

Anna GROSSER, Ewa NECZAJ

Politechnika Częstochowska, Instytut Inżynierii Środowiska
ul. Brzeźnicka 60a, 42-200 Częstochowa
e-mail: agrosser@is.pcz.czest.pl

Test BMP w ocenie i modelowaniu produkcji biogazu z organicznych substratów: przegląd literaturowy

Współczynnik produkcji biogazu jest jednym z najważniejszych parametrów oceny efektywności procesu fermentacji. Jednym z narzędzi pozwalających na jego oszacowanie, a tym samym określenie potencjału metanogennego badanych materiałów, są testy BMP (ang. *biochemical methane potential*). W literaturze znaleźć można szereg procedur przeprowadzania testów. Różnorodność schematów badawczych rodzi szereg pytań dotyczących czynników wpływających na ich wynik, powtarzalność, a w dalszej kolejności na możliwość porównywania rezultatów testów wykonywanych w różnych laboratoriach. W artykule szczegółowo przedstawiono główne grupy czynników wpływających na wynik testów BMP, omówiono między innymi wpływ *inoculum*, medium fermentacyjnego, rodzaju substratu, a także przedstawiono zakresy parametrów operacyjnych stosowanych w testach. Dodatkowo zaprezentowano procedury badawcze stosowane do oszacowania produkcji metanu dla bardzo zróżnicowanych odpadów.

Słowa kluczowe: testy okresowe, metan, potencjał metanogenny (BMP), fermentacja

Wprowadzenie

Na przestrzeni ostatnich kilku lat widać wyraźne zmiany w strukturze gospodarki odpadami. Implementacja Dyrektywy 99/31/EC (Dz.Urz. WE L 182 z 16.07.1999) ogranicza możliwości ich deponowania na składowiskach odpadów. Krajowy plan gospodarki odpadami zakłada konieczność wdrażania nowoczesnych technologii odzysku oraz unieszkodliwiania odpadów, a za preferowaną dla odpadów biodegradowalnych uznaje recykling organiczny, w tym stabilizację beztlenową. Odzysk energii w ramach procesu w połączeniu z polityką mającą na celu zwiększenie udziału energetyki odnawialnej w bilansie paliwowo-energetycznym kraju sprawia, że opcja ta zyskuje na atrakcyjności. Równocześnie kluczowa staje się konieczność oceny potencjalnych substratów organicznych nie tylko pod kątem ich podatności na biodegradację w warunkach beztlenowych, ale również ich potencjału energetycznego. Jednym z narzędzi umożliwiających oszacowanie wymienionych powyżej parametrów są testy BMP. Testy te stosowane są nie tylko do określenia potencjału produkcji metanu badanego substratu, ale również do oszacowania szybkości

jego degradacji [1, 2]. Jak podają Raposo i inni [3] oraz Li i inni [4], test BMP jest nie tylko prostą i niezawodną procedurą do oszacowania tempa przemiany materii organicznej do metanu, ale również cenną techniką do oceny potencjalnych substratów dla fermentacji, a także do optymalizacji pracy projektowanych i funkcjonujących komór fermentacyjnych. Warto również podkreślić, że testy BMP mogą być dobrym narzędziem do określenia optymalnego udziału kosubstratów w mieszaninie kofermentacyjnej [5].

Literatura przedmiotu jest bardzo obszerna, a w ostatnich latach widać wyraźny wzrost zainteresowania testami BMP. Świadczy o tym szeroki zakres prac naukowych, w których przedstawiono potencjał metanogeny bardzo zróżnicowanej puli substratów. Mnogość procedur stosowanych do określenia potencjału metanogenego rodzi pytanie dotyczące czynników wpływających na wynik tych testów, ich powtarzalność, a w dalszej kolejności na możliwość porównywania rezultatów testów uzyskiwanych w różnych laboratoriach przy zastosowaniu różnorodnych procedur. Analizując dane literaturowe, można stwierdzić, że planując doświadczenie mające na celu zbadanie potencjału metanogenego testowanych substratów, należy wziąć pod uwagę szereg czynników. Do najważniejszych należą: rodzaj substratu, wielkość cząstek, źródło pochodzenia *inoculum* i jego aktywność, rodzaj medium fermentacyjnego, warunki prowadzenia eksperymentu (np. mieszanie, pojemność reaktora, skład fazy gazowej nad roztworem itp.) i iloraz *inoculum* do wsadu [1, 4, 6, 7].

1. Czynniki wpływające na wynik testu BMP

1.1. Medium fermentacyjne

Odpowiednio dobrane medium fermentacyjne ma za zadanie zapewnić optymalne warunki do rozwoju mikroorganizmów poprzez dostarczenie niezbędnych dla ich rozwoju nutrientów, makro- i mikroskładników, a w przypadku niektórych substratów również witamin [6, 8]. Zaleca się stosować syntetyczne media w przypadkach, w których brak jednego z komponentów mógłby prowadzić do zahamowania wzrostu mikroorganizmów (tab. 1). Media takie nie zawierają znaczących ilości węgla organicznego, lecz głównie składniki mineralne. W tabeli 2 zestawiono skład najczęściej stosowanych w badaniach wg danych literaturowych syntetycznych mediów fermentacyjnych. Prowadzono również testy BMP, w których zamiast syntetycznego medium stosowana była woda destylowana [9] lub wodociągowa [10]. Niezależnie od charakteru medium fermentacyjnego bardzo często dodawany jest do niego wodorowęglan sodu, który ma za zadanie zapobiec nadmiernemu obniżaniu pH w medium, ponieważ związek ten pełni funkcję buforującą [11].

Tabela 1. Niezbędne do wzrostu mikroorganizmów składniki syntetycznych mediów fermentacyjnych [1, 12]

Table 1. The main components of synthetic medium indispensable for microbial growth

Komponent	Funkcja	Źródło związku w medium
Azot	Główny składnik kwasów nukleinowych i aminokwasów	NH ₄ Cl, (NH ₄) ₂ SO ₄ , N ₂ , KNO ₃
Fosfor	Składnik kwasów nukleinowych i fosfolipidów	(NH ₄) ₂ HPO ₄ , KH ₂ PO ₄
Siarka	Składniki białek cysteiny i metioniny, witamin, takich jak: tiamina, biotyna, kwas liponowy, koenzymy	Na ₂ SO ₄ , KHSO ₄ , Na ₂ S ₂ O ₃ , Na ₂ S, cysteina itp.
Potas	Stosowany przez kilkanaście enzymów	KCl, KH ₂ PO ₄
Magnez	Stabilizuje rybosomy, błony komórkowe i kwasy nukleinowe, aktywuje wiele enzymów kinaz i fosfotransferaz	MgCl ₂ , MgSO ₄
Sód	Niezbędny dla wielu enzymów	NaCl
Wapń	Stabilizuje komórki bakterii, ważny dla stabilizacji endosporów	CaCl ₂
Żelazo	Obecne w cytochromach	FeCl ₃ , FeSO ₄ , żelazo chelatowane (np. kompleks z EDTA)
Mikroskładniki	np. Ni - synteza koenzymu A, kofaktor ureazy, Zn - stymuluje wzrost komórek, kofaktor polimeraz RNA i DNA, Co - aktywator enzymów, wymagany do syntezy witaminy B12	Sole: Cr, Co, Cu, Mn, Mo, Ni, Se, V, Zn
Czynniki wzrostu	Wymagane w niskich stężeniach	Witaminy, aminokwasy, puryny i pirymidyny

1.2. Inoculum

Pierwszym z kryteriów wpływającym na wynik testów BMP (tab. 2), jakie należy uwzględnić w przypadku omawianego czynnika, jest źródło jego pochodzenia, a co za tym idzie, stan jego aklimatyzacji i adaptacji do testowanego materiału. Niezależnie od źródła pochodzenia stosowane w teście *inoculum* powinny być homogeniczne i reprezentatywne dla reaktora, z którego go pobrano, co więcej, jak podają Angelidaki i inni [6], nie powinno być przemywane celem usunięcia z niego substancji rezydualnych i nieorganicznych związków węgla. Zalecenie to jest sprzeczne z wcześniejszymi wytycznymi podanymi w normie ISO 11734 (1995) [1, 6].

Najczęściej rolę *inoculum* pełnią osady przefermentowane pobierane z komór fermentacyjnych oczyszczalni ścieków komunalnych, co związane jest z ich dostępnością i obecnością w nim aktywnych metabolicznie zespołów mikroorganizmów [1, 3, 13, 22]. Niemniej, w pewnych przypadkach stosowane są inne rodzaje *inoculum* niż wspomniany fermentat.

Tabela 2. Składniki mediów fermentacyjnych stosowanych w testach BMP

Table 2. Composition of synthetic media used in BMP tests

Skład	Źródło
(NH ₄) ₂ HPO ₄ , CaCl ₂ ·2H ₂ O, NH ₄ Cl, MgCl ₂ ·6H ₂ O, KCl, MnCl ₂ ·4H ₂ O, CoCl ₂ ·6H ₂ O, H ₃ BO ₃ , CuCl ₂ ·2H ₂ O, Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O, ZnCl ₂ , FeCl ₂ ·H ₂ O, Na ₂ S·9H ₂ O, NaHCO ₃ , kwas foliowy, witamina B12, witamina B6, ryboflawina, tiamina, kwas nikotynowy, kwas p-aminobenzoesowy, B5, kwas liponowy, resazurin	[13]
NH ₄ Cl, NaCl, MgCl ₂ ·6H ₂ O, CaCl ₂ ·2H ₂ O, K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O, FeCl ₂ ·4H ₂ O, H ₃ BO ₃ , ZnCl ₂ , CuCl ₂ ·2H ₂ O, MnCl ₂ ·4H ₂ O, (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O, AlCl ₃ , CoCl ₂ ·6H ₂ O, NiCl ₂ ·6H ₂ O, EDTA, steż. HCl, Na ₂ SeO ₃ ·5H ₂ O, biotyna, kwas foliowy, witamina B6, ryboflawina, tiamina, kwas nikotynowy, witamina B12, kwas p-aminobenzoesowy, witamina B5, kwas liponowy, resazurin, Na ₂ S·9H ₂ O, NaHCO ₃ , cysteina-HCl	[6]
K ₂ HPO ₄ , NH ₄ Cl, MgCl ₂ ·6H ₂ O, CaCl ₂ ·2H ₂ O, FeCl ₂ ·4H ₂ O, MnCl ₂ ·4H ₂ O, H ₃ BO ₃ , ZnCl ₂ , CuCl ₂ , Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O, CoCl ₂ ·6H ₂ O, NiCl ₂ ·6H ₂ O, Na ₂ SeO ₃ , NaHCO ₃ , Na ₂ S·9H ₂ O	[14]
K ₂ HPO ₄ , NH ₄ Cl, CaCl ₂ ·2H ₂ O, MgCl ₂ ·6H ₂ O lub MgSO ₄ ·7H ₂ O, FeCl ₃ ·6H ₂ O, CoCl ₂ ·6H ₂ O, MnCl ₂ ·4H ₂ O, ZnCl ₂ , NiCl ₂ , Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O, CuCl ₂ ·2H ₂ O, Na ₂ WO ₄ ·2H ₂ O	[15]
NH ₄ Cl, MgSO ₄ ·7H ₂ O, KCl, Na ₂ S·9H ₂ O, CaCl ₂ ·2H ₂ O, (NH ₄) ₂ HPO ₄ , FeCl ₂ ·4H ₂ O, CoCl ₂ ·6H ₂ O, KI, MnCl ₂ ·4H ₂ O, CuCl ₂ ·2H ₂ O, ZnCl ₂ , AlCl ₃ ·6H ₂ O, NaMoO ₄ ·2H ₂ O, H ₃ BO ₃ , NiCl ₂ ·6H ₂ O, NaWO ₄ ·2H ₂ O, Na ₂ SeO ₃ , cysteina, NaHCO ₃	[16]
Resazurin, FeCl ₂ ·4H ₂ O, NH ₄ Cl, Na ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O, NaH ₂ PO ₄ , NaHCO ₃ , MgCl ₂ ·6H ₂ O, tryptozyna, ekstrakt drożdżowy, H ₂ O, FeS/CaCl ₂ , AlCl ₃ ·6H ₂ O, CoCl ₂ ·6H ₂ O, CuCl ₂ ·2H ₂ O, MnCl ₂ ·4H ₂ O, H ₃ BO ₃ , Na ₂ WO ₄ ·2H ₂ O, Na ₂ SeO ₃ , (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O, ZnCl ₂ , NiCl ₂ ·6H ₂ O	[8]
KH ₂ PO ₄ , Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O, NH ₄ Cl, CaCl ₂ ·2H ₂ O, MgCl ₂ ·6H ₂ O, FeCl ₂ ·4H ₂ O, Na ₂ S·9H ₂ O, resazurin	[17]
FeCl ₂ ·4H ₂ O, CoCl ₂ ·6H ₂ O, MnCl ₂ ·4H ₂ O, CuCl ₂ ·2H ₂ O, ZnCl ₂ , H ₃ BO ₃ , (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O, Na ₂ SeO ₃ ·5H ₂ O, AlCl ₃ ·6H ₂ O, NiCl ₂ ·6H ₂ O, EDTA, resazurin	[18]
NH ₄ Cl, K ₂ HPO ₄ , MgSO ₄ ·H ₂ O, CaCl ₂ ·2H ₂ O, ekstrakt drożdżowy, FeCl ₂ ·4H ₂ O, H ₃ BO ₃ , ZnCl ₂ , CuCl ₂ ·2H ₂ O, MnCl ₂ ·4H ₂ O, (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O, AlCl ₃ ·6H ₂ O, CoCl ₂ ·6H ₂ O	[19]
FeCl ₂ ·4H ₂ O, ZnCl ₂ , MnCl ₂ ·4H ₂ O, H ₃ BO ₃ , CoCl ₂ ·6H ₂ O, CuCl ₂ ·2H ₂ O, NiCl ₂ ·6H ₂ O, Na ₂ SeO ₃ ·5H ₂ O, Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O, Na ₂ WO ₄ ·2H ₂ O	[20]
NaHCO ₃ , KH ₂ PO ₄ , K ₂ HPO ₄ , CaCl ₂ ·2H ₂ O, MgCl ₂ ·6H ₂ O, NH ₄ Cl	[21]

Raposo i inni [22] w obszernej pracy porównującej wyniki testów BMP z kilkunastu laboratoriów obok osadów przefermentowanych z oczyszczalni ścieków komunalnych jako źródło zaszczepu wymieniają obornik oraz osady wytwarzane lub stosowane (osady granulowane) do oczyszczania ścieków w następujących gałęziach przemysłu: browarniczy, ziemniaczany, papierniczy, produkcji napojów bezalkoholowych, rolno-spożywczy, gorzelniczy. Ciekawe badania w omawianym zakresie przeprowadził Neves ze współautorami [23]. Ocenili oni możliwość zastosowania jako zaszczepu osadów zawieszonych i granulowanych. Pierwsze pochodziły z komór fermentacyjnych, drugie z reaktora UASB, w którym oczyszczano ścieki z browarów. Wyniki przeprowadzonych testów wykazały, że granulowane osady znacznie lepiej niż zawieszone zapobiegają zakwaszeniu środowiska w trakcie beztlenowej, okresowej biodegradacji odpadów kuchennych.

Jednym z najważniejszych parametrów w testach okresowych, często jednak pomijanym w pracach badawczych, jest proporcja *inoculum* do substratu. Iloraz ten w literaturze anglojęzycznej często jest oznaczany jako ISR lub I/S (ang. *inoculum to substrate ratio*), czasem podawana jest odwrotna zależność, opisywana jest ona wtedy symbolem *S/X* (ang. *waste to inoculum ratio*) [5, 23]. Wartość ilorazu może być podana w przeliczeniu na suchą masę, suchą masę organiczną lub chemiczne zapotrzebowanie na tlen; z wymienionych najczęściej stosowany jest sposób drugi [22].

Wpływ omawianego ilorazu na wynik testu BMP nie jest jednoznaczny. Teoretycznie nie powinien on wpływać na wartość współczynnika produkcji metanu/biogazu, a jedynie na kinetykę procesu, w tym na długość lag fazy (ulega skróceniu wraz ze wzrostem wartości I/S) [5, 24]. Tezę tę potwierdzają m.in. badania Chynowetha i innych [25]. Wymienieni autorzy, badając wpływ ISR na rozkład celulozy, odnotowali, że wartości produkcji metanu były porównywalne, ale już tempo produkcji gazu było nieznacznie wyższe dla wyższych wartości ilorazu. Zjawisko to jest tłumaczone wyższym stężeniem lotnych kwasów tłuszczowych w próbach z najniższym I/S.

Każdy substrat ma optymalną charakterystyczną dla siebie wartość współczynnika I/S, a jego wartość jest swoistym kompromisem pomiędzy endogenną produkcją biogazu *inoculum*, akceptowalną długością lag fazy i pojemnością buforową. Najczęściej wartość ilorazu zawarta jest w przedziale od 1 do 3 [24]. Przykładowo, w laboratoriach biorących udział w projekcie badawczym opisanym w pracy Raposo i innych [22] test BMP prowadzony był dla skrobi i celulozy przy ISR na poziomie 2 (w przeliczeniu na s.m.o), a dla żelatyny na poziomie 3. Natomiast Luostarinen i inni [9] realizowali testy BMP dla osadów ściekowych i ich mieszanin z odpadem tłuszczowym przy I/S równym 1. Analogiczna wartość ilorazu jest zalecana w procedurze opisanej przez Owena i współpracowników [13]. Również Neves i inni [23] wskazują, że najczęściej wartość współczynnika I/S kształtuje się na poziomie 1, przy czym w przypadku słabo podatnych na degradację substratów jego wartość na ogół bywa zwiększona do 2. Z kolei badania Labatuta i innych [26] oraz Hashimoto [27] pozwoliły na wytypowanie minimalnej wartości ISR, jaka jest wymagana podczas beztlenowej degradacji odpowiednio obornika bydlęcego (> 3 g s.m.o./l) i słomy z pszenicy (10÷40 g s.m.o./l). W opisanych przypadkach niezależnie od substratu wartość I/S wynosiła 0,5. Natomiast González-Fernández i Garcia-Encina [28] uznali za optymalną dla gnojowicy świńskiej wartość I/S na poziomie około 1. Elbeshbishy i współpracownicy [5] zalecają prowadzenie testów BMP w celu ich optymalizacji przynajmniej przy trzech różnych wartościach I/S i dwóch różnych rodzajach zaszczepu.

Kolejną istotną kwestią bezpośrednio związaną z opisanym powyżej współczynnikiem I/S, jaką należy wziąć pod uwagę przy projektowaniu testów BMP, jest objętość dodawanego do komór *inoculum*. Na ilość *inoculum* wpływ mają następujące czynniki: jego aktywność, stężenie biomasy, stężenie substratu i jego podatność na biodegradację. Generalnie obowiązuje zasada, że objętość *inoculum* powinna być tak dobrana, aby zapobiec akumulacji w medium fermentacyjnym lotnych kwasów tłuszczowych, a co za tym idzie, jego zakwaszeniu [6, 29, 30]. Objętość stosowanego

inoculum oszacowana może być w oparciu o wartość współczynnika ISR, może być narzucona stosowaną procedurą badawczą. Przykładowo Owen i inni [13] rekomendują, aby 20% objętości próbki stanowiło *inoculum*, natomiast Kelly i inni [31] zmniejszają jego ilość do 10% (v/v). Minimalna objętość *inoculum*, jaką należy wprowadzić do komór fermentacyjnych, aby zapobiec opisanym wcześniej zjawiskom, może być również wyznaczona matematycznie. W pracy [1] zaproponowano następujący wzór:

$$V_{\text{inoculum}} = \frac{X_{\text{ss}} V_{\text{ww}} k_h}{VSS_{\text{inoculum}} SMA_{\text{inoculum}}}$$

gdzie:

X_{ss} - stężenie substancji ulegającego hydrolizie w testowanym substracie, g/l,

V_{ww} - objętość testowanej substancji w zbiorniku pomiarowym, l,

k_h - stała szybkości reakcji hydrolizy, 1/d,

VSS_{inoculum} - stężenie zawiesiny organicznej w *inoculum*, g/l,

SMA_{inoculum} - specyficzna aktywność metanogenna, g CH_4 -COD/g organicznej zawiesiny · d.

Powyższe równanie w przypadku substratów bogatych w związki organiczne zawarte w fazie ciekłej można odpowiednio zmodyfikować pod kątem obecności w nich ChZT [6].

Nieco inny sposób obliczenia ilości *inoculum* oraz substratu, jaki należy dostarczyć do reaktora, w którym prowadzone będą testy BMP, proponuje Moody [32]. Koncepcja obliczeń wspomnianego autora bazuje na założeniu, że z rozkładu 1 g ChZT można uzyskać 395 ml metanu. Schemat obliczeń przedstawiony przez Moody składa się z następujących etapów:

1. Przyjęcie założenia o objętości metanu/biogazu, jaki zostanie wytworzony podczas testu BMP - autor rekomenduje zakres od 100 do 150 ml metanu/butelkę lub 165÷250 ml biogazu przy 60% udziale w nim metanu - do dalszych obliczeń założono, że w wyniku testu sumaryczna produkcja metanu wyniesie 125 ml.
2. Oszacowanie ilości ChZT niezbędnej do wytworzenia założonej objętości metanu (zakłada się 70% wydajności przetwarzania ChZT):

$$125 \text{ ml CH}_4 \cdot \frac{1 \text{ mg ChZT}}{0,395 \text{ ml CH}_4} \cdot 70\% = 221,5 \text{ mg ChZT}$$

3. Obliczenie masy substratu niezbędnej do uzyskania założonej produkcji metanu:

$$221,5 \text{ mg ChZT} \cdot \frac{1000 \text{ ml}}{X \text{ mg ChZT}} = Y \text{ ml substratu}$$

$$Y \text{ ml substratu} \cdot \frac{Z \text{ mg s.m.o.}}{1000 \text{ ml}} = A \text{ mg s.m.o.}$$

gdzie:

X - ChZT w substracie,

Y - objętość substratu niezbędna do uzyskania założonej produkcji metanu,

Z - zawartość s.m.o. w substracie,

A - masa substratu niezbędna do uzyskania założonej produkcji metanu.

4. Obliczenie objętości *inoculum*, jaką należy wprowadzić do reaktora; założenie:

$$1 \text{ g s.m.o.}_{\text{inoculum}} / 1 \text{ g s.m.o.}_{\text{substrat}}$$

$$\text{inoculum ml} = \frac{Y \text{ ml substratu} \cdot Z \text{ mg s.m.o./l}}{B \text{ mg s.m.o./l}} = C \text{ ml inoculum}$$

$$C \text{ ml inoculum} \cdot \frac{B \text{ mg s.m.o.}}{1000 \text{ ml}} = D \text{ mg s.m.o. inoculum}$$

gdzie:

B - zawartość s.m.o. w *inoculum*,

C - objętość *inoculum*, jaką należy wprowadzić do reaktora, aby iloraz $\text{s.m.o.}_{\text{inoculum}} / \text{s.m.o.}_{\text{substrat}}$ wynosił 1:1,

D - masa *inoculum*, jaką należy wprowadzić do reaktora, aby iloraz $\text{s.m.o.}_{\text{inoculum}} / \text{s.m.o.}_{\text{substrat}}$ wynosił 1:1.

Kolejnym istotnym punktem, jaki należy uwzględnić w przypadku *inoculum*, jest kwestia jego odgazowania. Działanie to polega na jego wstępnej inkubacji w temperaturze, w której prowadzony był proces, z którego pobrano *inoculum*. Zdania w tej materii są podzielone. Na ogół działanie to jest rekomendowane. Według zwolenników koncepcji wstępna inkubacja pozwala na zmniejszenie w *inoculum* zawartości „resztkowej” (pozostającej po fermentacji) biodegradowalnej frakcji. Efektem inkubacji *inoculum* jest obniżenie niespecyficznego produkcji biogazu, a w konsekwencji zmniejszenie jego wpływu na ostateczny wynik testu, dzięki czemu zwiększa się precyzja pomiaru produkcji gazu netto testowanego substratu [3]. Najczęściej stosowana jest inkubacja 1-18-dniowa, z optimum w przedziale od 2 do 7 dób [4, 7]. Wydłużenie czasu wstępnej inkubacji powyżej rekomendowanego zakresu może być wymagane dla *inoculum* charakteryzujących się wysoką zawartością substancji rezydualnych, jak to ma miejsce na przykład dla *inoculum* pochodzącego z reaktorów zasilanych wsadem o wysokiej zawartości tłuszczów i olejów [1, 6]. Przykładowo, Stergar i Končan [33], przygotowując *inoculum* do testów BMP, inkubowali je przez siedem dni w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$.

Według Elbeshbishy i innych [5], wstępna inkubacja nie oferuje żadnych zalet w porównaniu do prób zaszczepionych osadami „nieodgazowanymi”. Autorzy nie stwierdzili istotnego statystycznie wpływu wstępnego przygotowania *inoculum* na wartość współczynnika produkcji biogazu. Analogiczny wniosek przedstawili Li i współpracownicy [4]. Wstępna inkubacja według autorów była czasochłonna (trwała 21 dni). Jednak, jak podkreślają autorzy, wstępna inkubacja może poprawić nie tylko oszacowanie netto współczynnika produkcji metanu, ale również parametrów kinetycznych procesu.

Do oszacowania wpływu *inoculum* na wartość współczynnika produkcji metanu testowanych substratów stosowany jest najczęściej test kontrolny (*blank assay*). Polega on na inkubacji *inoculum* w medium fermentacyjnym lub wodzie bez

dotatku substratu. Uzyskana w takiej próbie dla *inoculum* produkcja metanu w dalszej kolejności odejmowana jest od wyników otrzymanych dla badanych materiałów [5, 6]. Nieco inna droga postępowania została zaproponowana w niemieckich wytycznych. Zakłada się w nich, że pięciodniowa wstępna inkubacja *inoculum* „wyczerpuje” jego potencjał metanogeny, a co za tym idzie, nie ma potrzeby jego dalszej inkubacji w trakcie właściwego testu. Działanie takie eliminuje, w przeciwieństwie do wcześniej opisanego postępowania, konieczność prowadzenia równoległe prób dla *inoculum* i testowanych substratów [5].

Na wynik testów BMP wpływa również aktywność stosowanego *inoculum*. Analogicznie jak w przypadku współczynnika ISR, kwestii tej poświęca się niewiele uwagi w literaturze. Jak podają Neves i inni [23], poprzez zastosowanie wysoce reaktywnego zaszczepu można uzyskać skrócenie czasu trwania eksperymentu oraz zmniejszenie objętości wymaganego *inoculum*, a w konsekwencji obniżenie objętości komór fermentacyjnych. Oszacowanie aktywności różnych troficznych grup w bioreaktorze polega na pomiarze współczynnika produkcji metanu uzyskiwanego podczas degradacji modelowych substancji (tab. 3). W przypadku rozkładu kwasu octowego dla osadów zawieszonych i granulowanych minimalna specyficzna aktywność *inoculum* powinna wynosić odpowiednio 0,1 i 0,3 g CH₄-COD/g organicznej zawiesiny · d [6].

Tabela 3. Substancje stosowane do oceny aktywności różnych grup troficznych [6]

Table 3. Substances used for determination of activity of different trophic groups [6]

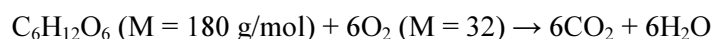
Populacja	Substancja referencyjna
Bakterie hydrolityczne	Amorficzna celuloza, 1 g/l
Bakterie acidogenne	Glukoza, 1 g/l
Bakterie proteolityczne	Kazeina, 1 g/l
Bakterie acetogenne	Kwas propionowy, 0,5 g/l; kwas n-masłowy 0,5 g/l
Metanogeny acetotroficzne	Kwas octowy, 1 g/l
Hydrogenotrofy	Nadciśnienie 1 atm, mieszanina wodoru/dwutlenku węgla 80/20%

1.3. Substrat

Substrat, dla którego oszacowywany jest potencjał metanogeny, powinien być bardzo dobrze scharakteryzowany. Obligatoryjnie należy oznaczyć w nim suchą masę, suchą masę organiczną, ChZT, azot i fosfor. Należy podkreślić jednak, że w przypadku odpadów o niskim pH, takich jak np. zagniwające odpady kuchenne, podczas oznaczania stężenia suchej masy może dojść do uwalniania lotnych związków, np. LKT, co może zaniżyć wynik analizy. W takiej sytuacji zaleca się podnieść pH takich odpadów, a w przypadku szczególnie lotnych związków suszyć je maksymalnie w temperaturze 90°C [6].

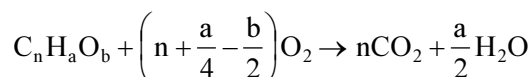
Innymi, nie mniej istotnymi parametrami, jakie należy podać w charakterystyce substratu, zwłaszcza w przypadku roślin energetycznych i odpadów rolniczych, jest zawartość w nich ligniny, celulozy i hemicelulozy [1, 6]. Bardzo często również

podawana jest w jej opisie wartość ilorazu ChZT/s.m.o.; może ona być obliczona na podstawie stechiometrii reakcji całkowitego utleniania przekształcanego związku [1]. Przykładowo, dla glukozy wartość ilorazu wynosi 1,067, a została oszacowana w następujący sposób:



$$\text{ChZT/s.m.o.} = 6 \cdot 32 / 180 = 1,067 \text{ g ChZT/g s.m.o.}$$

Dla materii organicznej opisanej następującym uproszczonym równaniem:



wartość ilorazu jest równa:

$$\frac{\text{ChZT}}{\text{s.m.o.}} = \frac{\left(n + \frac{a}{4} - \frac{b}{2} \right) 32}{12n + a + 16b}$$

Wielkość analizowanej próbki w większości testów jest niewielka. W metodzie opracowanej przez Harriesa i współpracowników [34] wynosi ona 0,5 g, Shelton i Tiedje [14] rekomendują 50 µg C/ml, natomiast Owen i inni [13] oraz Kelly i inni [31] zalecają, aby wynosiła ona odpowiednio < 2 g ChZT/l. Zdecydowanie lepiej jednak w przypadku stałych heterogenicznych odpadów organicznych obraz sytuacji odzwierciedlają próbki o większej masie niż podane. Z dostępnych metod wymóg ten spełniają m.in. procedura GB21 (50 g s.m.), metoda GS90 (1 kg s.m.) oraz BM100 (20 g s.m.o.) [8]. Inną kwestią bezpośrednio związaną z omawianym zagadnieniem jest rozcieńczenie próbki. Odpowiednio dobrane rozcieńczenie zabezpiecza przed przeciążeniem komory fermentacyjnej lub potencjalną inhibicją procesu fermentacji. W testowanych próbkach jego stężenie waha się od 5 do 100% [6].

1.4. Wielkość cząstek

Edelman i inni [35], prowadząc przemysłowe próby w Szwajcarii, wykazali, że rozdrobnienie frakcji owoców i warzyw do rozmiaru 1÷2 mm wymagane jest do otrzymania homogenicznej zawiesiny z osadem wstępnym. Dla tak przygotowanej mieszaniny odnotowano podwyższenie produkcji biogazu oraz wzrost stopnia rozkładu substancji organicznej osadu. Również Palmowski i Müller [36] odnotowali, że zmniejszenie wielkości cząstek pozwala na zwiększenie produkcji biogazu oraz skrócenie technicznego czasu fermentacji w następstwie zwiększenia powierzchni kontaktu między mikroorganizmami a substratem. Także Mshandete i inni [37] odnotowali po rozdrobnieniu włókien sialu z 100 do 2 mm wzrost szybkości produkcji metanu o 22% oraz poprawę degradacji o 125%. Należy jednak pamiętać, że nadmierne rozdrobnienie cząstek może prowadzić do wzrostu stężenia lotnych kwasów tłuszczowych w komorze do poziomu powodującego przeciążenie komory ładunkiem zanieczyszczeń, a w konsekwencji obniżenie efektywności procesu [38].

W testach BMP rozmiar cząstek raczej wpływa na kinetykę procesu niż na wartość potencjału metanogenego [24]. Angelidaki i inni [6] celem zwiększenia powtarzalności wyników testów dla heterogenicznych substratów rekomendują ujednolicenie wielkości cząstek.

1.5. Warunki eksperymentu

1.5.1. Mieszanie

Odpowiednio dobrana intensywność mieszania zapewnia homogeniczność fermentowanej masy, a co za tym idzie, intensyfikuje proces rozkładu biologicznego z uwagi na zapobieganie zarówno stratyfikacji termicznej, jak i powstawaniu w komorze miejsc o nierównym stężeniu produktów metabolizmu mikroorganizmów [39-42]. Jak podkreślają Vavilin i inni [43], mieszanie jest bardzo ważnym parametrem nie tylko z punktu widzenia zbioru danych do oszacowania potencjału metanogenego testowanego substratu, ale również studiów związanych z kinetyką jego rozkładu w warunkach beztlenowych. Wpływ czynnika na proces stabilizacji beztlenowej uzależniony jest od czasu mieszania i jego intensywności [3].

Analogicznie jak w przypadku pozostałych czynników, również w tej kwestii zdania są podzielone. Niektóre z testów BMP prowadzone są z ciągłym mieszaniem, inne z kolei zakładają ich prowadzenie w warunkach statycznych lub ewentualnie mieszanie zawartości komór raz dziennie. Jak podają Angelidaki i inni [6], z pierwszą opcją najczęściej mamy do czynienia w przypadku komór o małej pojemności, podczas gdy z drugą przy realizacji testów BMP w zbiornikach o znacznie większej pojemności. Przykładowo, Luostarinen i inni [9] prowadzili testy w warunkach statycznych, a mieszanie zawartości butelek miało miejsce podczas pomiaru gazu. Natomiast w pracy Raposo i innych [22], w której zestawiono wyniki badań międzylaboratoryjnych dla wybranych trzech grup substratów, przedstawiono szeroką gamę rozwiązań w tym zakresie. Część uczestników badań stosowała system statyczny, pozostali mieszała zawartość komór ręcznie lub za pomocą automatycznych urządzeń, np. mieszadeł magnetycznych.

1.5.2. Czas trwania

Długość trwania testów BMP uznawana jest za ich główną wadę [6, 8]. W zależności od stosowanej procedury badawczej długość trwania testu BMP waha się w szerokim zakresie. Metoda opracowana przez Owena i innych [13] zakłada 30-dniową inkubację, w metodzie Stinsona i Hama czas ten jest wydłużony do 60 dni, a testy GS90 i BM100 prowadzone są przez okres odpowiednio 90 i 100 dni (a nawet dłużej) [8]. Z kolei Hansen i inni [30] stosowali w celu maksymalnego rozkładu materii organicznej 50-dniowy czas inkubacji. Natomiast czas trwania testów BMP w różnych laboratoriach zestawiono w pracy Raposo i innych [22] zawarty był w przedziale od 13 do 87 dób (średnio wynosił 32 d). W literaturze przedmiotu znaleźć również można przykłady znacznie dłuższych okresów inkubacji próbek niż podane wcześniej, przykładowo Lopes i inni [44] prowadzili test

przez 365 dni, Rao i inni [45] oraz Kaparaju i inni [46] realizowali go przez 240 i 155 dni. Z drugiej jednak strony w niektórych testach okresowych stosowano krótki, 7-dniowy czas inkubacji [47].

1.5.3. Skład fazy gazowej nad roztworem

Do przepłukiwania próbek zastosowanie znajdują głównie: azot, mieszanina azotu i dwutlenku węgla, hel oraz powietrze. W badaniach międzylaboratoryjnych przedstawionych w pracy Raposo i innych [22] w 65% przypadków stosowany był azot. Również Luostarinen i inni [9] stosowali w tym celu azot. Natomiast Owen i inni [13], Angelidaki i inni [6] oraz Neves i inni [23] rekomendują do tego mieszaninę azotu i dwutlenku węgla. Pierwsi zalecają stosować mieszaninę o 70% udziale w niej azotu, a dwaj pozostali o 80% zawartości wymienionego gazu. Należy jednak podkreślić, że analiza danych wykonana przez Raposo i innych [22] wyraźnie wskazuje, że skład fazy gazowej nie ma istotnego statystycznego wpływu na wyniki testów BMP.

1.5.4. Temperatura

Generalnie testy BMP prowadzone są w warunkach mezofilowych. Temperatura inkubacji zawarta jest w przedziale od 35 do 41°C. Sporadycznie testy wykonywane są w warunkach termofilowych [22]. Przykładowo, Hansen i inni [30] określili potencjał metanogenny wybranych stałych odpadów organicznych (m.in. olej spożywczy (rzepakowy), tłuszcz wieprzowy, torby papierowe do gromadzenia organicznych odpadów), inkubując je w temperaturze 55°C.

1.5.5. Objętość komory

Całkowita objętość reaktorów stosowanych w testach BMP waha się w szerokim zakresie od 0,1 do 120 l. Jednakże najczęściej stosowane są zbiorniki o objętości mniejszej niż 1 l [3]. Natomiast Angelidaki i inni [6] zawężają ten zakres do przedziału od 100 ml do 2 litrów. Obie uwagi pokrywają się z danymi zamieszczonymi w pracy Raposo i innych [22], w której zestawiono procedury wykonywania testów BMP w kilkunastu laboratoriach. Według tych autorów, najczęściej stosowanymi objętościami czynnymi reaktorów są 100 i 500 ml.

1.5.6. Metoda pomiaru objętości wytworzonego w procesie biogazu

Do pomiaru wytwarzanego w trakcie testu BMP biogazu stosowane są trzy główne grupy metod, a mianowicie: a) metoda wyporu cieczy przez wydzielający się gaz, b) metoda manometryczna, c) metody chromatograficzne [1, 6, 8].

Metoda manometryczna bazuje na pomiarze zmian ciśnienia w zbiorniku o znanej objętości. Wytwarzany w trakcie przemian biochemicznych biogaz jest proporcjonalny do obserwowanej w komorze wartości nadciśnienia. Stosując równanie gazu doskonałego, szybko i łatwo można obliczyć objętość biogazu w warunkach standardowych. Wymaga to jednak dokładnej analizy otrzymanego w teście

biogazu. Największa trudność w dokładnym oszacowaniu produkcji gazu w tej metodzie związana jest z rozpuszczalnością dwutlenku węgla w medium fermentacyjnym, którego stopień zależy od ciśnienia, pH medium, stosunku fazy gazowej do ciekłej, temperatury oraz złożonej równowagi termodynamicznej pomiędzy gazem a węglanami i wodorowęglanami wapnia i magnezu [3].

W porównaniu do metody wyporu metody chromatograficzne, jak podają Soto i inni (cytowane za [1]), są bardziej dokładne dla substratów, dla których uzyskiwana jest niska produkcja metanu. Wspomniane metody w zależności od stosowanego detektora dzielone są na dwie grupy: GC z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID) oraz GC z detektorem termokonduktometrycznym (TCD). W metodzie pierwszej porównuje się powierzchnię pików analizowanej próbki z pikami otrzymanym po nastrzyknięciu standardu o znanej procentowej zawartości metanu. Rzeczywista objętość metanu w analizowanej próbce równa jest iloczynowi zawartości metanu (w %) i objętości fazy gazowej [6]. Z kolei w metodzie drugiej pomiar składu biogazu wykonywany jest w oparciu o analizę zmian przewodnictwa elektrycznego wokół termoelementu. Wielkość zmian przewodnictwa cieplnego jest wprost proporcjonalna do stężenia analizowanych składników biogazu. Jak podają Angelidaki i Sanders [1], regularnie pobierając próbki oraz stosując referencyjny gaz (np. azot, hel) w fazie gazowej nad roztworem, można oszacować ilość metanu w oparciu o ułamek molowy tego gazu w przestrzeni nad medium fermentacyjnym.

Pobór próbek w metodach chromatograficznych wykonywany jest przy użyciu strzykawk wyposażonych w blokadę ciśnienia, co umożliwia pobór gazu niezależnie od ciśnienia panującego w reaktorze. Niewielka objętość pobieranej próbki gazu (np. 100 μ l) nie wpływa w istotny sposób na zmiany ciśnienia fazy gazowej w trakcie testu. Potwierdzają to między innymi badania Hansena i innych [30], w których każdorazowo pobierano 0,2 ml gazu, łącznie objętość gazu pobrana w czasie pełnego testu stanowiła około 0,7% całkowitej objętości fazy gazowej nad roztworem.

Do pomiaru biogazu opisanymi metodami stosowana jest szeroka gama urządzeń. Zastosowanie znajdują m.in. manometry, przetworniki ciśnienia, niskociśnieniowe przepływomierze, urządzenia wchodzące w skład systemów mierzących objętość gazu metodą wyporu, np. eudiometr. W ofercie handlowej dostępne są specjalistyczne urządzenia, które z powodzeniem mogą być zastosowane w metodzie manometrycznej, na przykład zestaw OxiTop® Control AN niemieckiej firmy WTW GmbH.

1.5.7. pH i zasadowość

Optymalny zakres pH dla większości przemian prowadzonych w warunkach beztlenowych (np. konwersja LKT do metanu i dwutlenku węgla) zawarty jest w przedziale od 6,8 do 7,4 [39, 40, 42]. Raposo i inni [22] zalecają prowadzić testy okresowe przy pH w zakresie od 7 do 7,8. Jeżeli pH badanej próbki nie mieści się w podanym przedziale, należy je skorygować wodorotlenkiem sodu, wapnia lub kwasem solnym.

Optymalny dla mezofilowej fermentacji zakres zasadowości zawarty jest w przedziale $1500 \div 3000 \text{ mg CaCO}_3/\text{dm}^3$. Jeżeli nie wystąpią zakłócenia w procesie w postaci nadmiernej produkcji LKT, to zasadowość w podanym zakresie pozwala utrzymać pH na stałym poziomie, dzięki neutralizacji środowiska. Wyższa zawartość związków zasadowych jest niekorzystna i może prowadzić do wytrącania węglanu wapnia [40, 42]. W pracy Raposo i innych [22], w której zestawiono procedury wykonywania testów BMP w kilkunastu laboratoriach, w 41% placówek różne stężenia wodorowęglanu sodu były dodawane do medium w celu zwiększenia pojemności buforowej systemu. Przez długi czas również w tym samym celu dozowano do medium fermentacyjnego fosforany i difosforany. Jednak najnowsze doniesienia literaturowe podważają istotę tego działania, wskazują bowiem na inhibujące działanie buforu fosforanowego na test BMP [3].

2. Potencjał metanogeny

Potencjał metanogeny badanego substratu organicznego może być podawany w przeliczeniu na ilość odpadu ($1 \text{ CH}_4/\text{kg}$ odpadów), jego objętość ($1 \text{ CH}_4/\text{l}$ odpadów), na zawartość w nim suchej masy organicznej ($1 \text{ CH}_4/\text{kg}$ s.m.o.) lub ChZT ($1 \text{ CH}_4/\text{kg}$ ChZT). Wymagane jest, aby objętość wytworzonego metanu została przeliczona na warunki standardowe (1 atm , 0°C) [1, 22]. Można również oszacować teoretycznie wielkość produkcji biogazu korzystając z poniższych wzorów [1]:

$$B_{\text{Teor}} = \frac{\left(\frac{n}{2} + \frac{a}{8} - \frac{b}{4}\right) 22,4}{12n + a + 16b} \left(1 \text{ CH}_4 / \text{g s.m.o.}\right)$$
$$B_{\text{Teor}} = \frac{\left(\frac{n}{2} + \frac{a}{8} - \frac{b}{4}\right) 22,4}{\left(n + \frac{a}{4} - \frac{b}{2}\right) 32} \left(1 \text{ CH}_4 / \text{g ChZT}\right)$$

3. Stosowane procedury

Pierwszą procedurę przeprowadzenia testu BMP opracowali Owen i współpracownicy [13] w 1979 roku. Od tamtego momentu stworzono wiele zróżnicowanych algorytmów postępowania przy określaniu potencjału metanogenego. Część z nich została opublikowana w postaci norm ISO, które generalnie dzielą się na dwie grupy: pierwsza zajmuje się definicją beztlenowej biodegradacji związków chemicznych lub tworzyw sztucznych (ISO 14853-1999; ASTM D 5511-1994, ASTM 5210-1992; ASTM E 2170-2001; ISO 15473-2002 i inne), podczas gdy druga grupa dotyczy biodegradacji złożonych substratów organicznych i produkcji biogazu (ISO 11734-1995, ISO/DIS 14853-1999; PL Agencja Ochrony Środowiska 2005 i inne) [6].

W tabeli 4 przedstawiono procedury, jakie zastosowano do określenia potencjału metanogenego różnych grup odpadów.

Tabela 4. Zestawienie procedur stosowanych do określenia potencjału metanogenego odpadów organicznych
 Table 4. Juxtaposition of methods for the determination of biochemical methane potential of solid organic wastes

Substrat	Warunki operacyjne			Rodzaj <i>inoculum</i>	Medium synt.	Uwagi dotyczące przygotowania próbki oraz warunków operacyjnych testów	Metoda pomiaru biogazu	Źródło
	Temp. °C	V reaktora (czynna) l	Długość testu d					
1	2	3	4	5	7	8	9	10
glicerol	35±1	1 (0,75)	Do obniżenia produkcji metanu < 5 ml/d	BD	–	Przeplukiwanie azotem	W	[48]
SOO ¹	55	2 (0,5)	50	BD	–	Do 400 ml <i>inoculum</i> wprowadzono 100 ml próbki, następnie butelkę przeplukiwano przez 2 minuty mieszaniną azotu i dwutlenku węgla (80/20%)	Ch	[30]
KW	37	(0,4)	21	2	–	Do 300 ml <i>inoculum</i> dodano odpady, po czym uzupełniono wodą wodociągową próbkę tak, aby uzyskać objętość czynną reaktora na poziomie 400 ml	gazomierz	[10]
Torf	35	(0,25)	30	1	Tak (Owen)	Przeplukiwanie (0,5 l/min) przez 15 minut mieszaniną azotu i dwutlenku węgla (70/30%)	W	[13]
WVO	35	1 (0,3)	42	0,45÷0,55 ²	Tak ⁴	Przeplukiwanie azotem przez 3 minuty	Ch	[49]
Związki chemiczne ⁵	35	0,16	56	BD	Tak (Shelton)	–	M	[14]
OS Mieszanina OS i OT	35	0,118 (0,06)	60	1	–	Korekta pH do 7,0	Ch	[9]
Selektywnie zbierana OFMSW, OS i ich mieszanina	37	1 faza: 0,5 (0,4) 2 faza: 1,6 (0,4)	30	3 ^{OPMSW} 1, 1,5, 2 oraz 3 ^{OS}	–	Butelki przeplukiwane azotem, brak korekty pH, frakcję odpadów komunalnych zmieszono, następnie rozcieńczono wodą (3÷4,5% s.m.) i rozdrobniono do wielkości cząstek < 10 mm	BD	[50]
FW	50	1 (0,5)	28	0,4÷0,6	–	Przeplukiwanie helem, mieszanie ręczne raz na dobę	W	[51]
OS, mieszanina OS i OT	35	2 (–)	ok. 35	–	–	–	Ch	[52]
Odpady bawełniane ⁷	35	0,25 (0,1)	23	–	Tak	Przeplukiwanie mieszaniną azotu i dwutlenku węgla (75/25%), dodatek wodorowęglanu sodu	W	[16]

Słoma	35	0,119 (0,05)	150	0,03÷11	OB	-	Przeplukiwanie azotem	W	[27]
Kukurydza DMC	38	1	45	2 (s.m.) 7 (s.m.)	BEC	-	Ciągłe mieszanie próbki 10 s/10 min; kukurydzę rozdrobniono do wielkości cząstek 0,5÷3 mm	W	[53]
BRE	35	2 (1,5)	Ok. 150	-	KFR	-	Przeplukiwanie azotem, mieszanie ręczne raz na dobę, dodatek wodorowęglanu sodu	W	[54]
Odpady włókna sizalu	33	1 (0,6)	65	0,35	SWS	-	Przeplukiwanie azotem, mieszanie ręczne 2 razy na dobę	W	[37]
Odpady komunalne	38	220 (110)	20÷40		SBOS	Tak (Owen)	dodatek wodorowęglanu sodu, mieszanie 290 rpm, frakcja zmielona do wielkości cząstek 2 mm	W	[55]
OB, FW	35	1 (0,5)	30	1	OFMSW ⁸	-	Przeplukiwanie helem, mieszanie ręczne raz na dobę	M	[56]
Pszonica ozima	35	1 (1,5)	96	2	F	Tak (Gonzalez-Gil)	Mieszanie ciągłe 300 rpm, próbki zmielono do wielkości cząstek 0,5÷1,5 cm	W	[57]
Stale odpady z ziemniaków ⁹	37	0,5 (0,3)	50	0,15÷5,4	F	-	Przeplukiwanie mieszaniną azotu i dwutlenku węgla (80/20%), mieszanie ciągłe 70 rpm	W	[58]
Warzywa	35	1 (0,6)	40	2	DPS	Tak (Owen)	Przeplukiwanie azotem, mieszanie ręczne, dodatek wodorowęglanu sodu	M (OxiTop)	[59]
ABP	55	0,5/2 (0,25)	30÷40	-	Obornik przeferm.	Tak (Angelidaki)	Przeplukiwanie mieszaniną azotu i dwutlenku węgla (80/20%), wielkość cząstek odpadów 2 mm	BD	[60]
Odpady zielone, FW	35/50	1 (0,6)	25	0,3	F	-	Przeplukiwanie helem, mieszanie ręczne raz na dobę	M	[61]
Makuch słonecznikowy	35	0,3 (0,25)	7	0,5÷3	GO (UASB) ¹⁰	Tak (Raposo)	Przeplukiwanie azotem, mieszanie ciągłe 40 rpm, dodatek wodorowęglanu sodu, wielkość cząstek odpadów 2 mm	W	[47]
Kiszonka z kukurydzy	35	2 (1)	30	1,5	BR	Tak (Pobeheim)	Mieszanie ręczne osiem razy na dobę po 15 s	W	[20]
FW	50	1 (0,5)	28	0,4÷0,6	F	-	Przeplukiwanie helem, mieszanie ręczne raz na dobę	W	[51]
Kukurydza pastewna	35	(5)	20	1÷3	F	Tak (Raposo)	Przeplukiwanie mieszaniną azotu i dwutlenku węgla (80/20%), mieszanie ręczne dwa razy na dobę	W	[19]
Glony	35	0,25 (0,12)	30	0,5÷2	OB. przeferm.	-	Przeplukiwanie azotem, mieszanie ciągłe, dodatek wodorowęglanu sodu	M	[62]
Kukurydza	55	2,14 (0,59)	BD	-	OB. przeferm.	-	Przeplukiwanie azotem	Ch	[63]
OFMSW	30	0,135 (0,05)	45	2	BP	-	Przeplukiwanie azotem	BD	[64]

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Słoma ryżowa i jęczmienna	40	2	40	2	ZK	-	Mieszanie ręczne dwa razy na dobę	W	[65]
OFMSW	55	1,1	60	-	Różne ¹¹	-	-	BD	[66]
FW, VW	35	0,135 (0,075)	100	2	Z reaktora CTSR ¹²	Tak (Owen)	Przeplukiwanie mieszaniną azotu i dwutlenku węgla (80/20%)	W	[67]
Kukurydza	25÷40	0,25 (0,1)	10	0,3÷0,8	Płyn ze zwacza (kozy)	Tak (Hu)	Przeplukiwanie azotem, dodatek wodorowęglanu sodu, mieszanie ciągłe 130 rpm	W	[21]
Odpady szare	35	2 (1,6)	237	-	F	Tak (Lepistö i Rintala)	Przeplukiwanie mieszaniną azotu i dwutlenku węgla (80/20%), dodatek wodorowęglanu sodu	W	[68]
Słoma pszenicy	55	0,118 (0,04)	60	-	OB.	-	Przeplukiwanie azotem, próbe zawieszono w wodzie destylowanej, stężenie substratu 5, 50, 100%	Ch	[69]
Odpady komunalne	35	0,25 (0,1)	45	-	F	Tak (Owen)	Próbka o masie 2 g	W	[31]
Produkty uboczne ¹³	37,5	1	28÷38	3	BR	-	Mieszanie okresowe mieszadłem magnetycznym	W	[70]
Odcieki z FW	35	0,5 (0,25)	28	10	F	-	Przeplukiwanie azotem, dodatek wodorowęglanu sodu, ciągłe mieszanie 100 rpm	W	[71]
Słoma ryżowa	22	5 (4)	120	-	Słoma ryżowa	-	Przeplukiwanie azotem, ciągłe mieszanie	W	[72]
Proso różgowe	35	30 (20)	50÷60	-	OTH	-	Mieszanie przez recyrkulację 3 razy na dobę przez 1 minutę	W	[73]
Odpad jęczmienia	37	0,16	100	0,43 (s.m.)	GO (UASB)	-	Mieszanie 150 rpm, dodatek wodorowęglanu sodu	M	[74]
OS i odpady kawowe	37	0,16	BD	0,14	GO (UASB)	-	Mieszanie 150 rpm, dodatek wodorowęglanu sodu	M	[75]
Odpady z restauracji	37	0,16	BD	0,74	GO (UASB)	Tak (Neves)	Mieszanie 150 rpm, dodatek wodorowęglanu sodu	M	[76]
Wodorosty	37	0,5 (0,3)	30	1÷2	F	-	Przeplukiwanie mieszaniną azotu i dwutlenku węgla (80/20%), dodatek wodorowęglanu sodu, ciągłe mieszanie 70 rpm	W	[77]
Rezydualna kukurydza, jęczmień, herbata, trzcina cukrowa	30	1 (0,2)	30	1,5	Mix ¹⁴	Tak (Owen)	Przeplukiwanie azotem przez 5 minut	W	[78]

Hiacynt wodny, kabomba, salwinia	38	0,2 (0,1)	ok. 90	BD	Mix ¹⁵	Tak (Owen)	Masa próbek wahała się od 1 do 2 g	M	[79]
Pozostałości rolnicze, odpady z przem. roln.	37	0,12 (0,065)	90	3	BD	Tak (BD)	Przeplukiwanie mieszaniną azotu i dwutlenku węgla (70/30%)	M	[80]
Rośliny energetyczne		1 (0,75)	70÷80	1÷2	BR ¹⁷	-	Przeplukiwanie azotem, dodatek wodorowęglanu sodu	W	[81]
Biomasa lignocelulozowa z żyta, rzepaku i bobiku	42	0,1 (0,025)	67	2	obornik	-	Odpady zostały wstępnie przygotowane (195°C, 2 g/l Na ₂ CO ₃ , 12 bar O ₂ , 15 min), przeplukiwanie mieszaniną azotu i dwutlenku węgla (70/30%)	W	[82]
Papier i tektura	35	1,13 (0,8)	100	0,03÷ 0,04	F	BD	Przeplukiwanie azotem, dodatek wodorowęglanu sodu, 6 g próbki	M	[83]
Borealne rośliny trawiste	35	1 (0,75)	95	1	BR	-	Przeplukiwanie azotem, ręczne mieszanie, dodatek wodorowęglanu sodu	W	[84]
Odpady komunalne	35	0,5 (0,4)	40	-	-	Tak (Owen)	Okresowe mieszanie (15 min mieszania, 15 minut przerwy) 140 rpm	W	[85]
Syntetyczne odpady stałe	BD	1 (0,5)	65	1	GO (UASB)	--	Do <i>inoculum</i> i substratu dodano wody wodociągowej, aby ich objętość wynosiła 500 ml	W	[11]

ABP - produkty uboczne z przemysłu mięsnego; **BI** - z biogazowni unieszkodliwiającej głównie obornik z niektórymi przemysłowymi odpadami organicznymi, w tym sprowadzenie organicznymi odpadami z gospodarstw domowych; **BD** - brak danych; **BEC** - biogazownia przetwarzająca rośliny energetyczne; **BP** - biogazownia przemysłowa; **BR** - biogazownia rolnicza; **BRE** - borealne uprawy roślin energetycznych i pozostałości upraw; **Ch** - chromatograficzna; **DMC** - odchody bydła mlecznego; **DPS** - przefermentowane osady wstępne; **F** - osady przefermentowane z mezofilowej komory fermentacyjnej; **FW** - odpady żywności; **GO(UASB)** - osady granulowane z reaktora UASB; **KFR** - *inoculum* z rolniczej komory fermentacyjnej zasilanej odchodami krów i produktami ubocznymi z cukiermi przemysłowymi; **KW** - selektywnie zbierana frakcja odpadów komunalnych (odpady żywności); **M** - metoda manometryczna; **OB** - obornik bydły; **OFMSW** - organiczna frakcja odpadów komunalnych; **OS** - osady ściekowe; **OT** - odpady tłuszczowe; **OTH** - obornik trzody chlewnej; **SBOS** - stabilizowane beztlenowo odpady stałe; **SOO** - stałe odpady organiczne; **SWS** - osady z oczyszczalni ścieków przy fabryce szaluzi; **W** - metoda objętościowa; **WVO** - odpady generowane podczas oczyszczania odpadów olejów roślinnych; **VW** - odpady warzyw; **ZK** - zakład kofermentacyjny.

1 - olej spożywczy (rzepakowy), tłuszcz wieprzowy, białko (żelatyna), torby papierowe do gromadzenia organicznych odpadów, skrobia i glukoza, **2** - S/X; **3** - zasilana organicznymi odpadami hoteli, restauracji i resztkami z gastronomii; **4** - dodatek nutrientów śladowych zgodnie z opisem w Raposo i innych [19]; **5** - etanol, hydroksytoluen, kwas ftalowy; **6** - *inoculum* rozcieńczone; **7** - lodygi bawełny, nasiona oraz makuch z nasion bawełny; **8** - *inoculum* z pracującego w warunkach laboratoryjnych reaktora, w którym fermentowane są odpady stałe; **9** - fermentowane oddzielnie, jak również wspólnie z liśćmi buraka cukrowego; **10** - w reaktorze oczyszczane są ściółki z browarów; **11** - kiszonka kukurydź, odchody bydła, odchody trzody chlewnej, fermentat, odchody trzody chlewnej mieszane z osadami, przefermentowane odpady z restauracji z łuskami ryżu; **12** - zasilanego odpadami warzyw i owoców; **13** - z produkcji skrobi ziemniaczanej i buraków cukrowych; **14** - mieszanina granulowanego osadu czynnego i obornika bydły; **15** - pobrane z lab. reaktora CSTR, w którym prowadzono kofermentację wstępnych osadów ściekowych i odpadów żywności; **16** - słoma ryżowa, pulpa manioku, skórki ananasa, pałka i hiacynt wodny; **17** - prowadzono w niej wspólną fermentację obornika bydły i produktów ubocznych z cukrowni; **18** - obornik bydły, kiszonka z trawy i produkty uboczne z cukiermi przemysłowymi

Podsumowanie

Reasumując, przedstawione dane w artykule wskazują, że każda z prezentowanych procedur ma ograniczenia i nie ma obecnie jednej uniwersalnej metody pozwalającej na rutynową ocenę potencjału metanogenego różnych substratów. Wydaje się, że na dzień dzisiejszy jednym z kluczowych obszarów badawczych w zakresie omawianej tematyki jest rozszerzenie wstępnie zarysowanych w pracy Angelidaki i współautorów [6] pewnych podstawowych wytycznych dla naukowców zajmujących się badaniem tego parametru. Prawdopodobnie pozwoliłoby to w przyszłości na wiarygodne porównywanie wyników uzyskiwanych w różnych laboratoriach. Jest to tym bardziej istotne, że rezultaty testu pomagają podmiotom przetwarzania odpadów w optymalizacji procesów obróbki odpadów.

Planując testy BMP, warto nie tylko wziąć pod uwagę opisane w artykule czynniki, ale również kierować się zasadą zaproponowaną przez Elbeshbishy i współpracowników [5] i na etapie planowania nowego doświadczenia założyć wykonanie testów przy co najmniej trzech różnych wartościach ilorazu *inoculum* do substratu i dwóch różnych rodzajach zaszczepu.

Podziękowania

Pracę zrealizowano w ramach środków Polish-Norwegian Research Programme "Innovation in recycling technologies of sewage sludge and other biowaste - energy and matter recovery" (BioTEEnMaRe).

Literatura

- [1] Angelidaki I., Sanders W., Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants, *Re/Views in Environmental Science & Bio/Technology* 2004, 3(2), 117-129.
- [2] Lesteur M., Lattrille E., Maurel V.B., Roger J. M., Gonzalez C., Junqua G., Steyer J. P., First step towards a fast analytical method for the determination of biochemical methane potential of solid wastes by near infrared spectroscopy, *Bioresource Technology* 2011, 102(3), 2280-2288.
- [3] Raposo F., De la Rubia M.A., Fernández-Cegri V., Borja R., Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: an overview relating to methane yields and experimental procedures, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 2012, 16(1), 861-877.
- [4] Li Y., Feng L., Zhang R., He Y., Liu X., Xiao X., Liu G., Influence of inoculum source and pre-incubation on bio-methane potential of chicken manure and corn stover, *Applied Biochemistry and Biotechnology* 2013, 171(1), 117-127.
- [5] Elbeshbishy E., Nakhla G., Hafez H., Biochemical methane potential (BMP) of food waste and primary sludge: Influence of inoculum pre-incubation and inoculum source, *Bioresource Technology* 2012, 110, 18-25.
- [6] Angelidaki I., Alves M., Bolzonella D., Borzacconi L., Campos J.L., Guwy A.J., Kalyuzhnyi S., Jenicek P., Van Lier J.B., Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays, *Water Science and Technology* 2009, 59(5), 927-934.
- [7] Gerber M., Schneider N., Kowalczyk A., Schwede S., Rehman Z., Span R., The influence of pre-incubation, storage and homogenization of inoculum for batch tests on biogas production, [w]: Lema, Juan M. (Hrsg.), *Recovering (bio) resources for the world: Proceedings of 13th World Congress on Anaerobic Digestion, 25th-28th June 2013 Santiago de Compostela (Spain)*, Santiago de Compostela: Lápices 4, 2013.

- [8] Wagland S.T., Tyrrel S.F., Godley A.R., Smith R., Test methods to aid in the evaluation of the diversion of biodegradable municipal waste (BMW) from landfill, *Waste Management* 2009, 29(3), 1218-1226.
- [9] Luostarinen S., Luste M., Sillanpää M., Increased biogas production at wastewater treatment plants through co-digestion of sewage sludge with grease trap sludge from a meat processing plant, *Bioresource Technology* 2009, 100, 79-85.
- [10] Murto M., Björnsson L., Rosqvist H., Bohn I., Evaluating the biogas potential of the dry fraction from pretreatment of food waste from households, *Waste Management* 2013, 33(5), 1282-1289.
- [11] Esposito G., Frunzo L., Panico A., Pirozzi F., Model calibration and validation for OFMSW and sewage sludge co-digestion reactors, *Waste Management* 2011, 31(12), 2527-2535.
- [12] Schattauer A., Abdoun E., Weiland P., Plöchl M., Heiermann M., Abundance of trace elements in demonstration biogas plants, *Biosystems Engineering* 2011, 108(1), 57-65.
- [13] Owen W.F., Stuckey D.C., Healy Jr J.B., Young L.Y., Mccarty P.L., Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity, *Water Research* 1979, 13(6), 485-492.
- [14] Shelton D.R., Tiedje J.M., General method for determining anaerobic biodegradation potential, *Applied and Environmental Microbiology* 1984, 47 (4), 850-857.
- [15] Godley A.R., Graham A., Lewin K., Estimating Biodegradable Municipal Solid Waste Diversion from Landfill: Screening Exercise to Evaluate the Performance of Biodegradable Waste Test Methods. Environment Agency, Bristol, 2005, Report P1-513.
- [16] Isci A., Demirer G.N., Biogas production potential from cotton wastes, *Renewable Energy* 2007, 32(5), 750-757.
- [17] ASTM E2170-01, Standard test method for determining anaerobic biodegradation potential of organic chemicals under methanogenic conditions, 2008.
- [18] Gonzalez-Gil G., Seghezzo L., Lettinga G., Kleerebezem R., Kinetics and mass-transfer phenomena in anaerobic granular sludge, *Biotechnology and Bioengineering* 2001, 73, 125-134.
- [19] Raposo F., Banks C.J., Siegert I., Heaven S., Borja R., Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests, *Process Biochemistry* 2006, 41(6), 1444-1450.
- [20] Pobeheim H., Munk B., Johansson J., Guebitz G.M., Influence of trace elements on methane formation from a synthetic model substrate for maize silage, *Bioresource Technology* 2010, 101(2), 836-839.
- [21] Hu Z.H., Yu H.Q., Application of rumen microorganisms for enhanced anaerobic fermentation of corn stover, *Process Biochemistry* 2005, 40(7), 2371-2377.
- [22] Raposo F., Fernández-Cegri V., De la Rubia M.A., Borja R., Béline F., Cavinato C., ..., De Wilde V., Biochemical methane potential (BMP) of solid organic substrates: evaluation of anaerobic biodegradability using data from an international interlaboratory study, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 2011, 86(8), 1088-1098.
- [23] Neves L., Oliveira R., Alves M.M., Influence of inoculum activity on the bio-methanization of a kitchen waste under different waste/inoculum ratios, *Process Biochemistry* 2004, 39(12), 2019-2024.
- [24] Lesteur M., Bellon-Maurel V., Gonzalez C., Latrille E., Roger J.M., Junqua G., Steyer, J.P., Alternative methods for determining anaerobic biodegradability: A review, *Process Biochemistry* 2010, 45(4), 431-440.
- [25] Chynoweth D.P., Turick C.E., Owens J.M., Jerger D.E., Peck M.W., Biochemical methane potential of biomass and waste feedstock, *Biomass and Bioenergy* 1993, 5(1), 95-111.
- [26] Labatut R.A., Angenent L.T., Scott N.R., Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates, *Bioresource Technology* 2011, 102 (3), 2255-2264.
- [27] Hashimoto A.G., Effect of inoculum/substrate ratio on methane yield and production rate from straw, *Biological Wastes* 1989, 28, 247-255.

- [28] González-Fernández C., García-Encina P.A., Impact of substrate to inoculum ratio in anaerobic digestion of swine slurry, *Biomass and Bioenergy Technology* 2009, 33(8), 1065-1069.
- [29] Chen T.H., Hashimoto A.G., Effects of pH and substrate: inoculum ratio on batch methane fermentation, *Bioresource Technology* 1996, 56(2), 179-186.
- [30] Hansen T.L., Schmidt J.E., Angelidaki I., Marca E., Jansen J.L.C., Mosbæk H., Christensen T.H., Method for determination of methane potentials of solid organic waste, *Waste Management* 2004, 24(4), 393-400.
- [31] Kelly R.J., Shearer B.D., Kim J., Goldsmith C.D., Hater G.R., Novak J.T., Relationships between analytical methods utilized as tools in the evaluation of landfill waste stability, *Waste Management* 2006, 26(12), 1349-1356.
- [32] Moody L., Using Biochemical Methane Potentials & Anaerobic Toxicity Assays, http://www.epa.gov/agstar/documents/conf10/Moody_Final.pdf
- [33] Stergar V., Končan J.Z., The determination of anaerobic biodegradability of pharmaceutical waste using advanced bioassay technique, *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly* 2002, 16(1), 17-24.
- [34] Harries C.R., Cross C.J., Smith R., Development of a biochemical methane potential (BMP) test and application to testing of municipal solid waste samples, *Proceedings of the Eighth International Landfill Symposium 2001*, 579-588.
- [35] Edelmann W., Engeli H., Gradenecker M., Co-digestion of organic solid waste and sludge from sewage treatment, *Water Science and Technology* 2000, 41, 3, 213-221.
- [36] Palmowski L., Müller J., Influence of the size reduction of organic waste on their anaerobic digestion, *Water Science and Technology* 2000, 41, 3, 155-163.
- [37] Mshandete A., Björnsson L., Kivaisi A.K., Rubindamayugi M.S.T., Mattiasson B., Effect of particle size on biogas yield from sisal fibre waste, *Renewable Energy* 2006, 31(14), 2385-2392.
- [38] Grosser A., Neczaj E., Worwąg M., Fermentacja organicznej frakcji odpadów komunalnych - przegląd literaturowy, [w:] *Gospodarka odpadami komunalnymi*, pod red. K. Szymańskiego, Wyd. Uczelniane Politechniki Koszalińskiej, Koszalin 2012, VIII, 371-401.
- [39] Bień J.B., *Osady ściekowe - teoria i praktyka*, Wyd. Politechniki Częstochowskiej, Częstochowa 2007.
- [40] Gerardi M.H., *The Microbiology of Anaerobic Digesters*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey 2003.
- [41] Karim K., Hoffmann R., Klasson K.T., Dahhan M.H., Anaerobic digestion of animal waste: Effect of mode of mixing, *Water Research* 2005, 39, 3597-3606.
- [42] Tabatabaei M., Sulaiman A., Nikbakht A.M., Yusof N., Najafpour G., Influential Parameters on Biomethane Generation in Anaerobic Wastewater Treatment Plants, [w:] *Alternative Fuel*, ed. M. Manzanera, InTech 2011, 227-262, dostęp on-line: <http://www.intechopen.com/books/alternative-fuel/influential-parameters-on-biomethane-generation-in-anaerobic-wastewater-treatment-plants>
- [43] Vavilin V.A., Fernandez B., Palatsi J., Flotats X., Hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic material: an overview, *Waste Management* 2008, 28(6), 941-953.
- [44] Lopes W.S., Leite V.D., Prasad S., Influence of inoculum on performance of anaerobic reactors for treating municipal solid waste, *Bioresource Technology* 2004, 94(3), 261-266.
- [45] Rao M.S., Singh S.P., Singh A.K., Sodha M.S., Bioenergy conversion studies of the organic fraction of MSW: assessment of ultimate bioenergy production potential of municipal garbage, *Applied Energy* 2000, 66(1), 75-87.
- [46] Kaparaju P., Luostarinen S., Kalmari E., Kalmari J., Rintala J., Co-digestion of energy crops and industrial confectionery by-products with cow manure: batch-scale and farm-scale evaluation, *Water Science and Technology* 2002, 45(10), 275-280.

- [47] Raposo F., Borja R., Rincón B., Jiménez A.M., Assessment of process control parameters in the biochemical methane potential of sunflower oil cake, *Biomass and Bioenergy* 2008, 32(12), 1235-1244.
- [48] Nghiem L.D., Nguyen T.T., Manassa P., Fitzgerald S.K., Dawson M., Vierboom S., Co-digestion of sewage sludge and crude glycerol for on-demand biogas production, *International Biodeterioration & Biodegradation* 2014, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.04.023>
- [49] Hidalgo D., Martín-Marroquín J.M., Effects of inoculum source and co-digestion strategies on anaerobic digestion of residues generated in the treatment of waste vegetable oils, *Journal of Environ Management* 2014, 1, 142, 17-22.
- [50] Cabbai V., Ballico M., Aneggi E., Goi D., BMP tests of source selected OFMSW to evaluate anaerobic codigestion with sewage sludge, *Waste Management* 2013, 33(7), 1626-1632.
- [51] Zhang R., El-Mashad H.M., Hartman K., Wang F., Liu G., Choate C., Gamble, P., Characterization of food waste as feedstock for anaerobic digestion, *Bioresource Technology* 2007, 98(4), 929-935.
- [52] Davidsson A., Gruvberger C., Christensen T.H., Hansen T.L., Jansen J.L.C., Methane yield in source-sorted organic fraction of municipal solid waste, *Waste Management* 2007, 27(3), 406-414.
- [53] Amon T., Amon B., Kryvoruchko V., Zollitsch W., Mayer K., Gruber L., Biogas production from maize and dairy cattle manure - Influence of biomass composition on the methane yield, *Agricultural & Ecosystem Environmental* 2007, 118, 173-182.
- [54] Lehtomäki A., Viinikainen T.A., Rintala J.A., Screening boreal energy crops and crop residues for methane biofuel production, *Biomass and Bioenergy* 2008, 32(6), 541-550.
- [55] Nopharatana A., Pullammanappallil P.C., Clarke W.P., Kinetics and dynamic modelling of batch anaerobic digestion of municipal solid waste in a stirred reactor, *Waste Management* 2007, 27(5), 595-603.
- [56] El-Mashad H.M., Zhang R., Biogas production from co-digestion of dairy manure and food waste, *Bioresource Technology* 2010, 101(11), 4021-4028.
- [57] Rincón B., Banks C.J., Heaven S., Biochemical methane potential of winter wheat (*Triticum aestivum* L.): influence of growth stage and storage practice, *Bioresource Technology* 2010, 101(21), 8179-8184.
- [58] Parawira W., Murto M., Zvauya R., Mattiasson B., Anaerobic batch digestion of solid potato waste alone and in combination with sugar beet leaves, *Renewable Energy* 2004, 29(11), 1811-1823.
- [59] Pabón Pereira C.P., Anaerobic Digestion in Sustainable Biomass Chains. Ph.D. Thesis, Wageningen University, 2009.
- [60] Hejnfelt A., Angelidaki I., Anaerobic digestion of slaughterhouse by-products, *Biomass and Bioenergy* 2009, 33(8), 1046-1054.
- [61] Liu G., Zhang R., El-Mashad H.M., Dong R., Effect of feed to inoculum ratios on biogas yields of food and green wastes, *Bioresource Technology* 2009, 100(21), 5103-5108.
- [62] Zeng S., Yuan X., Shi X., Qiu Y., Effect of inoculum/substrate ratio on methane yield and orthophosphate release from anaerobic digestion of *Microcystis* spp., *Journal of Hazardous Materials* 2010, 178(1-3), 89-93.
- [63] Bruni E., Jensen A.P., Pedersen E.S., Angelidaki I., Anaerobic digestion of maize focusing on variety, harvest time and pretreatment, *Applied Energy* 2010, 87(7), 2212-2217.
- [64] Chanakya H.N., Sharma I., Ramachandra T.V., Micro-scale anaerobic digestion of point source components of organic fraction of municipal solid waste, *Waste Management* 2009, 29(4), 1306-1312.
- [65] Dinuccio E., Balsari P., Gioelli F., Menardo S., Evaluation of the biogas productivity potential of some Italian agro-industrial biomasses, *Bioresource Technology* 2010, 101(10), 3780-3783.

- [66] Forster-Carneiro T., Pérez M., Romero L.I., Sales D., Dry-thermophilic anaerobic digestion of organic fraction of the municipal solid waste: focusing on the inoculum sources, *Bioresource Technology* 2007, 98(17), 3195-3203.
- [67] Gunaseelan V.N., Biochemical methane potential of fruits and vegetable solid waste feedstocks, *Biomass and Bioenergy* 2004, 26(4), 389-399.
- [68] Jokela J.P.Y., Vavilin V.A., Rintala J.A., Hydrolysis rates, methane production and nitrogen solubilisation of grey waste components during anaerobic degradation, *Bioresource Technology* 2005, 96(4), 501-8.
- [69] Kaparaju P., Serrano M., Thomsen A.B., Kongjan P., Angelidaki I., Bioethanol, bio-hydrogen and biogas production from wheat straw in a biorefinery concept, *Bioresource Technology* 2009, 100(9), 2562-2568.
- [70] Kryvoruchko V., Machmüller A., Bodiroza V., Amon B., Amon T., Anaerobic digestion of by-products of sugar beet and starch potato processing, *Biomass and Bioenergy* 2009, 33(4), 620-627.
- [71] Lee D.H., Behera S.K., Kim J.W., Park H.S., Methane production potential of leachate generated from Korean food waste recycling facilities: a lab-scale study, *Waste Management* 2009, 29(2), 876-882.
- [72] Lei Z., Chen J., Zhang Z., Sugiura N., Methane production from rice straw with acclimated anaerobic sludge: effect of phosphate supplementation, *Bioresource Technology* 2010, 101(12), 4343-4348.
- [73] Massé D., Gilbert Y., Savoie P., Bélanger G., Parent G., Babineau D., Methane yield from switchgrass harvested at different stages of development in Eastern Canada, *Bioresource Technology* 2010, 101(24), 9536-9541.
- [74] Neves L., Ribeiro R., Oliveira R., Alves M.M., Enhancement of methane production from barley waste, *Biomass and Bioenergy* 2006, 30(6), 599-603.
- [75] Neves L., Oliveira R., Alves M.M., Anaerobic co-digestion of coffee waste and sewage sludge, *Waste Management* 2006, 26(2), 176-81.
- [76] Neves L., Gonçalo E., Oliveira R., Alves M.M., Influence of composition on the biomethanation potential of restaurant waste at mesophilic temperatures, *Waste Management* 2008, 28(6), 965-972.
- [77] Nkemka V.N., Murto M., Evaluation of biogas production from seaweed in batch tests and in UASB reactors combined with the removal of heavy metals, *Journal of Environmental Management* 2010, 91(7), 1573-1579.
- [78] Nzila C., Dewulf J., Spanjers H., Kiriamiti H., van Langenhove H., Biowaste energy potential in Kenya, *Renewable Energy* 2010, 35(12), 2698-2704.
- [79] O'Sullivan C., Rounsefell B., Grinham A., Clarke W., Udy J., Anaerobic digestion of harvested aquatic weeds: water hyacinth (*Eichhornia crassipes*), cabomba (*Cabomba caroliniana*) and salvinia (*Salvinia molesta*), *Ecological Engineering* 2010, 36(10), 1459-1468.
- [80] Paepatung N., Nopharatana A., Warinthorn S., Bio-methane potential of biological solid materials and agricultural wastes, *Asian Journal on Energy and Environment* 2009, 10(1), 19-27.
- [81] Pakarinen O., Lehtomäki A., Rissanen S., Rintala J., Storing energy crops for methane production: effects of solids content and biological additive, *Bioresource Technology* 2008, 99(15), 7074-7082.
- [82] Petersson A., Thomsen M.H., Hauggaard-Nielsen H., Thomsen A.B., Potential bioethanol and biogas production using lignocellulosic biomass from winter rye, oilseed rape and faba bean, *Biomass and Bioenergy* 2007, 31(11-12), 812-819.
- [83] Pommier S., Llamas A.M., Lefebvre X., Analysis of the outcome of shredding pretreatment on the anaerobic biodegradability of paper and cardboard materials, *Bioresource Technology* 2010, 101(2), 463-468.

- [84] Seppälä M., Paavola T., Lehtomäki A., Rintala J., Biogas production from boreal herbaceous grasses - specific methane yield and methane yield per hectare, *Bioresource Technology* 2009, 100(12), 2952-2958.
- [85] Shanmugam P., Horan N.J., Simple and rapid methods to evaluate methane potential and biomass yield for a range of mixed solid wastes, *Bioresource Technology* 2009, 100(1), 471-474.

BMP Test in the Assessment and Modeling of Biogas Production from Organic Substrates: Review

Methane yield is one of the most important parameters to assess the efficiency of the anaerobic digestion process. The biochemical methane potential (BMP) assay has been widely used to determine the methane yield of organic substrates. First test method was described by Owen et al. in 1979. Since then, a variety of test procedures for determination of biochemical methane potential have been reported. Lack of standard protocol for carrying out measuring biochemical methane potential of various substrates limits the ability to compare results between laboratories. Additionally, there are many factors that may influence the anaerobic biodegradability of organic materials and a consequence on methane yield. This article discusses the impact of the following factors: type of substrate, particle size of the substrate, inoculum, anaerobic medium, inoculum and experimental conditions such as gas measurement systems, pH and alkalinity, temperature, reactor capacity, stirring, duration of the test. Many factors must be taken into account in the case of inoculum. It should take into account such factors as: the source of the sludge used as inoculum and its state of acclimation and adaptation to a test, inoculum activity, inoculum to substrate ratio (I/S or ISR). ISR is one of the most important parameters in batch tests. Inoculum / substrate ratio of 1 (VS basis) is usually used in the assessment of the biochemical methane potential. Nevertheless, in the case of more recalcitrant wastes, the rate of methane production in biochemical methane potential assays was optimized by increasing the I/S ratio to 2 g VS/g VS. The BMP results compiled in this article showed that BMP assay are a relatively simple and reliable method to obtain the biochemical methane potential and rate of organic matter conversion to methane. The major disadvantage of BMP tests is their duration. In summary, the data presented in the review indicate that each of the presented procedures have limitations, and currently there is no method for routine assessment of methane potential different substrates. It seems that at present one of the key research areas in the field of this subject is to extend initially outlined in the work of Angelidaki et al. [6] some basic guidelines for scientists studying this parameter. Posted at end of article, table lists the details of the procedures used to determine the biochemical methane potential different organic substrates.

Keywords: batch test, methane, biochemical methane potential (BMP), anaerobic digestion