

Növényi eredetű hulladékok ko-fermentációs rothasztása

Oláh József* – Palkó György* – Rása Gábor*

– *Fővárosi Csatornázási Művek Zrt.

1. Bevezetés

A megújuló energiaforrások közé soroljuk a növényi hulladékokat, melyekből anaerob úton biogáz (energia) állítható elő. A biogáz termelésre alkalmas növények, vagy a mezőgazdaságból származó növényi hulladékok újratermelhetők, vagy ismétlődően keletkeznek és felhasználhatók energiatermelésre. A megújuló energiaforrások jelentősége, hogy használatuk összhangban van a fenntartható- fejlődés alapelveivel, tehát alkalmazásuk nem rombolja a környezetet, ugyanakkor nem is fogják vissza az emberiség fejlődési lehetőségeit. Szemben a nem megújuló energiaforrások (kőszén, kőolaj, földgáz stb.) használatával, nem okoznak olyan halmozódó káros hatásokat, mint az üvegházhatás, a levegőszennyezés, vagy a vízszennyezés.

A kutatás-fejlesztés területén világban nagy erőfeszítéseket tesznek a kutatók, hogy a megújuló növényi energia-forrásokat anaerob úton biogáz termelés céljából hasznosítsák. E cél megvalósítását szolgálja a ko-fermentációs elven működő anaerob rothasztási technológia. A ko-fermentációs rothasztást gyakran alkalmazzák a farm-gazdaságokban, ahol szerves trágyát, mezőgazdasági feldolgozóipar hulladékait (konzerv, vágóhíd, tejipar) és a megújuló forrásokból származó növényi hulladékokat közösen rothasztják. Ezek a rothasztók a hulladékok szezonális jellege és a változó terhelési viszonyok miatt nem működnek optimálisan. A ko-fermentáció témakörében ugyan nagy számú szakirodalmi közlemény jelenik, a szennyvíztisztító telepek rothasztó rendszereiknek kihasználásával viszont kevés közlemény foglalkozik.

A szennyvíztisztító telepeken a rothasztó berendezések közel azonos szubsztrát minőséggel (nyers-és főlös iszap) és egyenletes terheléssel üzemelnek. Ezt az előnyt célszerű kihasználni, mivel a szennyvíziszap rothasztókban a ko-fermentáció optimálisan megvalósítható. Eddig viszonylag kevés figyelmet fordítottak szennyvíztisztító telepek rothasztóinak ko-fermentációs vizsgálatára. Természetesen ezeknél a rothasztóknál is feltétel, hogy az alap-szubsztrát (szennyvíziszap) mellett a ko-szubsztrát (növényi anyagok) minősége és a rothasztók terhelése állandó legyen. A kiegészítő ko-szubsztrátot az anaerob úton jól bontható energia növények (szilfium, energiafű, arundó) képviseli. Ezekből az energia növényekből mono-fermentációval is lehet biogázt előállítani, de a megfelelő C/N arány, a jó makro és mikro tápanyag ellátás biztosítása a ko-fermentáció hatékony megvalósítását teszi lehetővé. A 2011. és 2012. év első felében végzett kísérleti munkánk alapvető célja a szennyvíztisztító telepeken üzemelő rothasztók ko-fermentációs technológiájának kidolgozása.

A kutatások egyik iránya az új cellulázt termelő baktériumok, gombák identifikálására, vagy ismertebb törzsek cellulóz bontó képességének javítására irányul. A cellulóz bontás javítása az esetek jelentős részében géntechnikai úton történik. A jelentős tudományos eredmények ellenére a gyakorlatban cellulóz anyagok anaerob lebontásánál az új tudományos eredmények alkalmazására nagyon kevés példa van. A cellulóz anyagok lebontásának javítására inkább reaktor-technikai megoldásokat (elő-hidrolízis, reaktorok keverése, HRT optimalizálása stb.) alkalmaznak.

A cellulázok (endocelluláz, exocelluláz, cellobiáz, β -glükózidáz) a gombák és baktériumok által termelt cellulózt lebontó enzimek csoportja, amelyek a cellulóz hidrolízisét katalizálják. Olyan enzimek, amelyeket a sejtek környezetükbe választanak ki. Az első lépésben az *endocelluláz* enzim láncokra bontja a kristályos cellulózt. A második lépésben az *exocelluláz* enzim cellobióz vagy cellotetraóz egységekre hasítja a cellulóz láncot. Az utolsó lépésben a *cellobiáz* (β -glükózidáz) enzim glükóz molekulákká bontja a cellobióz és cellotetraóz egységeket. Jelentős szerepük van a talaj és az élőlények szénkörforgalmában. A cellulóz rendkívül ellenálló az enzimes degradációval szemben, teljes lebontására viszonylag kevés mikroorganizmus képes. Többségük fonalas gomba (pl., *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Humicola*, *Melanocarpus*), köztük számos törzset ipari méretben celluláz enzimek előállítására használnak (*Jeffries*, internetes hivatkozás; *Malherbe és Cloete*, 2002).

A *Trichoderma* mutánsok által termelt enzimekkel a hidrolízis során nagyobb glükóz koncentrációt értek el, mint a *T. reesei* enzim felülülzőkkel, illetve a vizsgált kereskedelmi cellulázokkal. A hidrolízissel a párhuzamos cukrosítás és fermentáció során az előkezelt lignocellulóz szubsztrátokon jó etanol kihozatalt értek el. Az F-1505 törzsből UV besugárzás alkalmazásával előállított mutánsok kitűnő extracelluláris β -glükózidáz termelőknek bizonyultak, és gyorsabban növekedtek a vizsgált előkezelt lignocellulóz szubsztrátokon, mint a kontroll *T. reesei* Rut C30 törzs.

Továbbá, a mutánsok lényegesen nagyobb celluláz- és β -glükozidáz aktivitásokkal rendelkeztek, mint a szülő törzs, mind rázatott tenyészetben, mind fermentorban (Kovács, 2009).

A *Trichoderma reesei* Rut C-30 egyik ismert törzsével cellulóz bontó enzimek fermentációs előállítására eredményes kísérleteket végeztek. Sikerült egy olyan kétlépcsős fermentációs modellt kialakítani, amelyben *T. reesei* Rut C-30 törzzsel végzett fermentációs eljárás során az első lépcsőben glükózt, a második lépcsőben cellulózt alkalmazva szénforrásként lehetőség nyílt és elsőként igazolták, hogy a *T. reesei* Rut C-30 pillanatszerűen képes metabolizmusát glükóz hasznosításról cellulóz hasznosítására átkapcsolni [20]. Más szerzők is a *Trichoderma reesei* gomba QM6a törzséből kiindulva gén technikai átalakítással növelték az enzim-termelést (Saev, et al., 2009).

A káposzta komposztálásánál identifikálták *Thermoactinomyces* és a *Bacillus* spp. termofil baktériumokat, melyek celluláz aktivitása nagy volt. A N forrás növelésével az enzim aktivitás is nőtt (Chen-Chin Chang et al., internetes hivatkozás).

A cellulóz anyagok feltárására mechanikai, kémiai, kémiai és mechanikai módszerek kombinációi állnak rendelkezésre. A feltárt anyagot tovább lehet kezelni enzimes módszerekkel, amikor a hidrolízis határfoka tovább javítható (Harmsen et al., 2010).

Mechanikai kezelés:

- Örlés. A feltárás későbbi folyamatai (kémiai feltárás, hidrolízis) szempontjából is fontos az aprítás vagy örlés.
- Ultrahangos roncsolás. Ultrahang a cellulóz kristályok hidrogén kötéseit töri fel. Ehhez 130 kJ/g CMC energiát kell a cellulóz kristályba bevinni.

Kémiai kezelés:

- Meleg vizes feltárás. A feltárás 15 percig és 200 – 230 °C-on történik. A feltárással szárazanyag cellulóz tartalmának 22 %-a oldatba vihető.
- Híg és tömény savas feltárás. A híg hidrolízisnél kénsavat használnak és savas feltárást 160 – 220°C között végzik. A hidrolízis terméke monomer és oligomer szénhidrátok. A tömény savas feltárásnál kénsavat és sóssavat használnak: a monomer szénhidrátok kinyerése jelentős. Ebben az esetben enzimes utó-hidrolízisre már nincs szükség.
- Szerves oldószerek alkalmazása. A lignin oldószerekkel (200 °C-on, etanol, metanol, acetone és etilén-glikol) eltávolítható és az enzimes utó-kezelés határfoka javítható.
- Oxidációs módszerek (ózon, hidrogén peroxid, nedves-oxidáció) is alkalmazhatók a cellulóz feltárására.

A kutatások másik iránya a farm-gazdaságok rothasztóinak ko-fermentációs optimalizálására irányul. A változó terhelési viszonyok és a változó szubsztrát összetétel miatt az elért eredmények szerények. Az anaerob ko-fermentáció során fellépő legnagyobb gond, hogy a betáplált szubsztrát összetétele, és ez által a reaktor terhelése sem állandó. Sok esetben a mikroorganizmusok nem tudnak alkalmazkodni a terhelés ingadozásokhoz, ami a termelt biogáz mennyiség csökkenéséhez vezet. A ko-szubsztrát (élelmiszeripari és mezőgazdasági hulladékok) anyagok könnyen beszerezhetők és olcsók. Sokszor a biogáz üzem közvetlen a hulladékot termelő ipari vagy mezőgazdasági egység mellé épül. Hátránya, hogy nem lehet megjósolni hosszútávra a hulladék mennyiségét és minőségét.

Nagymennyiségű könnyen bontható szubsztrát a reaktor elsavanyodásához vezethet, különösen egylépcsős folyamat esetében. Nagy cukor- és keményítő tartalmú hulladékból nagyon könnyen képződik tejsav és propionsav. Az ezzel együtt járó pH csökkenés és a nagy propionsav koncentráció toxikus lehet a metán-termelő mikroorganizmusok számára. Az ammóniumion fő forrása a N-tartalmú szerves vegyületek lebontása (pl. fehérjék). Az 1,0 g/L-nél nagyobb $\text{NH}_4\text{-N}$ koncentráció a metán-termelésre, már gátló hatást fejt ki (Buzzini et al., 2010).

A hulladékokat kezelő rothasztók metántermelő aktivitása csökken, ahogy a rothasztásra kerülő anyag nedvességtartalom csökken. Megállapították a nulla metántermelő aktivitáshoz tartozó nedvességtartalom értékét. Ez az érték az iszaplepleny esetében 56,6 % és nagyobb, mint a hús, répa, káposzta esetében. A nagy szárazanyag koncentrációjú iszap rothasztásánál a relatív metántermelő aktivitás 100%-ról 53 %-ra csökkent, amikor a nedvességtartalom lecsökkent 96%-ról 90%-ra. Másrészt a metántermelő aktivitás függött az ammóniumion (NH_4^+) koncentrációtól, míg a szabad ammóniától (NH_3) nem, ami azt jelenti, hogy egy jól akklimatizálódott bakteriális rendszerben az ammónium sokkal jelentősebb faktor, mint a szabad ammónia (Lay et al., 1997).

Szarvasmarha trágya és paradicsom feldolgozás hulladékának közös rothasztása során 2,9 kg szerves-anyag/m³·d terhelés mellett a két anyag adagolási arányát 90:10 értékben állították be. A reaktor térfogatra vonatkoztatott gáztermelés 0,33 és 0,5 m³/m³·d érték között változott. A paradicsom hulladék adagolás arányának (80:20) növelésével a gázfejlődés 0,7 m³/m³·d értékre nőtt (Saev et al., 2009).

A szlovák kutatók 40 % kukorica szilázs és 60% marhatrágya anaerob ko-fermentációjánál 48,5 %-os biogáz kihozatal növekedést mértek a tisztán trágya-rothasztáshoz képest. A szilázs adagolás arányát 60 %-ra növelve a gáztermelés 72,7 %-kal nőtt. Ez a példa jól mutatja, hogy a ko-fermentációs rothasztásnál a legfontosabb, hogy jól bontható és egyenletes minőségű szubsztráttal lássuk el a rothasztót (Gaduš és Kročko, 2006).

Ko-szubsztrát rothasztást végeztek szarvasmarhatrágya, fű-szilázs, cukorrépa levél és zabszalma adagolása mellett. A 30%-os növényi hulladék-adagolás mellett a reaktor térfogatra vonatkoztatott metán hozam 16 – 65 %-kal nőtt, a kontroll marhatrágya metán hozamához képest. A növényi hulladék arányának 40 %-ra történő növelésével a szerves-anyag terhelés 2-ről 4 kg/m³·d értékre nőtt és ezzel egy időben a metánhozam 4 – 12 %-kal csökkent. Ez a tapasztalat azt mutatja, hogy a reaktor terhelése a biogáz termelés szempontjából meghatározó (Lehtomäki, 2006).

Az osztrák kutatók szerint közepesen érett siló kukoricánál (maize) 5300 – 8500 Nm³ CH₄ ha⁻¹, a vörös herénél (clover grass; *Trifolium pratense*) pedig 3000 – 4500 Nm³ CH₄ ha⁻¹ metán kihozattal lehet számolni. A növények energia-kihozatalát célszerű az 1 ha termőföldre vonatkoztatni. Ezen túlmenően az energia növényeknél a termesztés költsége, kezelés, tárolhatóság, a rothasztáshoz szükséges előkezelés (aprítás), és a rothasztó berendezés éves ellátottságának biztosítása is fontos tényező (Amoni, et al., internetes hivatkozás).

A csicsóka (*Helianthus tuberosus*), zöld pántlikafű (*Reed Canarygrass; Phalaris arundinacea L.*) és komócsin (*Timothy Phleum pratense L.*) nagy metán potenciállal (2 900 – 5 400 m³ CH₄ ha⁻¹; gépkocsi km-ben 40 000 – 60 000 km ha⁻¹) rendelkeznek. Marha trágya és energia növények közös rothasztásánál a növényi anyagok arányát 40 %-ban célszerű optimalizálta (Lehtomäki et al., 2007).

Az átlagos takarmány-növények fajlagos biogáz kihozatalát (<350 L/kg) más mezőgazdasági termények, mint a kukorica-siló 595, mezei fű 593, lucerna siló (*Medicago lupulina*) 535, takarmány-répa 681 és a répalevél 615 L/kg_{szervesa.} értékekkel lényegesen felül múlják. A különböző energia növényekből rothasztással kinyerhető energia kihozatal függ növény-fajtától, termesztési helytől (talaj, klíma), a termény betakarítás idejétől és technikájától, tartósítástól és tárolástól, a növény anaerob bonthatóságától, az elektromos energia előállítás határfokától (Krieg és Fischer, internetes hivatkozás).

A fű szilázs rothasztásánál mezofil körülmények mellett az 1,0 – 2,6 kg/m³·d érték közötti biológiai terheléssel (OLR) 430 – 470 L/kg_{betáplált.} fajlagos biogáz hozamot lehetett elérni. Cukorrépa mono-fermentációja esetében a terhelést 4,0 kg/m³·d értékre emelve a metán-termelés 470 L/kg értéket érte el. A nagyobb terhelésnél a fenti két növény ko-fermentációja – a marhatrágyával történő közös rothasztás – esetén is stabil üzemelést és jó gázfejlődést lehetett biztosítani (Linke, 2003).

2. A vizsgált anyagok ismertetése

A laboratóriumi, szakaszos és folyamatos kísérletekkel néhány fontosabb energia-növény fajlagos biogáz-kihozatalát, a ko-szubsztrát hatással járó gáztermelés növekedést, a reaktor egyensúlyi viszonyait (pH; illósav, lúgosság), adaptáció és a terhelés változás hatásait kimértük.

Kísérleteknél az alábbi növényi hulladékokat és energia növényeket használtuk:

- Zöld hulladék (Csomád; Kertészeti Vállalat szállítja) összetétele: 50 % vegyes falevél + 50 % vegyes ágyesedék. A begyűjtési rendszerből adódóan a zöld hulladék egy része (~30%) a tárolás során lebomlik.
- Vegyes falomb-hulladék összetétele: akác, juhar, madár-cseresznye, hárs és nyárfa vékony leveles gallyak (ø <10 mm) szárazanyagra vonatkoztatott egyenlő arányú keveréke;
- Szarvas-1 energiafű (*Agropyron elongatum*)
- Szilfium (*Silphium perfoliatum L.*)
- Arundo donax (olasz nád)
- Silókukorica (csöves terméssel).

A vizsgált cellulóz tartalmú hulladékok és növények szénhidrát és cellulóz összetételét a 1.táblázat mutatja.

1. táblázat Különböző cellulóz tartalmú hulladékok és energia-növények hidrolizálható szénhidrát- és cellulóz összetétele

Minta megnevezése	Hidrolizálható szénhidrát, mint glükóz	Lignin	Alfacellulóz	Hemi-cellulóz
	mg/kg	%	%	%
Szilfium (<i>Silphium perfoliatum</i> L.)	70 400	17,4	34,9	37,2
„Szarvas-1” energiafű (<i>Agropyron elongatum</i>)	164 300	19,7	51,6	26,2
Siló kukorica (csővel)	120 500	17,2	47,5	27,3
Zöld hulladék (Csomád)	57 700	32,1	29,6	24,6
Vegyes falomb-hulladék	65 300	26,1	38,1	28,9
Arundo donax (olasz nád)	87 750	24,7	42,6	24,9

A vizsgált növények szerves-anyag tartalma 86 – 93 % között változott, viszont a begyűjtésből eredően hosszabb ideig tárolt városi zöld hulladék szerves-anyag tartalma csak 51 % volt. A szilfium lignin tartalma az összes vizsgált anyagnál a legkisebb (17,4 %) és a hemicellulóz tartalma viszont a legnagyobb érték (37,2 %) volt.

3. Mérési módszerek

A szakaszos anaerob kísérleteknél a lejátszódó folyamatok jellemzésére rothasztók ellenőrzésére a gyakorlatból jól ismert alapvizsgálatokat pH, lúgosság, illósav, szárazanyag és a szerves-anyag szabvány szerinti mérését alkalmaztuk. Az anaerob ellenőrzési módszerek ismertetésére nem térünk ki.

Az alap-vizsgálatokat mellet a rothasztó rendszerben a növényi szubsztrátok lebontásának nyomon követésére celluláz enzim aktivitás mérését alkalmaztuk. A celluláz enzimaktivitás mérésének lényege, hogy a puffertolt CMC (karboxi metil cellulóz) oldathoz iszap mintát adunk, majd 30 °-on végzett inkubációt követően centrifugáljuk és celluláz enzim hatására képződött glükózt dinitroszalicilsav reagens hozzáadása után fotometrikan mérjük. A celluláz enzim aktivitását mg glükóz/g szervesa. nap formában fejeztük ki (*Adney és Baker*, internetes hivatkozás, 1996).

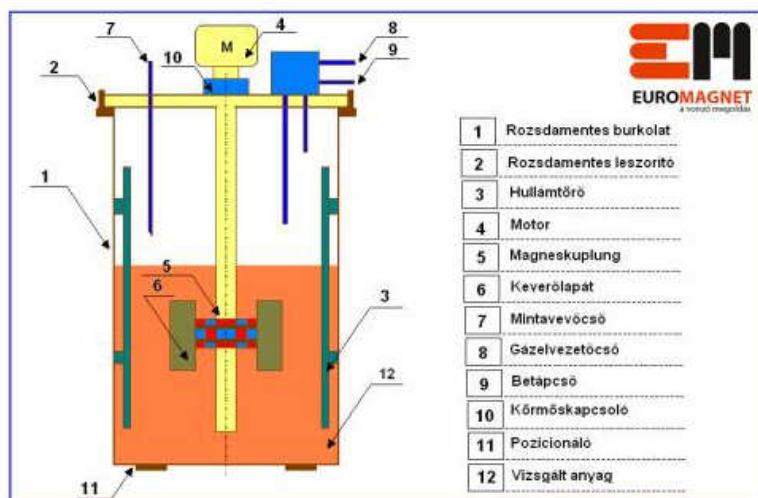
A hidrolizálható szénhidrátokat fenol-kénsavas módszerrel határoztuk meg. A módszer lényege, hogy a hexózzal a fenol szín-reakcióba lép és ezt követően fotometrikan a szénhidrátok mérhetőek (*Lehtomäki et al.*, 2007).

A cellulóz vizsgálatokat a Papíripari Kutatóintézet (NYME Sopron) végezte (*Hernádi*, 1980). A cellulóz összetételnél vizsgálták a hollocellulóz, alfa-cellulóz, hemi-cellulóz és lignin tartalmat

4. Laboratóriumi rothasztó berendezés ismertetése

A közös (ko-szubsztrát) rothasztásra kerülő hulladékok anaerob bonthatóságát (fajlagos gázképződés, szerves-anyag lebontás, illósav-képződés, lúgosság) laboratóriumi, kísérleti berendezésben (V = 12 L) mértük. Ez a berendezés alkalmas szakaszos és folyamatos kísérletek végrehajtására. Egy laboratóriumi rothasztó egység vázlatát az 1.ábra mutatja be. A szakaszos kísérleti eljárás alapelve, hogy a közös rothasztáshoz oltó adagolása mellett a szubsztrátokat összekeverjük és a kontroll-változókat (hőmérséklet, keverés, nyomás) állandó értéken tartjuk és rendszer állapot-változásában (gázfejlődés, lebontási sebesség, pH, illósav termelés, lúgosság) bekövetkező változásokat mérjük az idő függvényében.

A folyamatos kísérleteknél tartózkodási idő és terhelés értékének beállítása mellett a reaktort napi egyszeri rátáplálással üzemeltettük.



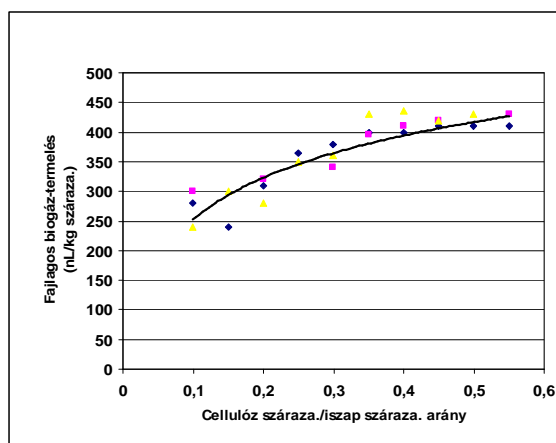
1.ábra Laboratóriumi méretű (V = 12 L) anaerob rothasztó berendezés vázlata

A reaktor edénybe helyezett iszap vagy folyadék keverését mágnes kuplungos keverőfej végzi. A mágneses kuplung kialakításával biztosítható a reaktor gáz-zárhatósága. A mágnes-kuplung meghajtását egy villanymotor végzi. A meghajtás reaktor edényenként egyedileg vezérelhető. Állítható a keverés indításának ideje, annak időtartalma és vége. A fordulatszám nem változtatható. A reaktor a szubsztrát betáplálására, elvételére, mintavételre alkalmas csatlakozással van felszerelve. A kísérleteknél mindig oltó iszapot alkalmazunk, ezért az oltó iszap saját gázfejlesztését, mint kontroll vizsgálatot figyelembe kell venni. A laboratóriumi kísérleti berendezés 10 db fermentor egységből áll. A fermentor termosztálása lehetővé teszi, hogy 20 és 70 °C-os hőmérsékleti tartományban a hőmérsékletet akár egy °C fokként emeljük. A termosztálás pontossága $\pm 0,2$ °C.

5. Mérési eredmények értékelése

Különböző cellulóz származékok biogáz-termelő képessége

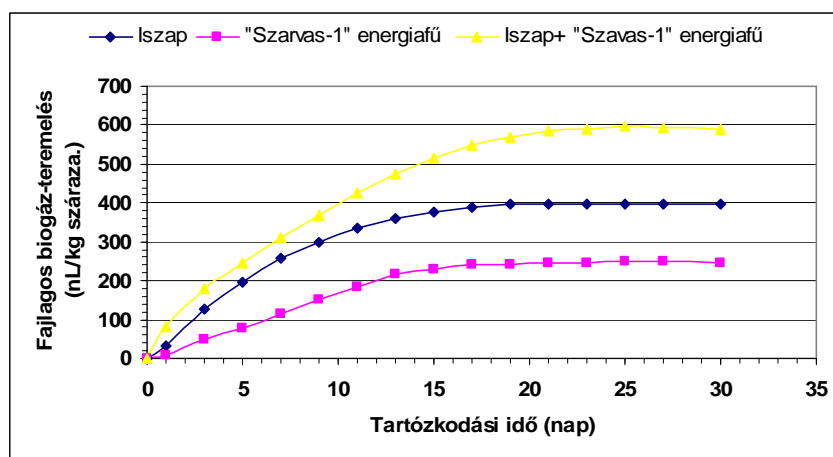
Az energia növények ko-szubsztrátos rothasztásánál a növény szárazanyag/szennyvíziszap szárazanyag arányt maximálisan 0,50 körül állítják be. A gyakorlati tapasztalat azt mutatta, hogy a 0,5 arány felett a biogáz metán tartalma 60% alá csökken és a rothasztó rendszer egyensúlyát szabályzó pH, lúgosság és összes illósav (mint ecetsav) paraméterek egyensúlya megbomlik. Az egyensúly megbomlása a pH érték ($<7,0$) és a lúgosság (<4000 mg CaCO_3/L) csökkenésével jár. A 2.ábra növény szárazanyag/szennyvíziszap szárazanyag arány és a gázfejlődés összefüggését mutatja.



2. ábra A növény /szennyvíziszap szárazanyag arány és a gázfejlődés összefüggése

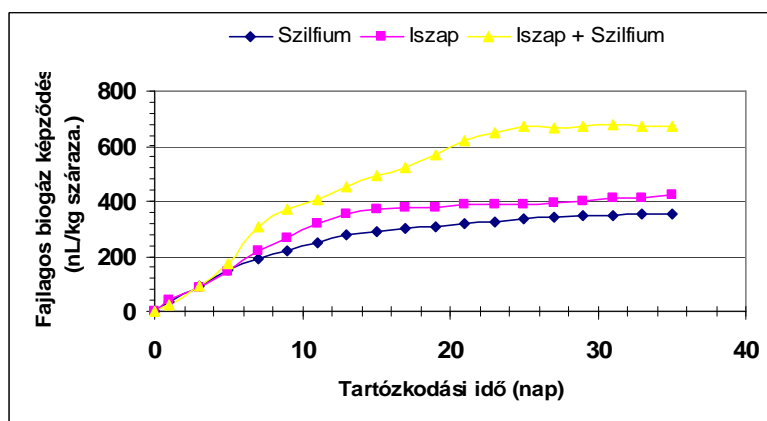
A 0,5 arány után a gázfejlődés nem nő számottevően, de az alapvető gondot a fentiekben ismertetett metán tartalom csökkenése és a rothasztás egyensúlyának bizonytalansága okozza.

A nagyobb növényi aránynál a rothasztó illósav termelése (> 2000 mg/L) megnőtt és a biogáz metán tartalma 55 % alá esett. A 3. ábra a „Szarvas-1” energiafű és a 4. ábra szilfium energia-növény szárazanyagra vonatkoztatott fajlagos biogáz termelését mutatja be önálló és ko-fermentációs viszonyok között. A „Szarvas-1” energiafű a rothasztásakor önállóan 250 NL/kg DM, szennyvíziszappal közösen rothasztva 600 NL/kg DM biogázt termelt.



3. ábra „Szarvas-1” energiafű fajlagos biogáz termelése önálló és ko-fermentációs viszonyok között

A szilfium esetében az önálló rothasztásnál 415 NL/kg DM, a közös ko-fermentációs rothasztásnál 680 NL/kg DM gázhozamot értünk el. A ko-fermentációs rothasztásnál az összegzett gázhozam változóan 20 – 40 %-kal nagyobb, mint a szennyvíziszap és az energia-növények önálló rothasztásakor mért gázhozam összege.



4. ábra Szilfium energia-növény fajlagos biogáz termelése önálló és ko-fermentációs viszonyok között

A különböző eredetű cellulóz-hulladékok és növények szárazanyagra és szerves-anyagra vonatkoztatott fajlagos biogáz-termelési értékeit önálló és ko-subsztrát rothasztás esetében a 2. táblázatban foglaltuk össze. A táblázatban látható a csomádi komposzt telepre beszállított zöld hulladék fajlagos biogáz-fejlesztése is. A kísérleti sorozatból a vegyes falomb és a csomádi zöld hulladék gáztermelési adatai – a kicsiny értékeivel – kiugranak. Az önálló rothasztás esetében a vegyes falomb hulladéknál 318, a zöld hulladéknál pedig 159 nL/kg VS gázfejlődést mértünk. Ezek az értékek az energia-növények gázfejlesztési értékeihez képest nagyon kicsinynek tűnnek. A zöld hulladék

összegyűjtése és tárolása hosszú ideig tart és a tárolás folyamán a könnyen bontható szerves-anyag frakció (szénhidrát, fehérje) lebomlik és e miatt a rothasztásnál kisebb gázfejlődéssel lehet számolni.

A szennyvíziszap önálló rothasztásakor 550 nL/kg VS gázkihozatalt lehet elérni. Ez az érték 35 % energia növény adagolás esetében 750 nL/kg VS érték fölé emelhető. A ko-szubsztrát rothasztásnál ezek az értékek jónak mondhatók.

Enzim készítmény adagolása

Az enzim adagolással végzett rothasztási kísérleteknél AGRIPROM (holland) cég enzim készítményét és szarvas-1 energiafűvet használtunk fel. Az ajánlásnak megfelelően a rothasztás első 10 napjában a szubsztrátra vonatkoztatva 20 g/m³nap enzimekészítményt adagoltunk, majd a következő 10 napban az enzimadagolást lecsökkentettük 10 g/m³nap értékre. A megadott enzim-adagolással (20 mg enzim/L szubsztrát) az energiafűnél nem lehetett biogáz kihozatalban növekedést kimutatni. Az enzim adagolás megduplázásával (40 mg/L) a szakaszos rothasztásnál 20 nap után a fajlagos gáztermelés 330, a kontrollnál 237 nL/kg VS érték volt. Az energiafűre adaptált É-pesti oltó-iszap fajlagos gázfejlesztése elérte a 315 nL/kg VS értéket. Ez azt mutatja, hogy az enzim-adagolás nélküli, de celulózra adaptált rendszerrel közel ugyanazt a gáztermelést lehetett elérni, mint az enzim-adagolással. Szennyvíz iszap + energiafű + enzim-adagolás mellett mért a szerves-anyagra vonatkoztatott gázfejlődés (780 Nm³/kg VS) alig haladta meg a szennyvíz iszap + energiafű ko-fermentációs rothasztásnál mért gázfejlődést (760 Nm³/kg VS). Ez arra mutat, hogy egy-lépcsős anaerob ko-fermentációs rothasztásnál az enzim készítmény adagolása, csak kismértékben emeli a gáz-fejlődést.

A biogáz metán tartalma 58 – 62 % között változott. Ezt az értéket a pH ~7,5 és 6000 mg CaCO₃/L (illósav < 2000 mg/L) lúgosság mellett lehetett elérni. Ha pH 6,5 – 7,0 érték közé esett és puffer kapacitás <3000 mg/L-re lecsökkent a gázfejlődés ugyan intenzív maradt, de a metán tartalom (<50%), jelentősen lecsökkent. Ilyen körülmények között a szén-dioxid-képződés (40 – 50 %) volt a meghatározó.

A kommunális iszap-rothasztók cellulózbontó képessége (8000 – 9000 mg glükóz/L·d) lényegesen elmarad az enzimes, energiafűre adaptált vagy speciális cellulózt jól bontó anaerob rendszerek aktivitásától. A kommunális iszapok rothasztásánál a cellulóz származékok nem meghatározóak, ezért a celluláz aktivitás is kisebb érték. Az AGRIPROM enzim-adagolás (40 mg/L) mellett a kísérleti rothasztó (É-pesti iszap + energiafű + enzim) enzim aktivitás értéke 12 000 – 13 000 mg glükóz/L·d érték között változott. Ha energiafűhöz hozzászoktattuk az anaerob rendszert az iszap cellulóz aktivitása (10 000 – 12 000 mg glükóz/L·d) alig maradt el az enzim-adagolásnál mért aktivitási értékektől. Természetesen az enzim adagolás fokozásával az anaerob rendszer lebontási sebessége nő és a tartózkodási idő csökkenthető. A cellulóz anyagok lebontása arányos a celluláz aktivitással.

2. táblázat Különböző eredetű cellulóz-hulladékok és növények fajlagos biogáz-termelése szakaszos rothasztás esetében

A szubsztrát anyag megnevezése	Rothasztás módja	Fajlagos biogáz-termelés a betáplált szárazanyagra (szerves-anyagra) vonatkoztatva Nm³/kg
Szarvas-1 energiafű (Agropyron elongatum)	a szubsztrát önálló rothasztása	250 (277)
Szarvas-1 energiafű + enzim (40 mg/L)	a szubsztrát önálló rothasztása	330 (365)
Szarvas-1 + szennyvíziszap + enzim (40 mg/L)	ko-szubsztrát rothasztás	620 (780)
Szarvas-1 + szennyvíziszap	ko-szubsztrát rothasztás	600 (760)
Szennyvíziszap (nyer- és fölös iszap keverék – szárazanyagra 60 és 40 %)	a szubsztrát önálló rothasztása	400 (550)
Szilfium (Silphium perfoliatum L.)	a szubsztrát önálló rothasztása	350 (405)
Szilfium + szennyvíziszap	ko-szubsztrát rothasztás	680 (878)

Silókukorica (csöves terméssel)	a szubsztrát önálló rothasztása	420 (480)
Silókukorica (csöves terméssel) + szennyvíziszap	ko-szubsztrát rothasztás	750 (960)
Arundo donax (olasz nád)	a szubsztrát önálló rothasztása	300 (323)
Arundo donax + szennyvíziszap	ko-szubsztrát rothasztás	620 (770)
Vegyés falomb-hulladék	a szubsztrát önálló rothasztása	180 (318)
Vegyés falomb-hulladék + szennyvíziszap	ko-szubsztrát rothasztás	510 (650)
Zöld hulladék (Csomád)	a szubsztrát önálló rothasztása	90 (159)
Zöld hulladék (Csomád) + szennyvíziszap	ko-szubsztrát rothasztás	450 (670)

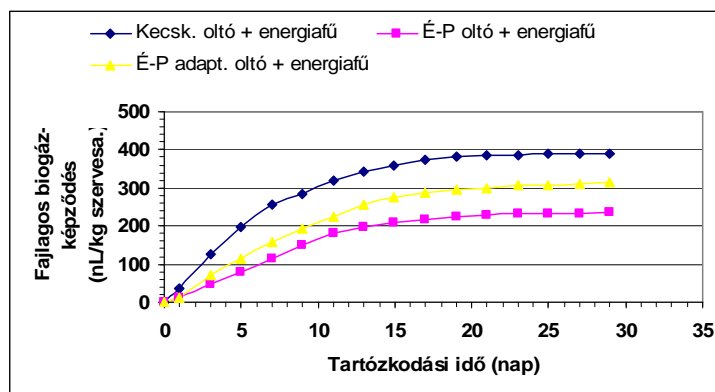
Megjegyzés: a ko-szubsztrát rothasztásnál növény szárazanyag/iszap szárazanyag arány minden esetben 0,35 volt

Adaptáció

Egy nehezen bontható szubsztrát a rothasztóba történő betáplálását követően a lebontási hatások lassan nő, majd 2 – 4 hét után a rendszer egyensúlyi mutatói (pH, illósav, lúgosság) és a lebontási hatások állandó értékre áll be. Ez idő alatt a baktérium populáció adaptálódik (alkalmazkodik) és szelektálódik az adott komplex szubsztrát bontásához.

A rothasztóba 4; 8; 12; 16; 20 és 24. napon 2 g/L (szárazanyagra vonatk.) energiafűvet adagoltunk. Az energiafű beadagolás gyakoriságával a rothasztó celluláz aktivitása 110-ről 310 mg glükóz/g-nap értékre növekedett. A gyakoribb beadagolás hatására az energiafű lebontási hatások és a gázfejlődés egyértelműen nőtt. A kontroll (nincs beadagolás) minta esetében az idő növekedésével az enzimaktivitás növekedés lényegesen kisebb. Az energiafű adagolását hatszori beadagolás mellett 24 napig folytattuk. Az energiafű szubsztráthoz szoktatott rothasztó enzim aktivitása a 170 mg cellulóz/g VS-d kontroll értékhez képest 320 mg cellulóz/g VS-d értékre nőtt. Az adaptált rendszer a nem adaptálthoz képest 33 %-kal több gázt termelt.

Az „Szarvas-1” energiafű fajlagos biogáz fejlesztését különböző eredetű oltóiszapok alkalmazása mellett a 5.ábra mutatja. A fajlagos biogáz fejlesztést a rothasztóba betáplált szerves-anyagra vonatkoztattuk. A kommunális rothasztók viszonylag kicsiny celluláz aktivitással üzemelnek, azonban növényi anyagok rátáplálását követően a celluláz aktivitás értéke ezekben a rothasztókban is jelentősen nő. A cellulóz anyagok bontásához adaptálódott, nagy celluláz aktivitással rendelkező oltóiszapot a Pilze - Nagy Kft (Kecskemét) V = 2000 m³ üzemi rothasztójából kaptuk. A rothasztóban szalma cellulóz maradékot rothasztanak, ezt alkalmanként marhatrágya adagolással egészítik ki. A szalma maradék a laskagomba termesztésből származik. A kecskeméti oltóiszap celluláz enzim aktivitása a kommunális anaerob iszap (É-pest) aktivitásának 2 – 3-szorosa. Az oltásnál 1000 mL oltóanyagra (~30 – 35 g/L szerves-anyag) 100 – 150 g szárazanyagnak megfelelő energiafűvet adagoltunk.



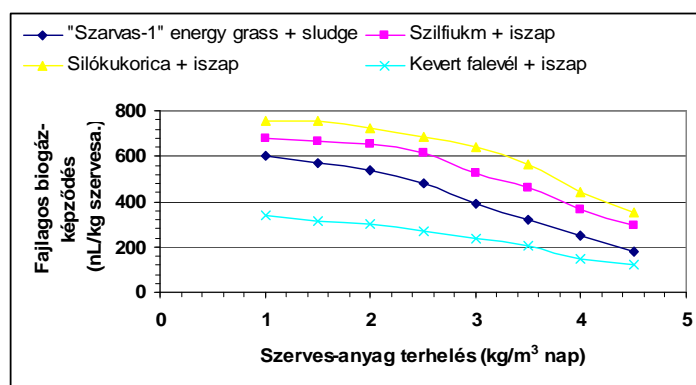
5. ábra „Szarvas-1” energiafű fajlagos biogáz-fejlesztése különböző oltóiszapok esetében

Az energiafű rothasztásánál a kecskeméti oltóval 390, É-pesti energiafűre adaptált oltóval 315 és É-pesti nem adaptált oltóval 237 nL/kg VS. fajlagos gázfejlesztési értékeket értünk el. Ez azt mutatja, hogy egy új szubsztráthoz az anaerob baktérium populációt mindig hozzá kell szoktatni. Az adaptációs folyamat szubsztrát váltásánál mindig lezajlik, erre az üzemelésnek nem kell külön gondot fordítani. Rátáplálásnál a szubsztrát minőségének és mennyiségének változtatása következtében az anaerob rendszer soha nem tud megfelelően adaptálódni, ezért a lebontási hatásfok is kisebb lesz. Az ábra alapján megállapíthatjuk, hogy 22 nap után a gázfejlődés alig növekedett és az oltó iszap eredete lényegesen befolyásolta a biogáz kihozatalát.

Megállapítható, hogy az adaptált és nem adaptált oltó anyagokkal mért gázfejlesztési eredmények között nagy különbség van. A szakaszos rothasztási kísérletek azt mutatják, hogy nagy aktivitású oltóanyagok esetében a biogáz kihozatal 50 – 100 %-kal is nagyobb lehet, mint a nem adaptált oltó esetében.

Folyamatos kísérletek

A folyamatos körülmények között a szerves-anyag terhelés és a biogáz fejlesztés kapcsolatát a 6.ábra mutatja be. A folyamatos megjelölés napi egyszeri elvételt és ezt követő rátáplálást jelentette.



6.ábra A szerves-anyag terhelés és a biogáz fejlesztés kapcsolata

A kísérleteknél szárazanyagra nézve 0,35 növény/iszap arányt állítottunk be. A terhelés növelésével a fajlagos gázfejlődés csökken. A 1 és 2 kg/m³nap szerves-anyag terhelés között a gázfejlődés csökkenése kis mértékű. A 3 kg/m³nap terhelés felett a gáztermelés nagymértékben csökken, majd a gáztermelés 4,0 – 4,5 kg/m³nap terhelés között a kiindulási érték felére csökken. A nagyobb terhelési értékeknél a HRT értéke 15 nap alá esik és itt a gázfejlődést már szinte csak a szennyvíz iszap adja. Ilyen kicsiny HRT értéknél a cellulóz származékok kis mértékben bonthatók.

A HRT és az OLR szoros kapcsolatban van egymással. Ezt a 7.ábra szemlélteti. A kicsiny OLR értékhez nagy HRT, és fordítva nagy OLR értékhez kicsiny HRT tartozik. Ha a betáplálási koncentráció megváltozik, akkor ezzel együtt az OLR értéke is változik, ugyanakkor a HRT értéke változatlan. Tehát a folyamatos táplálású rendszert a HRT és az OLR paraméterekkel együtt kell jellemezni. A kiegyensúlyozott üzemelés érdekében törekedni kell, hogy állandó HRT és az OLR értéke állandó legyen.

A folyamatos rendszer anyagmérlegét az (1) egyenlet írja le:

$$\frac{dS_e}{dt} = \frac{F}{V}S_0 - \frac{\mu}{F}X_1 - \frac{F}{V}S_e \quad (1)$$

változás

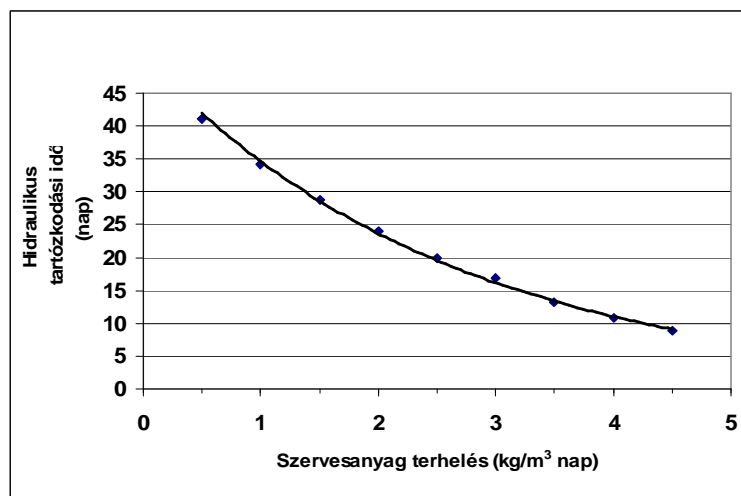
a reaktorban = befolyó – elfogyasztott – elfolyó

ahol: F – a reaktor átfolyási sebessége (m³/d); X₁ – a reaktorból elfolyó mikroorganizmus koncentráció (kg/m³); μ – fajlagos szaporodási sebesség (d⁻¹); V – reaktor térfogat (m³).

Egyensúlyi állapotot feltételezve az (1) egyenlet TOC-re felírva a következőképpen alakul:

$$\frac{F}{V}C_0 = \frac{\mu}{Y}X_1 + \frac{F}{V}C_{et} \quad (2)$$

ahol: C_0 – befolyó koncentráció TOC-ben kifejezve (kg/m^3); C_{et} – az elfolyó szubsztrát bonthatatlan TOC koncentrációja.



7.ábra Az OLR és a HRT kapcsolata

$\frac{\mu}{Y}X_1$ tag két részből tevődik össze: a keletkezett gázból ($\text{CH}_4 + \text{CO}_2$), mint reakció termékekből és a szubsztrát sejt szintézisre fordított „C” hányadából.

Az elfolyó szubsztrát (C_e) széntartalmának meghatározásakor a gyakorlatban mindig hozzámérjük a lebontott szubsztrát baktérium szintézisre fordított „C” hányadát is. Ennek megfelelően: $C_e = C_{es} + C_{et}$. Ahol: C_{es} – a lebontott szubsztrát sejt szintézisre fordított „C” tartalma; C_{et} – a lebontatlan szubsztrát tényleges „C” tartalma.

A keletkezett gáz ($G_m - \text{kg}/\text{m}^3 \cdot \text{d}$), valamint a reaktorba befolyó (C_0) és az elfolyó (C_e)szubsztrát szerves széntartalmának ismeretében felírhatjuk az egyszerűsített szénmérleget:

$$\frac{F}{V}C_0 - \frac{F}{V}C_e = G_m \quad (3)$$

a reaktorba befolyó szén a reaktorból elfolyó szén a gáz mért szén tartalma

A folyamatos kísérleteknél a szilfium és az energiafű ko-szubsztrát rothasztásának üzemi paramétereit a 3. táblázat mutatja.

3.táblázat A szilfium és az energiafű ko-szubsztrát rothasztásának üzemi paramétereit

A szubsztrát megnevezése	Szárazanyag (szervesanyag) terhelés ($\text{kg}/\text{m}^3 \cdot \text{d}$)	Összes TOC terhelés (növény + iszap) ($\text{kg}/\text{m}^3 \cdot \text{d}$)	HRT (d)	Növény DM/iszap DM arány (-)	Biogáz fejlődés a reaktorban ($\text{m}^3/\text{m}^3 \cdot \text{d}$)	$\frac{C_0 - C_e}{C_0} 100$ TOC lebontás (%)
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
Szilfium + szennyvíz iszap	1,0 (0,76)	0,223 (sz:0,09 + szvi: 0,23)	35	0,35	0,71	41
	1,5 (1,14)	0,498 (sz:0,147 + szvi: 0,351)	29	0,35	0,90	38
	2,0 (1,52)	0,664 (sz:0,196 + szvi: 0,468)	25	0,35	0,95	35

		szvi: 0,461)				
	2,5 (1,90)	0,830 (sz:0,245 + szvi: 0,585)	20	0,35	1,00	30
	4,0 (3,04)	1,331 (sz: 0,393 + szvi: 0,938)	12	0,35	0,85	27
Szarvas-1 energiafű + szennyvíz iszap	1,0 (0,77)	0,342 (sz-1: 0,108 + szvi: 0,234)	35	0,35	0,58	38
	1,5 (1,15)	0,513(sz-1: 0,162 + szvi: 0,351)	29	0,35	0,70	36
	2,0 (1,54)	0,684 (sz-1: 0,216 + szvi: 0,468)	25	0,35	0,75	31
	2,5 (1,92)	0,855 (sz-1: 0,270 + szvi: 0,585)	20	0,35	0,65	28
	4,0 (3,09)	1,371 (sz-1: 0,433 + szvi: 0,938)	12	0,35	0,41	20

Jelmagyarázat: (3) oszlop: sz – szilfium, szvi – szennyvíz iszap, sz-1 – szarvas-1 energiafű; (4) oszlop: HRT – hidraulikus tartózkodási idő; (5) oszlop: DM – szárazanyag; (7) oszlop: C₀ – befolyó TOC koncentráció, C_e – elfolyó TOC koncentráció.

Az energiafű és szilfium ko-fermentációs rothasztásának összehasonlítása céljából a terhelést, a betáplált növény és iszap szárazanyag arányát közel azonosan (0,35) tartottuk. A TOC terhelés két részből a növény és a szennyvíz iszap TOC értékéből tevődött össze. A reaktor térfogatra vonatkoztatott fajlagos gázhozam (m³/m³d) és TOC lebontás (%) alapján megállapítható, hogy a szilfium energianövény anaerob lebontása jobb hatásfokkal végezhető el, mint a szarvas-1 energiafű rothasztása. A szárazanyag terhelés növekedésével ~2,0 kg/m³d értékig a gázfejlődés növekszik, majd ezt követően nem változik, illetve a terhelés további emelésével a lebontási hatásfok és a gázfejlődés csökken.

Ko-szuszbsztrát hatás vizsgálata

A társított vagy ko-szuszbsztrát rothasztás kettő vagy több szubsztrátból készült homogén keverék közös rothasztását jelenti: az alap-szuszbsztráthoz (pl. állati trágya, szennyvíziszap) egyéb kiegészítő anyagokat (konyhai hulladék, kerti hulladék, energiafű stb.) adagolnak és közösen rothasztják. Az alap-szuszbsztrát biztosítja az alapvető tápanyagokat (N, P) és mikroelemeket (Ca, Fe, Mg, Mn, Co stb.). Ko-szuszbsztrát rothasztásnál a rothasztóba adagolt szennyvíziszap tartalmazza a fontosabb tápanyagokat (N; P; mikroelemek). A jó makro és mikro tápanyag ellátás következtében a ko-szuszbsztrát rothasztás sokkal hatékonyabb, mint a mono-szuszbsztrátok rothasztása. A makro és mikro tápanyagokat olyan arányban kell biztosítani, hogy például az „A” és „B” komponensek közös anaerob lebontása céljából kedvező legyen. A makro tápanyag ellátás szempontjából a legfontosabb a megfelelő C:N:P arány tartása. A C:N:P arány ugyan tág határok között változhat és ennek ellenére a rothasztás folyamat fenntartható, de alap követelmény, hogy az arányt legalább 50:5:1 arány körül tartsuk. A ko-szuszbsztrát hatás az esetek jelentős részében úgy jelentkezik, hogy a könnyebben bontható szubsztrátok hatására az „archaikus” (alap-populáció) kultúra szaporodása felgyorsul, majd ezt követően a nehezebben bontható anyagok lebontása is javul [4].

A kísérleti tapasztalatok egyértelműen azt mutatják, hogy tisztán csak növényi anyagokat nem célszerű rothasztani, még abban az esetben sem, ha ez az anyag közel komplex tápanyag készlettel rendelkezik (például a siló kukorica).

Vizsgálataink alapján a ko-szuszbsztrát rothasztás szempontjából a siló kukorica, szarvas-1 energiafű és szilfium tűnik a legjobb kiegészítő szubsztrátnak. A siló kukorica a legnagyobb biogáz potenciállal rendelkezik, de hátránya, hogy a rothasztóba történő feltáplálás előtt az aprított kukoricát silózni kell. A silózás technológiát a rothasztó közvetlen közelében kell kialakítani. Egész évben siló termékkel a rothasztót nem lehet ellátni. A szilfium és a szarvas-1 energia növények a siló kukoricánál ugyan kisebb gázfejlesztési potenciállal bírnak, de a két termék előnye, hogy szárított formában az év bármely időszakában tárolhatók és az anyagokat, csak a rothasztóra táplálás előtt kell aprítani, majd homogenizálni. A ko-szuszbsztrát rothasztásnál 20 – 40 %-kal nagyobb volt a gáztermelés, mint az energianövény és nyers-főlősiszap külön rothasztásánál mért két szubsztrát gáztermelésének összege. Ez a hatás egyértelműen a *ko-szuszbsztrát* effektussal magyarázható.

Amennyiben a szubsztrát rátáplálás változik és bizonytalan az alap szubsztrát a fenti előny minimumra (~10 %) csökken, vagy egyáltalában nem jelentkezik. A bizonytalan üzemű mezőgazdasági rothasztóknál, ahol a szubsztrát minősége és a terhelés nagyon gyakran változik ko-szubsztrát rothasztás előnye jelentősen, csökkenhet.

A kiegyenlített minőségű szennyvíziszap és egyensúlyban üzemelő kommunális szennyvíztisztító telepek rothasztóinál a ko-szubsztrát rothasztás jó hatásfokkal végre hajtható.

Összefoglalás

Az energia-növények önálló rothasztásakor a rendszerben kevés a fehérje és kicsiny mértékű az ammónia-képződés, tehát a rendszer puffer-kapacitása kicsiny. Ez egyértelműen jelzi, hogy tisztán növényi anyagokat önmagukban nem célszerű rothasztani. A ko-szubsztrát hatás kihasználása céljából a növényi hulladékokat valamilyen komplex tápanyag tartalmú hulladékokkal együtt célszerű rothasztani. Erre a célra leginkább a szennyvíz iszap, mint komplex tápanyagokat tartalmazó szubsztrát a legmegfelelőbb.

Szakaszos rothasztási kísérleteket a szilfium, energiafű, silókukorica, csomádi zöld hulladék, vegyes falomb keverék, arundó növényeknél végeztünk. Tapasztalat szerint azok a növények kezelhetők könnyen anaerob úton, amelyeknél kicsiny a lignin tartalom és nagy a hemicellulóz, cellulóz aránya (szilfium, energiafű, siló kukorica). A szakaszos kísérleteknél általában 30 – 35 napos tartózkodási időt vettünk alapul. Ennél a tartózkodási időnél mért gáz-termelés nem azonos a hulladék, vagy a növény potenciális gáz-termelési értékével, de a gyakorlat számára a 30 – 35 napos tartózkodási időnél mért érték jól használható. A ko-szubsztrát rothasztás esetében különösen jó gáztermelési potenciállal rendelkezik a silókukorica, szilfium, energiafű (750 – 850 L/kg VS.). Egyéb hulladékok, mint például vegyes falomb, friss zöld hulladék kisebb gáztermelési potenciállal rendelkezik (<650 L/kg VS), ezért felhasználásuk biogáz-termelés céljára kétséges.

Celluláz enzim (AGRIPROM) adagolás és ko-szubsztrát rothasztás kombinációjával (szennyvíz iszap + energia-növény + enzim) a szarvas-1 energiafűnél 780 L/kg VS fajlagos gázfejlődést értünk el. Az enzim-adagolás mellett mért gázfejlesztés alig haladta meg a kontroll rendszer (szennyvíz iszap + energia-növény) gázfejlesztési értékét (760 L/kg VS).

A ko-szubsztrát rothasztásnál 20 – 40 %-kal nagyobb volt a gáztermelés, mint az energianövény és nyers-főlösiszap külön rothasztásánál mért két szubsztrát gáztermelésének összege. Ez a hatás egyértelműen a *ko-szuszbsztrát* effektussal magyarázható.

Irodalom

1. *Adney, B., - Baker, J.* (1996): Measurement of Cellulase Activities. Laboratory Analytical Procedure (LAP) Issue Date: 08/12/1996. <http://www.nrel.gov/biomass/pdfs/42628.pdf>
2. *Amoni, T. - Kryvoruchko, V. - Amoni, B. - Zollitsch, W. - Pötsch, E.*: Biogas production from maize and clover grass estimated with the methane energy value system. http://www.nas.boku.ac.at/fileadmin/ /H93/H931/AmonPublikationen/biogas_production_maize_and_clover_methane_energy_system.pdf
3. *Behmel, U., - Meyer-Pittroff, R.* (1996): Risiken bei der Cofermentation organischer Reststoffe in Biogasanlagen. Korrespondenz Abwasser, 12/96, 43, 2172 – 2179
4. *Buzzini, A.P., Sakamoto, I. K., Varesche, M. B., Pires, E. C.* (2010): Evaluation of the anaerobic degradation of black liquor from a Kraft pulp plant with addition of organic co-substrates. Water Science and Technology, Volume 60 Number 1, 267-272
5. *Chen-Chin Chang - Chang-Chai Ng - Chung-Yi Wang - Yuan-Tay Shyu:* **ACTIVITY OF CELLULASE FROM *THERMOACTINOMYCETES* AND *BACILLUS* spp. ISOLATED FROM *BRASSICA* WASTE COMPOST** <http://www.scielo.br/pdf/sa/v66n3/04.pdf>
6. *Gaduš, J., - Kročko, V.* (2006): Evaluation of co-fermentation under agricultural biogasplant conditions. Faculty of Agricultural Engineering, Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovakia *MOTROL, 8A, 125–132*

7. Harmsen, P., - Huijgen, W.,- Bermudez, L.,- Bakker, R. (2010): Literature review of physical and chemical pretreatment processes for lignocellulosic biomass.
http://www.biomassandbioenergy.nl/filesdwnld/Literature%20review_FBR.pdf
8. Hernádi, S. (1980): Papíripari anyagvizsgálat, Műszaki Könyvkiadó, Budapest.
9. Jeffries, T. W.: Biodegradation of lignin and hemicelluloses. Institute for Microbial and Biochemical Technology, USDA Forest Service, Forest Products Laboratory, One Gifford Pinchot Drive, Madison, WI 53705-12398, U.S.A.
<http://www.fpl.fs.fed.us/documnts/pdf1994/jeffr94b.pdf>
10. Kovács, K. (2009): **CELLULOLITIKUS ENZIMEK TERMELÉSE TRICHODERMA ATROVIRIDE MUTÁNSOKKAL BIOMASSZA ALAPÚ BIOETANOL ELIÁLLÍTÁSA CÉLJÁBÓL.** Ph.D. értekezés tézisei.
http://www.omikk.bme.hu/collections/phd/Vegyeszmernoki_es_Biomernoki_Kar/2010/Kovacs_Krisztina/tezis_hun.pdf
11. Krieg,A.,- Fischer, T.,: Energie aus Gras <http://www.kriegfischer.de/texte/EnergieausGras.pdf>
12. Lay, J.J., - Li, Y.Y., - Noike, T., - Endo, J., - Ishimoto, S. (1997): Analysis of environmental factors affecting methane production from high-solids organic waste. Water Science and Technology Vol. 36, No. 6-7, 493-500,
13. Lehtomäki, A. (2006): Biogas Production from Energy Crops and Crop Residues JYVÄSKYLÄ STUDIES IN BIOLOGICAL AND ENVIRONMENTAL SCIENCE 163 A. Lehtomäki, Department of Biological and Environmental Science, University of Jyväskylä, P.O. Boks 35, FI-40014 University of Jyväskylä, Finland
14. Lehtomäki, A., - Huttunen, S. - Rintala, J.A. (2007): Laboratory investigations on co-digestion of energy crops and crop residues with cow manure for methane production: Effect of crop to manure ratio. Resources, Conservation and Recycling, Vol. 51, 3, 591 – 609
15. Linke, B., (2003) Biogas from Energy Crops Results from Long-term Lab Scale Experiments. Potsdam, 58 LANDTECHNIK 5/2003
16. Liu, D., - Wong, P.T.S.,- Dutka, B.J. (1973): Determination of carbohydrate in lake sediment by a modified phenol-sulfuric acid method, Water Research, Vol. 7, 741 – 746
17. Malherbe, S., - Cloete, T.E. (2002): Lignocellulose biodegradation: Fundamentals and applications. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, Volume 1/2002, 105 – 114
18. Saev, M., - Koumanova, B., - Simeonov, Iv. (2009): Anaerobic co-digestion of wasted tomatoes and cattle dung for biogas production. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 44, 1, 55-60
19. Seidl, V., - Seiboth, B.(2010): *Trichoderma reesei*: genetic approaches to improving strain efficiency. *Biofuels* 1(2), 343–354. <http://www.future-science.com/doi/pdf/10.4155/bfs.10.1>
20. Szijártó, N. (2007): **CELLULÁZ ENZIMEK TERMELÉSE ÉS JELLEMZÉSE KÜLÖNBÖZŐ ALKALMAZÁSOKHOZ.** Ph.D. értekezés tézisei
http://www.omikk.bme.hu/collections/phd/Vegyeszmernoki_es_Biomernoki_Kar/2008/Szijarto_Nora/tezis_hun.pdf