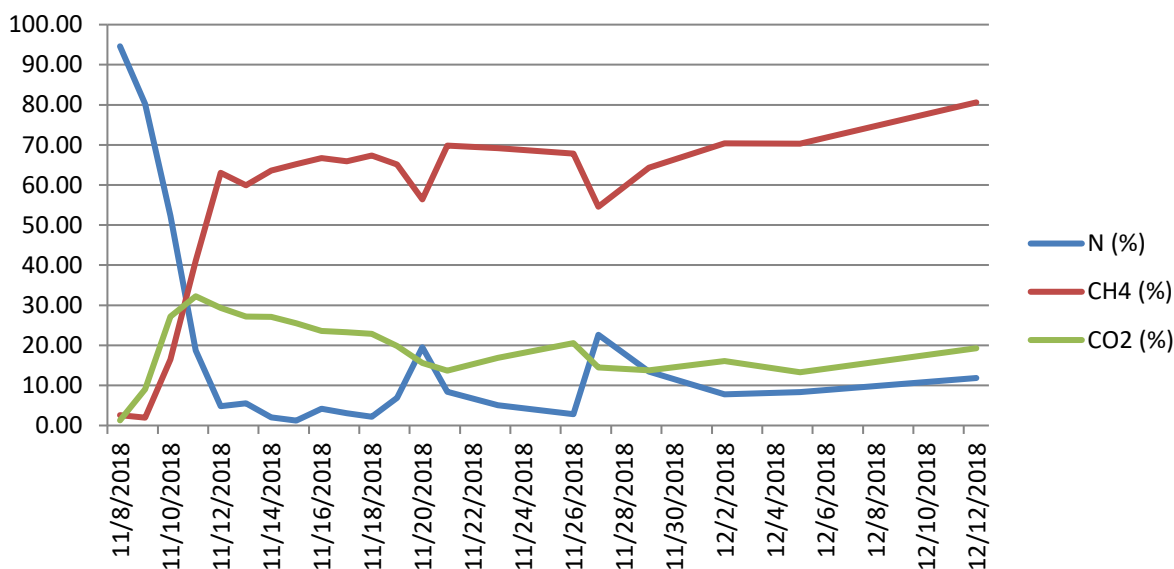
Dodavanjem enzima MethaPlus nismo dobili toliko dobre rezultate kao sa enzimom Axiase. Te je vidljivo iz grafikona da je i uzorak sa samim miskantusom imao bolju proizvodnju po danu nego uzorak s enzimom MethaPlus. Te je još vidljivo iz grafikona da početna proizvodnja kada je najveći intenzitet proizvodnje nije bila ujednačena, nego je imala smanjenu proizvodnju te bi onda opet narasla proizvodnja. Te je to jedan od razloga zašto je došlo do manje ukupne proizvodnje u cijelom procesu nego do eksperimentalnih grupa sa enzimom Axiase i samim Miskantusom.

## 5.6. Sastav bioplina

U kontrolnoj grupi (K) na početku procesa koncentracije dušika iznosi 94,59 % te nakon četvrtog dana dolazi do naglog pada koncentracije ispod 10 %. I ostaje ispod 10 % sve do 13. dana kada koncentracija dušika doseže 19,48 %, te opet pada na koncentraciju ispod 10%. I još 22. i 24. dana je zabilježena koncentracija iznad 10 %. Na kraju retenciskog razdoblja koncentracija je 11,88 %.

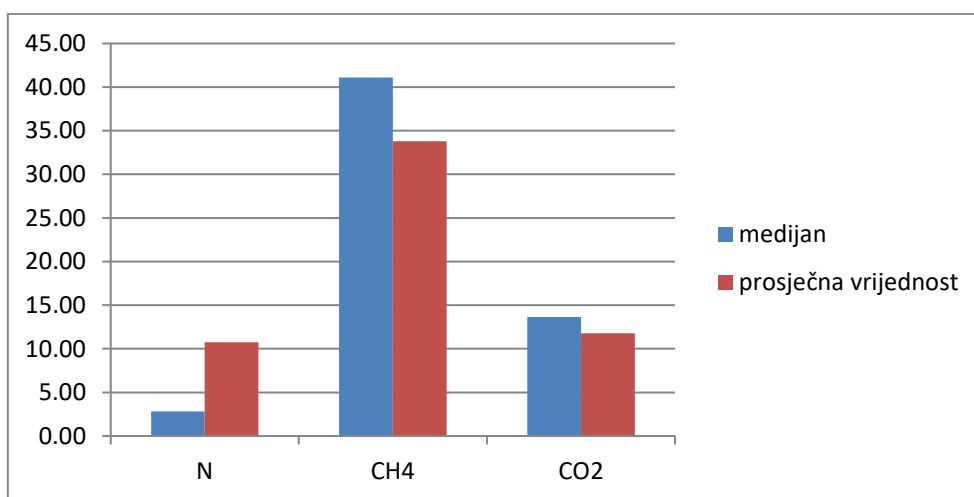
Proizvodnja metana ima intenzivan porast u prvih pet dana te tada doseže koncentraciju od 63,04 %. I nakon petog dana nastavlja se s intenzivnom proizvodnjom dušika sve do 14. dana kada je zabilježena proizvodnja 69,84% metana. Nakon 14. dana proizvodnja metana je neujednačena. Najveća proizvodnja metana zabilježena je 25. dana i iznosila je 70,38%.

Veće koncentracije ugljikovog dioksida zabilježene su trećeg dana i iznosila je 27,21%. Te se nastavila do 14. dana kada je zabilježena koncentracija dušika od 13,65 %. Nakon toga koncentracija ugljičnog dioksida je dosta neujednačena do kraja retenciskog razdoblja.



Grafikon 18. Koncentracija metana, dušika i ugljičnog dioksida u kontrolnoj grupi(K)

Izračun vrijednosti medijana u kontrolnoj skupini (K) za koncentraciju metana iznosi 41,10%, koncentraciju ugljikovog dioksida 13,65 %, a dušika 2,81%. Prosječna vrijednost koncentracije metana iznosi 33,78 %, za ugljikov dioksid 11,77 % i za dušik 10.73 %.



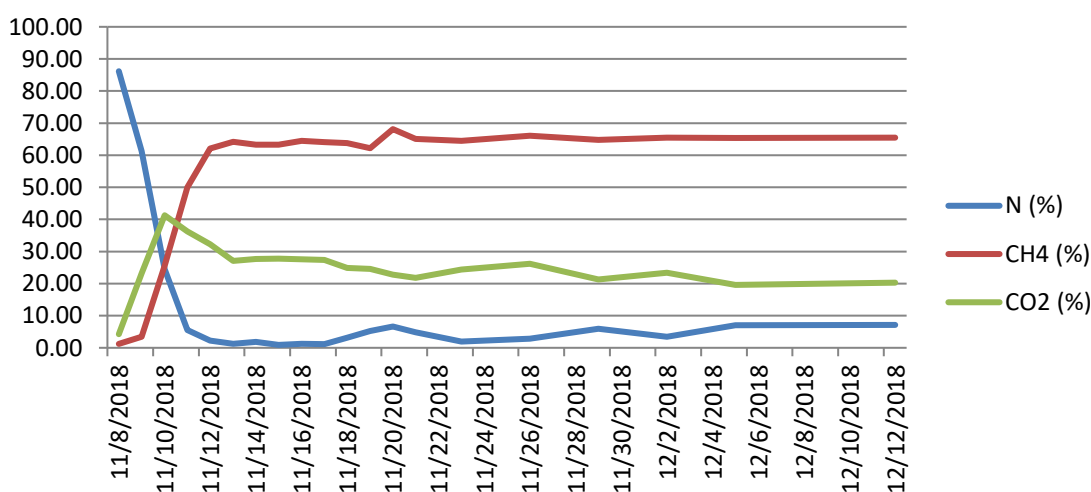
Grafikon 19. Vrijednost medijana i prosječna vrijednost dušika, metana i ugljičnog dioksida u kontrolnoj grupi (K)



U eksperimentalnoj grupi (A) sa uzorkom koji u sebi sadrži enzim Axiase na početku procesa koncentracija dušika iznosi 86,16 % te nakon četvrtog dana koncentracija pada ispod 10 % i ostaje tako do kraja retenciskog razdoblja.

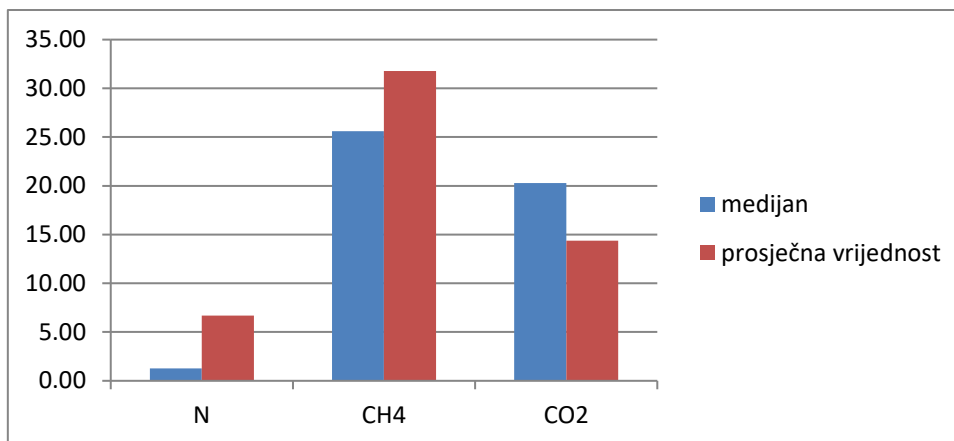
Proizvodnja metana započinje sa većom proizvodnjom nakon 3. dana kada je zabilježeno 50,03 % metana. Te se nastavlja sa konstantnom intenzivnom proizvodnjom do 14. dana kada proizvodnja više nije konstantan i dolazi do velikih oscilacija u proizvodnji plina. Najveća proizvodnja plina zabilježena je 13. dana i iznosila je 68,13 %.

Veće koncentracije ugljikovog dioksida zabilježene su drugoga dana od 23,14 % te se nastavlja istim intenzitetom sve do 14. dana kada opada koncentracija ugljikovog dioksida. Najveća zabilježena koncentracija je trećeg dana i iznosila je 41,29 %.



Grafikon 20. Koncentracija metana, dušika i ugljičnog dioksida u eksperimentalnoj grupi (A) sa enzimom Axiase

Izračun vrijednosti medijana u eksperimentalnoj grupi (A) sa enzimom Axiase koncentracija metana iznosi 25,60%, koncentraciju ugljikovog dioksida 20,27%, a dušika 1,28%. Prosječna vrijednost koncentracije metana iznosi 31,78%, za ugljikov dioksid 14,39% i za dušik 6,7%.

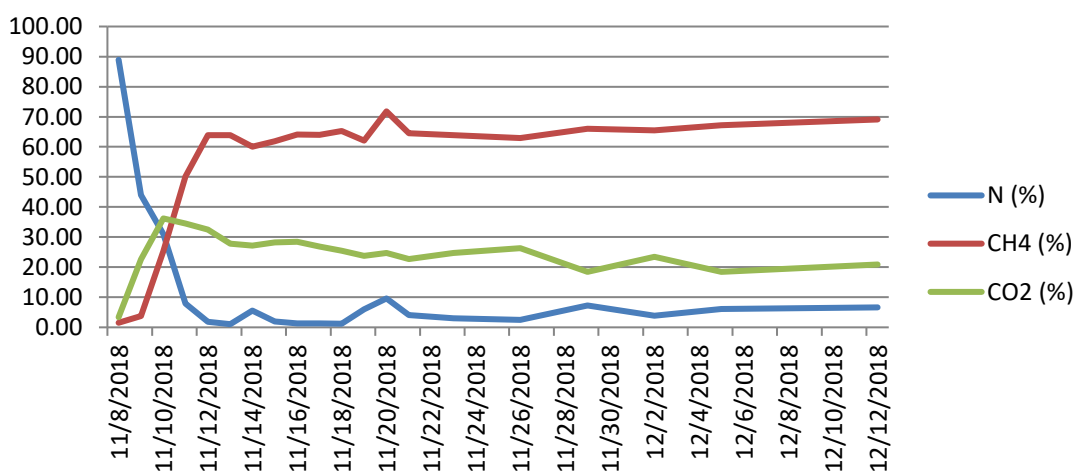


Grafikon 21. Vrijednost medijana i prosječna vrijednost dušika, metana i ugljičnog dioksida u eksperimentalnoj grupi (A) sa enzimom Axiase

U eksperimentalnoj grupi (M) sa miskantusom bez enzima na početku procesa koncentracija dušika je bila 88, 93%, te se intenzivna proizvodnja nastavila do trećeg dana. Nakon trećeg dana proizvodnja pada 10% i ostaje ispod do kraja retenciskog razdoblja.

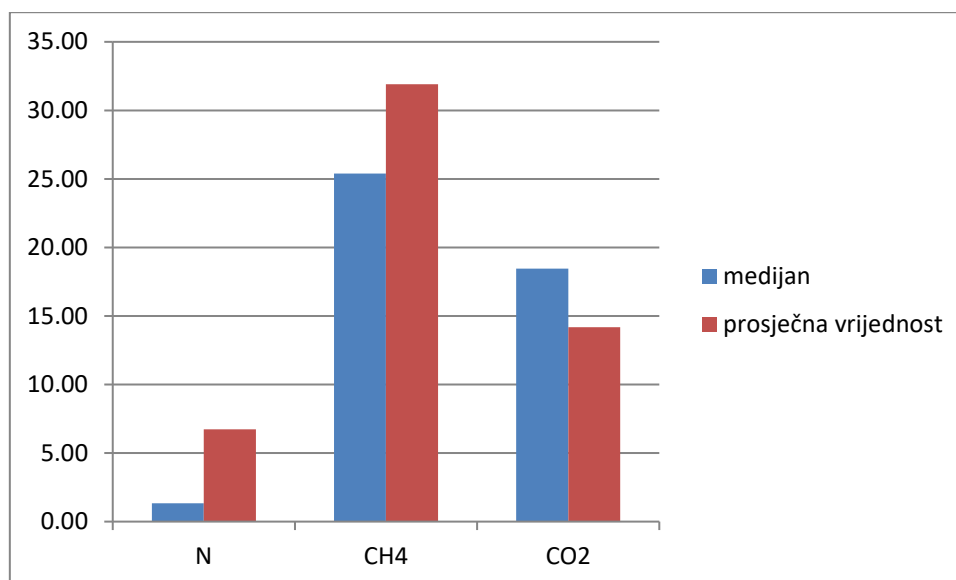
Proizvodnja metana ima intenzivan porast u prva tri dana te četvrti dan doseže koncentraciju od 50,16% . Nakon četvrtog dana intenzitet proizvodnje raste postepeno i održava se tako sve do 14. dana kada proizvodnja opada i prestaje biti ujednačena. Najveća zabilježena koncentracija je bila 13. dana kada je zabilježeno 71,79% metana.

Veće koncentracije ugljikovog dioksida zabilježene su trećeg dana od 36,21% te se tako nastavlja do 14. dana kada koncentracija ugljikovog dioksida opada i ostaje tako do kraja retenciskog razdoblja.



Grafikon 22. Koncentracija metana, dušika i ugljičnog dioksida u eksperimentalnoj grupi (M) sa miskantusom bez enzima

Izračun vrijednosti medijana u eksperimentalnoj grupi (M) sa miskantusom bez enzima koncentracija metana iznosi 25,40 %, koncentraciju ugljikovog dioksida 18,45 %, a dušika 1,33%. Prosječna vrijednost koncentracije metana iznosi 31,91 %, za ugljikov dioksid 14,19% i za dušik 6,72 %.

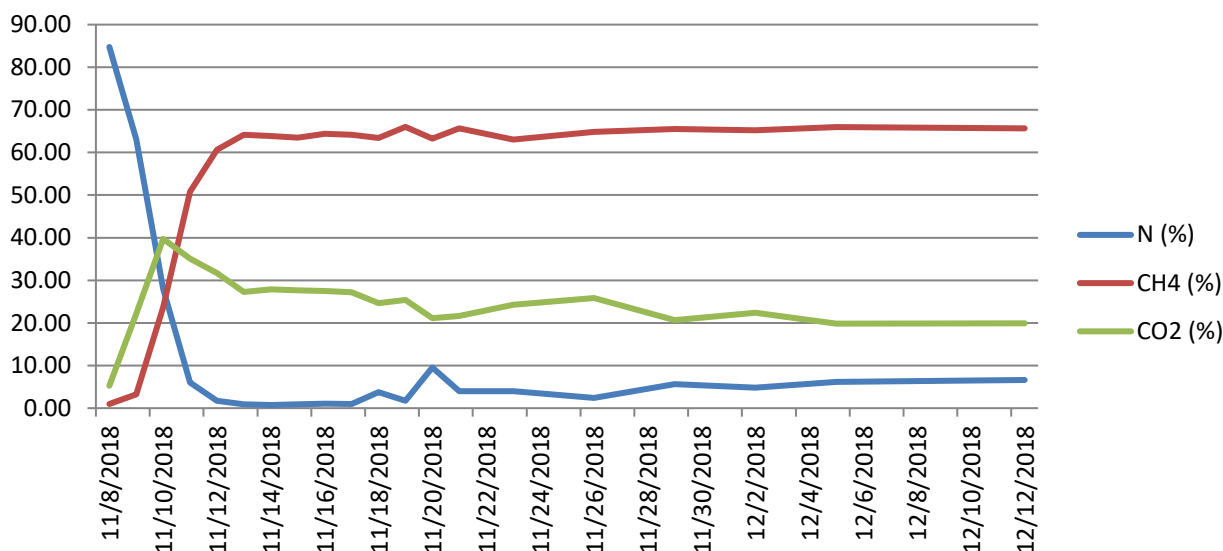


Grafikon 23. Vrijednost medijana i prosječna vrijednost dušika, metana i ugljičnog dioksida u eksperimentalnoj grupi (M) sa miskantusom bez enzima.

U eksperimentalnoj grupi (B) sa enzimom MethaPlus na početku procesa koncentracija dušika je bila 84,75 % te sa intenzivnom proizvodnjom nastavila do četvrtog dana. Nakon četvrtog dana proizvodnja pada ispod 10 % i ostaje tako sve do završetka recenciskog razdoblja.

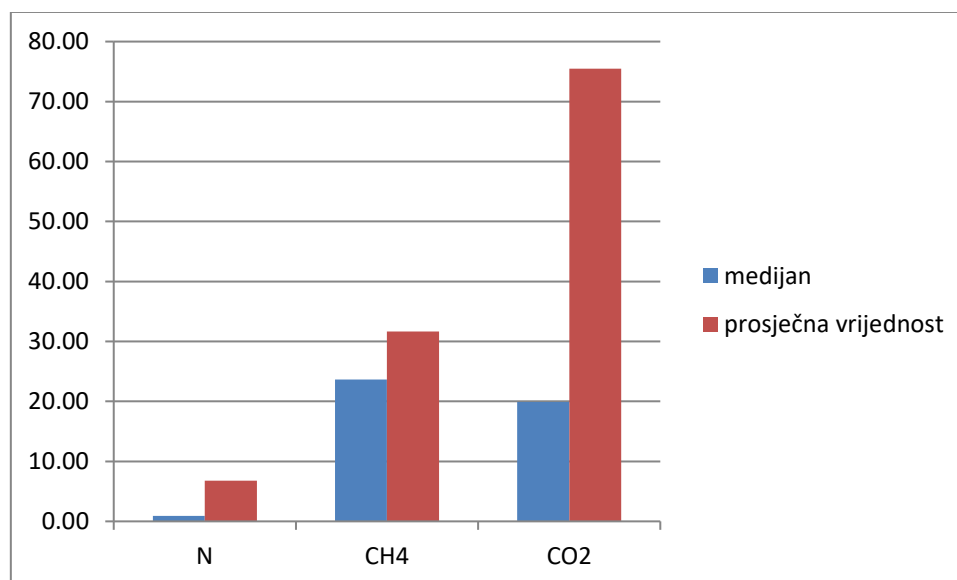
Proizvodnja metana ima intenzivan porast u prva četiri dana. Četvrtog dana zabilježena je koncentracija metana od 50,75 %. Te se intenzivna proizvodnja nastavlja sve do 14. dana kada se smanjuje koncentracija metana i intezitet proizvodnje nije konstantan.

Veće koncentracije ugljikovog dioksida zabilježene su drugog dana od 22,18 %, te se tako nastavlja do 14. dana kada koncentracija opada. Najveća zabilježena koncentracija ugljikovog dioksida bila je trećeg dana i iznosila je 39,73 %.



Grafikon 24. Koncentracija metana, dušika i ugljičnog dioksida u eksperimentalnoj grupi (B) sa enzimom MethaPlus.

Izračun vrijednosti medijana u eksperimentalnoj grupi (B) sa enzimom MethaPlus koncentracija metana iznosi 23,67 %, koncentraciju ugljikovog dioksida 19,93 %, a dušika 0,92%. Prosječna vrijednost koncentracije metana iznosi 31,65 %, za ugljikov dioksid 75,50% i za dušik 6,77 %.



Grafikon 25. Vrijednost medijana i prosječna vrijednost dušika, metana i ugljičnog dioksida u eksperimentalnoj grupi (B) sa enzimom MethaPlus.

## 6. RASPRAVA

U ovom smo istraživanju koristili miskantus kao sirovinu za proizvodnju bioplina. Te smo još uz miskantus dodali u jedan uzorak enzima Axiaze (60 mg) i enzima MethaPlus (120 mg). Kada sagledamo dobivene rezultate možemo reći da miskantus i enzim Axiaze imaju dobar potencijal za proizvodnju bioplina. Energetsko iskorištavanje kulture *Miscanthus x giganteus* omogućuje značajno očuvanje fosilnih izvora energije, primjerice 20 t biomase *Miscanthus x giganteus* predstavlja ekvivalent 12 t kamenog ugljena (Lewandowski et al. 1995.) dok je 30 t navedene biomase ekvivalentno 12 000 litara loživog ulja (El-bassa, et al. 1996). Slijedom svega navedenog, može se sa sigurnošću reći da proizvodnja „zelene“ energije i potencijal pozitivnog doprinosa pitanjima vezanim uz zaštitu okoliša kako iz poljoprivrednog sektora tako i na globalnoj razini (Krička et al. 2007.). Pogodan je za održavanje ekološke stabilnosti i može se uzgajati na tlima lošije kvalitete ili na zaraslim površinama. Pogodan je još iz razloga što poboljšava pedološki sustav tla te povećava asimilaciju raznih elemenata u tlu. Nema velike zahtjeve prilikom uzgoja i njege uspijeva te nisu velike potrebe za vodom što znači da bi ga mogli uzgajati na različitim tipovima tla. Miskantus premješta većinu dušika, fosfora i kalija i drugih minerala u rizome i korijenje od kasne jeseni (Heaton i sur., 2009; Beale i Long, 1997), a kretanje dušika ispod tla nastavlja se i nakon smrzavanja (Lewandowski i Heinz 2003; Long i Beale, 2001). Iako se značajne količine biomase uklanjaju svake godine za vrijeme žetve, hraniva u rizomima i korijenu omogućavaju održivi rast iz godine u godinu s malom potrebom dodavanja gnojiva (Beale i Long, 1997; Beale i sur. 1999). Istraživanja biomase vrste *Miscanthus x giganteus* u SAD-u su započeta 2002. godine u Illinoisu (Heaton i sur., 2008). Do sada najstariji nasad vrste *Miscanthus x giganteus* u Europi je 25 godina (Lewandowski i sur., 2003). Životni vijek miskantusa se procjenjuje se na minimalno 15 do 20 godina (Heaton i sur., 2011). Dugovječnost vrste *Miscanthus x giganteus* nije potpuno poznata (Williams i sur., 2011). Miskantus ima niske zahtjeve unosa herbicida nakon prve 3 godine uzgoja. Miskantus može pružiti stanište koje potiče veću raznolikost vrsta od primjerice žitarica. Također pruža prednost u otvorenom području za divljač. Naime kod uspostave nasada pruža mogućnost ostavljanja 10 % terena koji se može koristiti u svrhu upravljanja i zaštite okoliša. Odgođena žetva pruža mogućnost skloništa za divlje životinje (Caslin i sur., 2010). Viši prinosi vrste *Miscanthus x giganteus* mogu se postići u južnoj Europi na površinama sa navodnjavanjem od sjeverne Europe zbog veće prosječne temperature i obilnog globalnog sunčevog zračenja (Brosse i sur., 2012). Kod prinosa u prvoj sezoni rasta na nekih 0,5 t/ha ne vrijedi obavljati žetvu, stabljike se ne režu, nego se ostavljaju

na polju do sljedeće sezone. Od druge godine pa nadalje žetva se obavlja svake godine. U drugoj godini prinosi mogu biti od 4 do 10 t/ha, a u trećoj između 10 i 13 t/ha (Caslin i sur., 2010).

Uz miskantus koristili smo još enzime MethaPlus i Axiase. Enzim Axiase sadrži enzime koji razgrađuju pektine, beta-glukane, pentozane, hemicelulozu i celuloza. MethaPlus je složena enzimski smjesa dobivena fermentacijom određenih vrsta *Trichoderma reesei*. Glavne enzimski aktivnosti MethaPlus su celuloza, ksilanaza i beta-glukanaza.

U procesima fermentacije bioplina MethaPlus povećava brzinu hidrolize vlakana (i s tim ubrzava proizvodnju plina).

Enzimi su dodavani u eksperimentalne uzorke kako bi se ubrzala razgradnja organske tvari i tako povećala proizvodnja bioplina. Te tako možemo vidjeti iz dobivenih podataka da je u kontrolnoj grupi (K1,K2,K3) prosječna vrijednost proizvedenog plina iznosila 8088,33 ml/500 ml. Dok u eksperimentalnoj grupi sa enzimima Axiase (A1,A2,A3) iznosi 11750 ml/500 ml, a sa enzimom MethaPlus (B1,B2,B3) proizvodnja plina je iznosila 11036,67 ml/500 ml. U eksperimentalnoj grupi sa enzimima je došlo do veće proizvodnje plina u odnosu na kontrolnu grupu i to 36% veća proizvodnja plina nego u kontrolnoj. Dok je u grupi sa uzorkom miskantus bez enzima (M1,M2,M3) proizvodnja plina bila 11335 ml/500 ml. Eksperimentalna grupa sa dodatkom enzima MethaPlus slabija je u donosu na eksperimentalnu grupu bez enzima za 2,63%. Najveću proizvodnju bioplina ostvario je eksperimentalni uzorak sa enzimom Axiase, a pomoću njega došlo je do bolje razgradnje organske i suhe tvari unutar supstrata što je rezultiralo većom količinom proizvedenog bioplina. Na osnovu dobivenih rezultata utvrđeno je da je iz jedne tone miskantusa uz dodatak enzimima Axiase moguće proizvesti 146,47 m<sup>3</sup> bioplina, što predstavlja 11,33 % više u odnosu na miskantus bez dodatka enzima, a za čak 19,48 % više u odnosu na eksperimentalnu grupu uz dodatak enzima MethaPlus.

Tablica 1. Najčešće sirovine za proizvodnju bioplina ([www.Ifl.bayern.de](http://www.Ifl.bayern.de))

Sirovina	Suha tvar (%) ST	Organska suha tvar (%) OT	Proizvodnja bioplina m <sup>3</sup> /t ST	Metan (%) CH <sub>4</sub>
Goveđa gnojovka	10	85	34	55
Svinjska gnojovka	6	85	20	60
Goveđi gnoj	25	80	90	55
Svinjski gnoj	23	83	74	60
Gnoj peradi	15	75	56	65
Sirak	21	92	107	52
Silaža sudanske trave	22	90	98	53
Silaža raži	25	88	130	54
Kukuruzna silaža	33	96	185	52
Sjenaža trave	40	89	200	55

Uspoređujemo li dobivene podatke sa tablicom možemo vidjeti da kukuruzna silaža koja se najčešće koristi kao sirovina za proizvodnju bioplina ima veću proizvodnju plina od miskantusa, te isto tako ima i veću proizvodnju od uzoraka u koje smo stavljali enzime. Kukuruz ima veću energetska vrijednost, ali ima i puno više zahtjeva kod uzgoja i prerade. Dok miskantus ima male zahtjeve prilikom sadnje. I u usporedbi s kukuruzom punom manje zahtjeve prama kvaliteti tla i ovisnosti o mineralnim gnojivima. Miskantus nakon sadnje može uz pravilnu njegu i podržavanje biti produktivan oko 15-20 godina. Velika prednost je što se može saditi na tla lošije kvalitete. Te bi tako kao jedna od mogućnosti za povećanje proizvodnje obnovljivih izvora energije mogao biti miskantus. Razlog tome je što bi se mogao uzgajati na površinama koje se ne obrađuju zbog lošeg poljoprivrednog potencijala te bi tako smanjili upotrebu sirovina i površina koje se koriste za ljudsku i životinjsku ishranu. Tako bih se s vremenom mogla popraviti struktura i tekstura ne obrađivanih polja jer miskantus ne djeluje degradirajuće na tlo, već nakon njega tlo ostaje bogato humusom i mineralnima. Samo prve dvije do tri godine može doći do pojave korova. Uz pravilnu njegu korovi se više ne pojavljuju nakon treće godine što dodatno pojeftinjuje samu proizvodnju miskantusa kao proizvoda za proizvodnju bioplina.

## 7. ZAKLJUČAK

Dobiveni rezultati ovog istraživanja pokazali su kako su miskantus i enzimi Axiase i MethaPlusa pogodni za proizvodnju bioplina. Količina i sastav bioplina ovisni su o izvoru sirovina, te je ovo istraživanje pokazalo da je kombinacija enzima Axiase i miskantusa bolja u odnosu na sami miskantus. U odnosu na razne biosirovine iz poljoprivredne proizvodnje, upotreba miskantusa i enzima može imati višestruke prednosti. Zbog svojih niskih troškova proizvodnje te zbog relativno visoke proizvodnje metana (bioplina). Prema dobivenim podacima nakon provedenog istraživanja najveću proizvodnju bioplina ostvario je eksperimentalni uzorak sa enzimom Axiase, a pomoću njega došlo je do bolje razgradnje organske i suhe tvari unutar supstrata što je rezultiralo većom količinom proizvedenog bioplina. Na osnovu dobivenih rezultata utvrđeno je da iz jedne tone miskantusa uz dodatak enzimima Axiase moguće proizvesti 146,47 m<sup>3</sup> bioplina, što predstavlja 11,33 % više u odnosu na miskantus bez dodatka enzima a za čak 19,48 % više u odnosu na eksperimentalnu grupu uz dodatak enzima MethaPlus. Razlog tome je što enzim Axiase sadrži enzime koji razgrađuju pektine, beta-glukane, pentozane, hemicelulozu i celuloza. Te tako ubrzava proces razgradnje organske tvari što rezultira većom proizvodnjom metana (bioplina). Usporedimo li količinu koja je proizvedena korištenjem miskantusa kao supstrata za proizvodnju bioplina, sa kukuruznom silažom vidljivo je da je veća proizvodnja pri korištenju kukuruzne silaže kao supstrata za proizvodnju metana (bioplina). Kukuruzna silaža ima veću energetska vrijednost od miskantusa, ali ima i veće zahtjeve prilikom uzgoja i njege samog usjeva. Dok miskantus ima puno manje zahtjeva prilikom sjetve i njege usjeva, te se može uzgajati na tlima lošije kvalitete. Također ima puno manju ovisnost o mineralnim gnojivima nego kukuruz. Uz pravilnu njegu usjeva miskantus može produktivan oko 15 do 20 godina. Primjena herbicida je minimalna, do treće godine usjeva se može koristiti prilikom korekcije korova. Nakon treće godine herbicidi nisu upotrebnici što dodatno pojeftinjuje samu proizvodnju miskantusa. Jedan od glavnih razloga zašto bi se trebalo povećavati površine pod miskantusom su te što se može uzgajati na tlima loše kvalitete. Tako bi smanjili upotrebu površina koje se koriste za ljudsku ishranu. Sa više zasijanih površina miskantusa na poljima koja se nisu koristila zbog lošije kvalitete mogli bi smo povećati i količine proizvedenog metana (bioplina) te bi tako mogli smanjiti ovisnost o fosilnim gorivima. I još prilikom korištenja enzima Axiase znatno možemo povećati proizvodnju bioplina.



## 8. POPIS LITERATURE

1. Al Seadi, Teodorita, Finsterwalder, T., Janssen, R., Köttner, M., Prassl,
2. Beale C. V., i Long S. P. (1997). Seasonal dynamics of nutrient accumulation and partitioning in the perennial C4 grasses *miscanthus x giganteus* and *spartina cynosuroides*. In *Biomass Bioenergy*, 12: 419-428.
3. Beale C. V., Morrison J. I. L. i Long S.P. (1999). Water use efficiency of C4 perennial grasses in temperate climates. In *Agric. Forest Meteorol.* 96: 103-115.
4. Brosse N., Dufour A., Xianzhi M., Sun Q. i Ragauskas A. (2012) *Miscanthus: a fast-growing crop for biofuels and chemicals production*
5. Caslin B., Finnan J. i McCracken A. (2010). *Miscanthus best practice guidelines*. Teagasc-The Irish Agric. Food Dev. Authority
6. Caslin B., Finnan J., Easson L. (2010) *Miscanthus Best Practice Guidelines*, 1. Teagasc, Crops Research Centre, Oak Park, Carlow, 2. AFBI, Agri-Food and Bioscience Institute, Hillsborough, Northern Ireland,
7. Chartier, P., Ferrero, G.L., Henius, U.M., Hultberg, S., Sachau, J. And Wiinblad, M. (eds), *Biomass for Energy and the Environment (1996)*: El-Bassam, Performance of C4 plant species as energy sources and their possible impact on environment and climate.
8. H., Rutz, D., Volk, S. (2008.): *Priručnik za bioplin*, Zagreb, 2008.
9. Heaton E. A., Boersma N., Caveny J. D., Voigt T. B. i Dohleman F. G. (2011). *Miscanthus for biofuel production*. Univ. Georgia Cooperative Extension
10. Heaton E. A., Dohleman F. G. i Long S. P. (2009). Seasonal nitrogen dynamics of *miscanthus x giganteus* and *panicum virgatum*. In *Global Change Biology Bioenergy* 1: 297-307
11. Heaton E. A., Dohleman F. G., Long S. P. (2008). Meeting US biofuel goals with less land: the potential of *Miscanthus*. *Global Change Biology*, 14, 2000-2014
12. Ivana Majkovčan, (2012): *Proizvodnja energije anaerobnom fermentacijom različitih konzerviranih biomasa*, Osijek,
13. Kralik, D., Elter, A. M., Kukuć, S., Uranjek, N., Spajić, R., (2009) *Sudanska trava – energetska biljka za proizvodnju bioplina*. *Krmiva* 51: 171-178.S.
14. Krička T., Voća N., Tomić, F., Janušić V. (2007): *Experience in production and utilization of renewable energy sources in EU and Croatia*; *Zbornik radova*, The 5th International Conference integrated systems for agri-food production Sibiu, 203-210.

15. Lewandowski I., Clifton-Brown J. C., Andersson B., Basch G., Christian D. G., Jorgensen U., Jones M. B., Riche A. B., Schwarz K. U., Tayebi K., Texerija F. (2003). Environment and harvest time affect the combustion qualities of Miscanthus genotypes. *Agronomy Journal*, 95: 1274-1280.
16. Lewandowski I., i Heinz A. (2003). Delayed harvest of miscanthus-influences on biomass quantity and quality and environmental impact of energy production. In *Eur. J. Agron.* 19: 45-63
17. Lewandowski I., Kicherer A., Vonier P. (2007): CO<sub>2</sub>- balance for the cultivation and combustion of Miscanthus; *Biomass and Bioenergy* 8 (1995) 81-90.
18. Long S. P. i Beale C. V. (2001). Resource capture by miscanthus. *Miscanthus for energy and Fibre*, edited by M.B. Jones and M. Walsh, James and James, London, England. 10-20.
19. Nikolovski, Z. Stanić, D. Šljivac (2008.): Energetski potencijali i trenutne aktivnosti korištenja biomase i bioplina u Istočnoj Hrvatskoj, Hrvatski ogranak međunarodne elektrodistribucijske konferencije – HO CIRED, Šibenik
20. Williams M. J., Douglas J. (2011) *Planting Managing Giant Miscanthus as a Biomass Energy Crop*, United States Department of Agriculture Natural Resources Conservation Service Plant Materials Program

Web izvori:

Web 1. Fond za Zaštitu Okoliša i Energetsku Učinkovitost- FZOEU

[http://www.fzoeu.hr/hr/energetska\\_ucinkovitost/obnovljivi\\_izvori\\_energije/](http://www.fzoeu.hr/hr/energetska_ucinkovitost/obnovljivi_izvori_energije/) (5.6.2018.)

<[http://www.bioenergycenter.org/besc/publications/brosse\\_miscanthus\\_yr5.pdf](http://www.bioenergycenter.org/besc/publications/brosse_miscanthus_yr5.pdf)>.

Web 2.

[http://www.seai.ie/Renewables/Bioenergy/Miscanthus\\_Best\\_Practice\\_Guide\\_2010.pdf](http://www.seai.ie/Renewables/Bioenergy/Miscanthus_Best_Practice_Guide_2010.pdf).

(15.10.2018)

Web 3. (15.10.2018) [https://bib.irb.hr/datoteka/587858.Andrea\\_Hublin\\_disertacija.pdf](https://bib.irb.hr/datoteka/587858.Andrea_Hublin_disertacija.pdf)

Web 4. (20.10.2018) <https://zito.hr/hr/djelatnosti>

Web 5. [http://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE\\_DOCUMENTS/stelprdb1044768.pdf](http://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/stelprdb1044768.pdf).

## 8. SAŽETAK

U ovom radu prikazati ću koji su benefiti miskantusa i enzima Axiase, MethaPlus u proizvodnji bioplina. Enzim Axiase sadrži enzime koji razgrađuju pektine, beta-glukane, pentozane, hemicelulozu i celulozu. MethaPlus je složena enzimski smjesa dobivena fermentacijom određenih vrsta *Trichoderma reesei*. Glavne enzimski aktivnosti MethaPlus su celuloza, ksilanaza i beta-glukanaza. Te prednosti kod korištenja miskantusa kao supstrata umjesto kukuruzne silaže. I same prednosti miskantus kao supstrata za proizvodnju bioplina. Proces proizvodnje bioplina u stacionarnim digesterima koji su se koristili u ovom istraživanju trajao je 35 dana. Te nakon 35. dana prestaje s proizvodnjom bioplina. U kontrolnoj grupi korištena je samo goveđa gnojovka, dok je u eksperimentalnoj dodavan miskantus. Te još dva uzorka s enzimima, 60 mg enzim Axiase dodan je dodatno. I u drugi uzorak je dodavano 120 mg MethaPlusa. Te nakon proizvodnog procesa proizvedena su mjerenja količine organske tvari, suhe tvari i visina pH koji su isto izmjereni prije početka procesa. I još su provedena mjerenja kvantitete i kvalitete proizvedenog bioplina. Na osnovu dobivenih rezultata utvrđeno je da iz jedne tone miskantusa uz dodatak enzimima Axiase moguće proizvesti 146,47 m<sup>3</sup> bioplina, što predstavlja 11,33 % više u odnosu na miskantus bez dodataka enzima, a za čak 19,48 % više u odnosu na eksperimentalnu grupu uz dodatak enzima MethaPlus.

## 9. SUMMARY

In this paper I will show what are the benefits of miscanthus, Axiase and MethaPlus enzyme in biogas production. Axiase enzyme contains enzymes that break down pectins, beta-glucans, pentosans, hemicellulose and cellulose. MethaPlus is a complex enzyme mixture obtained by fermentation of certain *Trichoderma reesei* species. The main enzymatic activities of MethaPlus are cellulase, xylanase and beta-glucanase. These are the advantages of using miscanthus as a substitute for corn silage. The very benefits of miscanthus as a substrate for biogas production. The process of biogas production in the stationary digestories used in this research took 35 days. And after the 35th day it ceases to produce biogas. Only bovine slurry was used in the control group, whereas in the experimental group, miscanthus was added. To two more enzyme samples, 60 mg of Axiase enzyme was added. In another sample, 120 mg of MethaPlus was added. After the production process, measurements were made of the amount of organic matter, dry matter and pH, which were also measured before the start of the process. Quantity and quality measurements of biogas produced have been carried out. Based on the obtained results, it was determined that 146.47 m<sup>3</sup> of biogas can be produced from one tonne of miscanthus with the addition of Axiase enzymes, which is 11.33% more than miscanthus without enzyme supplement and as much as 19.48% more than experimental group with the addition of the MethaPlus enzyme.

## **10. PRILOZI**

### **Popis tablica**

Tablica 1. Najčešće sirovine za proizvodnju bioplina ([www.Ifl.bayern.de](http://www.Ifl.bayern.de))

### **Popis grafikona**

Grafikon 1. Udio suhe tvari u supstratima prije istraživanja

Grafikon 2. Udio suhe tvari nakon fermentacije

Grafikon 3. Usporedba postotka suhe tvari prije i nakon fermentacije

Grafikon 4. Postotak organske tvari u supstratu prije fermentacije

Grafikon 5. Postotak organske tvari u supstratu nakon fermentacije

Grafikon 6. Udio organske tvari u supstratu prije i poslije fermentacije

Grafikon 7. Visina koncentracije pH u uzorcima prije fermentacije.

Grafikon 8. Visina koncentracije pH u uzorcima nakon fermentacije

Grafikon 9 . Komparacije prosječnih pH vrijednosti prije i nakon procesa fermentacije između kontrolne grupe (K) i eksperimentalne (A,B i M)

Grafikon 10. Ukupna količina proizvedenog bioplina

Grafikon 11. Količina proizvedenog bioplina (l/t)

Grafikon 12. Količina proizvedenog bioplina (m<sup>3</sup>/t)

Grafikon 13. Dinamika proizvodnje plina

Grafikon 14. Dinamika proizvodnje bioplina u kontrolnoj grupi

Grafikon 15. Dinamika proizvodnje bioplina u eksperimentalnoj grupi miskantus bez enzima

Grafikon 16. Dinamika proizvodnje bioplina u eksperimentalnoj grupi sa enzimom Axiase

Grafikon 17. Dinamika proizvodnje bioplina u eksperimentalnoj grupi sa enzimom MethaPlus

Grafikon 18. Koncentracija metana, dušika i ugljičnog dioksida u kontrolnoj grupi(K)

Grafikon 19. Vrijednost medijana i prosječna vrijednost dušika, metana i ugljičnog dioksida u kontrolnoj grupi (K)

Grafikon 20. Koncentracija metana, dušika i ugljičnog dioksida u eksperimentalnoj grupi (A) sa enzimom Axiase

Grafikon 21. Vrijednost medijana i prosječna vrijednost dušika, metana i ugljičnog dioksida u eksperimentalnoj grupi (A) sa enzimom Axiase

Grafikon 22. Koncentracija metana, dušika i ugljičnog dioksida u eksperimentalnoj grupi (M) sa miskantusom bez enzima

Grafikon 23. Vrijednost medijana i prosječna vrijednost dušika, metana i ugljičnog dioksida u eksperimentalnoj grupi (M) sa miskantusom bez enzima.

Grafikon 24. Koncentracija metana, dušika i ugljičnog dioksida u eksperimentalnoj grupi (B) sa enzimom MethaPlus.

Grafikon 25. Vrijednost medijana i prosječna vrijednost dušika, metana i ugljičnog dioksida u eksperimentalnoj grupi (B) sa enzimom MethaPlus.

### **Popis slika**

Slika 1. Proces anaerobne digestije

Slika.2. Dijagram reakcijskog slijeda kompleksnih organskih molekula u anaerobnoj digestiji

Slika 3. Godišnji ciklus Miscanthusa

slika 4. Djelovanje MethaPlusa

slika 5. Djelovanje Axiase

Slika 6. Farma Orlovnjak

Slika 7. Shematski prikaz provedbe procesa anaerobne fermentacije

Slika 8. Provedba procesa anaerobne fermentacije

## **TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA**

**Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera  
Diplomski rad Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek  
Sveučilišni diplomski studij, smjer Biljna proizvodnja**

### **PROIZVODNJA BIOPLINA S MISKANTUSOM I ENZIMIMA AXIASE I METHAPLUS**

Oliver Kandrać

#### **Sažetak:**

U ovom radu prikazati će koji su benefiti miskantusa i enzima Axiase, MethaPlus u proizvodnji bioplina. Enzim Axiase sadrži enzime koji razgrađuju pektine, beta-glukane, pentozane, hemicelulozu i celulozu. MethaPlus je složena enzimska smjesa dobivena fermentacijom određenih vrsta *Trichoderma reesei*. Glavne enzimske aktivnosti MethaPlus su celuloza, ksilanaza i beta-glukanaza. Te prednosti kod korištenja miskantusa kao supstrata umjesto kukuruzne silaže. I same prednosti miskantus kao supstrata za proizvodnju bioplina. Proces proizvodnje bioplina u stacionarnim digestorima koji su se koristili u ovom istraživanju trajao je 35 dana. Te nakon 35. dana prestaje s proizvodnjom bioplina. U kontrolnoj grupi korištena je samo goveđa gnojovka, dok je u eksperimentalnoj dodavan miskantus. Te još dva uzorka s enzimima, 60 mg enzim Axiase dodan je dodatno. I u drugi uzorak je dodavano 120 mg MethaPlusa. Te nakon proizvodnog procesa proizvedena su mjerenja količine organske tvari, suhe tvari i visina pH koji su isto izmjereni prije početka procesa. I još su provedena mjerenja kvantitete i kvalitete proizvedenog bioplina. Na osnovu dobivenih rezultata utvrđeno je da iz jedne tone miskantusa uz dodatak enzimima Axiase moguće proizvesti 146,47 m<sup>3</sup> bioplina, što predstavlja 11,33 % više u odnosu na miskantus bez dodataka enzima, a za čak 19,48 % više u odnosu na eksperimentalnu grupu uz dodatak enzima MethaPlus.

**Rad je izrađen pri:** Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

**Mentor:** prof. dr. sc. Davor Kralik

Broj stranica: 47

Broj tablica: 1

Broj grafikona: 25

Broj literaturnih navoda: 20

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: bioplin, miskantus, metan, digestor, supstrat

**Dan obrane: 25.2.2020.**

#### **Stručno povjerenstvo za obranu:**

1. Prof.dr.sc. Bojan Stipešević, predsjednik
2. Prof.dr.sc. Davor Kralik, mentor
3. Prof.dr.sc. Ranko Gantner, član

**Rad je pohranjen u:** Knjižnica Fakulteta agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, Osijek

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek**  
**Graduate thesis Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek**  
**University Graduate Studies, Agroecconomics**

### **BIOECONOMICS OF ALTERNATIVE AGRICULTURAL PRODUCTION SYSTEMS**

Oliver Kandrać

#### **Summary:**

In this paper I will show what are the benefits of miscanthus, Axiase and MethaPlus enzyme in biogas production. Axiase enzyme contains enzymes that break down pectins, beta-glucans, pentosans, hemicellulose and cellulose. MethaPlus is a complex enzyme mixture obtained by fermentation of certain *Trichoderma reesei* species. The main enzymatic activities of MethaPlus are cellulase, xylanase and beta-glucanase. These are the advantages of using miscanthus as a substitute for corn silage. The very benefits of miscanthus as a substrate for biogas production. The process of biogas production in the stationary digestories used in this research took 35 days. And after the 35th day it ceases to produce biogas. Only bovine slurry was used in the control group, whereas in the experimental group, miscanthus was added. To two more enzyme samples, 60 mg of Axiase enzyme was added. In another sample, 120 mg of MethaPlus was added. After the production process, measurements were made of the amount of organic matter, dry matter and pH, which were also measured before the start of the process. Quantity and quality measurements of biogas produced have been carried out. Based on the obtained results, it was determined that 146.47 m<sup>3</sup> of biogas can be produced from one tonne of miscanthus with the addition of Axiase enzymes, which is 11.33% more than miscanthus without enzyme supplement and as much as 19.48% more than experimental group with the addition of the MethaPlus enzyme.

**Thesis performed at:** Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

**Mentor:** prof. dr. sc. Davor Kralik

**Number of pages:** 47

**Number of tables:** 1

**Numbers of graphs:** 25

**Number of references:** 20

**Original in:** Croatian

**Key words:** biogas, miscanthus, methane, digester, substratum

**Thesis defended on date:** 25.2.2020.

#### **Reviewers:**

1. Professor PhD Bojan Stipešević, President
2. Professor PhD Davor Kralik, Mentor
3. Professor PhD Gantner, Member

**Thesis deposited at:** Library, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek, J. J. Strossmayer University of Osijek, Vladimira Preloga 1, Osijek