

**UNIVERZITA PARDUBICE**  
**FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**2018**

**Pavel Matějček**

**Univerzita Pardubice**  
**Fakulta chemicko-technologická**  
**Ústav Environmentálního a chemického inženýrství**

**Problematika získávání kapalných biopaliv v ČR**  
**a zemích EU**

Bakalářská práce

*2018*

***Vedoucí práce:***  
doc. Ing. Tomáš Weidlich, Ph.D

***Vypracoval:***  
Pavel Matějček

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Pavel Matějčík**

Osobní číslo: **C17303**

Studijní program: **B2807 Chemické a procesní inženýrství**

Studijní obor: **Ochrana životního prostředí**

Název tématu: **Problematika získávání kapalných biopaliv v ČR a zemích EU**

Zadávací katedra: **Ústav environmentálního a chemického inženýrství**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Zpracujte literární rešerši (od roku 2007 včetně) na oblast získávání kapalných biopaliv první a druhé generace. Pozornost zaměřte především na využití procesu hydrolýzy celulóзовých materiálů jako zdroje jednoduchých cukrů vhodných pro výrobu kapalných biopaliv.
2. Získané teoretické poznatky vyhodnoťte a s jejich využitím laboratorně ověřte hydrolýzní a kvasný proces přeměny vybraného druhu odpadní biomasy pro získávání vzorků kapalných biopaliv.
3. Bakalářskou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPa č. 9/2012 "Pravidla pro zveřejňování závěrečných prací a jejich základní jednotnou formální úpravu" v platném znění.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Vedoucí bakalářské práce:

**doc. Ing. Tomáš Weidlich, Ph.D.**

Ústav environmentálního a chemického inženýrství

Datum zadání bakalářské práce:

**6. února 2018**

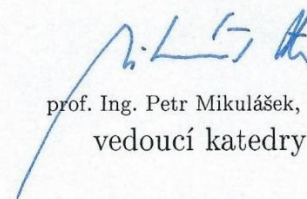
Termín odevzdání bakalářské práce:

**4. července 2018**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.  
děkan

L.S.



prof. Ing. Petr Mikulášek, CSc.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 6. února 2018

**Prohlašuji:**

Tuto práci jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci použil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na mojí práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., Autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 Autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou a nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích 4. 7. 2018

Pavel Matějíček

**Poděkování:**

Tímto bych velmi rád poděkoval vedoucímu své bakalářské práce doc. Ing. Tomášovi Weidlichovi, Ph.D. za nesmírnou ochotu, odbornou pomoc a trpělivost při vedení mé práce. Velké díky také patří mojí rodině a mé nejlepší kamarádce Denise Blažkové Dis., která při mně vždycky stála a podporovala mě během celého studia.

## **ANOTACE**

Teoretická část bakalářské práce se zabývá popisem zdrojů a způsoby využití biopaliv se zaměřením na kapalná biopaliva první a druhé generace. Experimentální část bakalářské práce je zaměřená na výzkum provedení a vyhodnocení hydrolyzní a kvasné přeměny předem zvolených druhů odpadní biomasy. Jednalo se zejména o plata od vajíček a uschlý rostlinný materiál Chrastice rákosovité (*Phalaris arundinacea*).

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

biopaliva, kapalná biopaliva, hydrolyza, odpadní papírovina, fermentace, glukóza

## **TITLE**

Production of liquid biofuels in the Czech Republic and EU countries

## **ANNOTATION**

The theoretical part of this bachelor thesis deals with the overview of sources and methods of the first and second generation liquid biofuels production. The experimental part of the bachelor thesis is focused on the research of hydrolysis and fermentation of pre-selected waste biomass species from eggs cartoons and dried plant *Phalaris arundinacea*.

## **KEYWORDS**

biofuels, liquid biofuels, hydrolysis, waste paper, fermentation, glucose

# Obsah

Seznam tabulek .....	10
Seznam obrázků .....	11
Seznam zkratk .....	12
Úvod.....	13
1 Teoretická část .....	14
1. 1. Definice biomasy .....	14
1. 2. Biopaliva .....	15
1. 3. Způsoby využití biomasy k energetickým účelům .....	15
1. 3. 1 Využití biomasy v bioplynových stanicích.....	15
1. 3. 2 Využití biomasy pro výrobu tvarovaných paliv .....	17
1. 3. 3 Zplyňování biomasy .....	17
1. 3. 4 Pyrolýza biomasy.....	18
1. 3. 5 Karbonizace biomasy.....	18
1. 3. 6 Organická fermentace biomasy na mokré cestě .....	18
1. 3. 7 Esterifikace surových bio-olejů .....	18
1. 4. Výhody a nevýhody využití biopaliv .....	20
1. 5. Výroba biopaliv první generace.....	21
1. 6. Výroba biopaliv druhé generace .....	22
1. 6. 1. Výroba bioethanolu.....	23
1. 6. 2. Výroba syntetické motorové nafty pomocí Fischer-Tropschovy syntézy .....	23
1. 6. 3. Získávání leteckých paliv hydrogenací rostlinných olejů (HJR, HEFA) .....	25
1. 6. 4. Biovodík jako produkt katalytické konverze syntézního plynu.....	26
1. 7. Využití celulózy z odpadní papíru .....	28
1. 7. 1. Předúprava lignocelulózového materiálu.....	28
1. 7. 2. Metody hydrolýzy lignocelulózového materiálu .....	33
Cíl experimentální části práce.....	34



2 Experimentální část.....	35
2. 1. Použité chemikálie, pomůcky a zařízení.....	35
2. 1. 1. Seznam použitých chemikálií .....	35
2. 1. 2. Seznam použitých pomůcek a zařízení .....	37
2. 2. Hydrolýza recyklovaného papíru.....	39
2. 2. 1. Hydrolýza 10, 04 g papíroviny (plata na vejce) v 16%-ní H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	39
2. 2. 2. Hydrolýza 20, 06 g papíroviny (plata na vejce) v 16%-ní H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	40
2. 2. 3. Hydrolýza 15, 06 g papíroviny (plata na vejce) v 16%-ní H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	42
2. 2. 4. Hydrolýza 10, 04 g papíroviny (plata na vejce) v 16%-ní H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> .....	43
2. 2. 5. Hydrolýza 10, 06 g papíroviny (plata na vejce) v 16%-ní H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	45
2. 2. 6. Hydrolýza 10, 04 g papíroviny (plata na vejce) v 16%-ní H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	46
2. 3. Hydrolýza traviny .....	47
2. 3. 1. Hydrolýza 10,08 g traviny v 16%-ní H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	47
2. 3. 2. Hydrolýza 15,02 g traviny v 16%-ní H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	49
2. 4. Fermentace glukózy .....	51
2. 5. Analýza hydrolyzátů .....	54
3 Výsledky a diskuze .....	55
3. 1. Hodnocení přeměny biomasy na ve vodě rozpustné produkty .....	55
3. 2. Zjištění závislosti délky hydrolýzy na hodnotách CHSK.....	56
3. 3. Separace K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> krystalizací po neutralizaci filtrátů s K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> .....	57
3. 4. Hydrolyzáty – Zjištění inhibiční aktivity.....	59
3. 5. Fermentace glukózy – Zjištění inhibiční aktivity .....	60
Závěr .....	61
Použitá literatura .....	62

## **Seznam tabulek**

Tabulka 1: Složení bioplynu [3] .....	16
Tabulka 2: Seznam použitých chemikálií .....	36
Tabulka 3: Seznam použitých pomůcek a zařízení .....	38
Tabulka 4: Výsledek elementární analýzy nerozpustných podílů .....	55
Tabulka 5: Sumarizace a přehled výtěžků hydrolýz .....	58

## Seznam obrázků

Obrázek 1: Zjednodušené schéma výroby biopaliv 2. generace [22] .....	22
Obrázek 2: Obecný diagram procesu Fischer-Tropschovy syntézy [25].....	24
Obrázek 3: Zjednodušené reakční schéma hydrogenace rostlinného oleje [29].....	26
Obrázek 4: Struktura celulózy [42].....	28
Obrázek 5: Vliv předúpravy na lignocelulóзовý materiál [34] .....	29
Obrázek 6: Aparatura pro hydrolýzu papíroviny – Foto: Pavel Matějčík (2018).....	39
Obrázek 7: Aparatura pro hydrolýzu papíroviny – Foto: Pavel Matějčík (2018).....	40
Obrázek 8: Aparatura pro hydrolýzu papíroviny – Foto: Pavel Matějčík (2018).....	42
Obrázek 9: Aparatura pro hydrolýzu suché traviny – Foto: Pavel Matějčík (2018).....	47
Obrázek 10: Sulfonační baňka naplněná suchou travinou – Foto: Pavel Matějčík (2018).....	47
Obrázek 11: Aparatura pro hydrolýzu traviny – Foto: Pavel Matějčík (2018).....	49
Obrázek 12: Fermentační nádoba + aparatura – Foto: Pavel Matějčík (2018).....	51
Obrázek 13: Vzorec 5-hydroxymethylfurfuralu [28].....	55
Obrázek 14: Pozorování pohybu buněk <i>S. cerevisiae</i> – Foto: KBBV, UPa (2018) .....	59
Obrázek 15: Barvení dle Grama – Foto: KBBV, UPa (2018) .....	60
Obrázek 16: Vitální barvení – Foto: KBBV, UPa (2018).....	60

## Seznam zkratek

ČR	Česká republika
EU	Evropská unie
USA	Spojené státy Americké
CO	Oxid uhelnatý
CO <sub>2</sub>	Oxid uhličitý
H <sub>2</sub>	Vodík
NO <sub>x</sub>	Oxidy dusíku
MEŘO	Methylester řepkového oleje
PAU	Polycyklické aromatické uhlovodíky
BIO	Biologický
BTL	Biomass to liquids
GTL	Gas to liquids
WGS	Water gas shift
HVO	Hydrotreated vegetable oil
HJR	Hydroprocessed renewable jet
HEFA	Hydrotreated esters and fatty acids
CHSK <sub>Cr</sub>	Chemická spotřeba kyslíku (Cr)
KBBV	Katedra biologických a biochemických věd
UECHI	Ústav environmentálního a chemického inženýrství
UPa	Univerzita Pardubice

## Úvod

Žijeme v době, ve které jsme závislí na získávání energie z neobnovitelných zdrojů, jako je uhlí, ropa, zemní plyn, ... a další. Což mě vedlo k zájmu o danou problematiku. Dalším důvodem je fakt, že studuji obor Ochrana životního prostředí na Univerzitě v Pardubicích. Z těchto aspektů jsem si za téma bakalářské práce zvolil „Problematika získávání biopaliv v ČR a zemích EU“.

Cílem této práce je popsat zdroje, způsoby, a hlavně problematiku získávání biopaliv první a druhé generace z dostupných zdrojů biomasy. V experimentální části ověřit a vyhodnotit získané poznatky z teoretické části s využitím laboratoře. Zejména hydrolyzní a kvasný proces přeměny vybraných druhů odpadní biomasy pro získání vzorků kapalných biopaliv.

V první části jsem popsal zdroje a způsoby využití biopaliv se zaměřením na kapalná biopaliva první a druhé generace z dostupných zdrojů biopaliv.

V druhé části jsem se zabýval výzkumem v laboratoři na Ústavu environmentálního a chemického inženýrství v Doubravících společně s panem doc. Ing. Tomášem Weidlichem, Ph.D. Výzkum spočíval ve vyhodnocování získaných znalostí z teoretické části a provedení hydrolyzní a kvasné přeměny námi zvolených druhů odpadní biomasy (př. plata od vajíček, uschlý rostlinný materiál).

Při vypracovávání této bakalářské práce jsem použil jako zdroj odbornou literaturu, novinové články a internet.

# 1 Teoretická část

## 1. 1. Definice biomasy

*„Biomasa je definována jako substance biologického původu (pěstování rostlin v půdě nebo ve vodě, chov živočichů, produkce organického původu, organické odpady). Biomasa je buď záměrně získávaná jako výsledek výrobní činnosti, nebo se jedná o využití odpadů ze zemědělské, potravinářské a lesní výroby, z komunálního hospodářství, z údržby krajiny a péče o ni.“ [1]*

Bohužel využití biomasy je limitováno těmito způsoby:

- Konkurence dalším způsobům využití biomasy
- Nutnost rozšiřovat produkční plochy
- Zvyšování investice do výroby biomasy
- Legislativa [1]

Ovšem využití biomasy má nesporné výhody:

- Menší negativní dopady na životní prostředí
- Obnovitelný charakter
- Lokální neomezenost
- Využití spalitelných odpadů
- Vytváření krajinného charakteru a péče o krajinu [1]

## 1. 2. Biopaliva

Trendem dnešní doby je snaha využívat paliva z neobnovitelných zdrojů, ale bohužel málokdo se zajímá o to, co se bude dít, až se tyto zdroje vyčerpají. Jedinci, kteří uvažují nad tímto problémem, mají snahu zakročit a vytvořit palivo, které bude vytvořené z biomasy a odpadního materiálu. K tomuto účelu se v dnešní době využívají nejrozličnější druhy pěstovaných plodin. Za zmínku stojí řepka olejná, dále kukuřice setá, cukrová řepa a třtina a mnohé další. Z odpadního materiálu například dřevní štěpky, papír,... apod. [1, 2]

## 1. 3. Způsoby využití biomasy k energetickým účelům

V České republice čeští zemědělci hospodaří na více jak 4 250 tisíc hektarech zemědělské půdy. Sem řadíme ornou půdu, dále tzv. trvalý travní porost (TTP), chmelnice, ovocné sady, vinice a zahrady. Tyto zemědělské půdy poskytují biomasu, která se kromě potravinářského využití případně dá využít i energeticky. [2]

### 1. 3. 1 Využití biomasy v bioplynových stanicích

V České republice se nachází velké množství bioplynových stanic a stále přibývají. Podle informací České bioplynové asociace je k 31. 12. 2015 v ČR 507 provozoven bioplynových stanic. Jsou to moderní a ekologická zařízení, které zpracovávají širokou škálu materiálů či odpadů organického původu s vysokou vlhkostí a nevhodné pro spalování. K tomuto účelu se využívá procesu zvaného anaerobní digesce. [5, 12]

Jedná se o složitý biologický proces za účasti mnoha různých typů bakterií, při kterém vzniká bioplyn. Tvorba bioplynu z organické sušiny obsažené v odpadu je proces bez přítomnosti kyslíku a můžeme ho zjednodušeně charakterizovat čtyřmi základními fázemi: [3, 13]

1. Hydrolyza – Velká část biomasy je tvořena vysokomolekulárními látkami (bílkovinami, škrobem, celulórou,..), dále tuky a oleji. Využívají se tedy hydrolytické bakterie, které svými enzymy rozštěpí organické látky v obsažené v biomase na cukry, mastné kyseliny, aminokyseliny,...apod. Tento proces začíná v době, kdy je prostředí obsažen vzdušný kyslík a dostatečná vlhkost – nad 50 % hmotnostního podílu. [1, 3]

2. Acidogeneze – V této fázi za pomoci působení acidogenních bakterií vznikají mastné kyseliny, jako kyselina octová (ethanová –  $\text{CH}_3\text{-COOH}$ ), propionová (propanová –  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$ ), máselná (butanová –  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-COOH}$ ), a také některé alkoholy. Současně vzniká i oxid uhličitý ( $\text{CO}_2$ ) a vodík ( $\text{H}_2$ ). Také zde dochází k vytvoření anaerobního prostředí. Toto prostředí zajistí četné kmeny fakultativních anaerobních mikroorganismů. [1, 3]
3. Acetogeneze – Je někdy označována jako mezifáze. Acetogenní specializované kmeny bakterií přeměňují vyšší organické kyseliny na kyselinu ethanovou ( $\text{CH}_3\text{-COOH}$ ), vodík ( $\text{H}_2$ ) a oxid uhličitý ( $\text{CO}_2$ ). [1]
4. Methanogeneze – Poslední fázi je označována methanogeneze. Jedná se o proces přeměny kyseliny octové (ethanová –  $\text{CH}_3\text{-COOH}$ ) působením methanogenních acetotrofních bakterií na methan ( $\text{CH}_4$ ). Dalším procesem je tvorba methanu z již dříve vzniklého vodíku ( $\text{H}_2$ ) a oxidu uhličitého ( $\text{CO}_2$ ) pomocí hydrogenních bakterií. Pro prostředí v této fázi už musí být striktně anaerobní, neboť kyslík ( $\text{O}_2$ ) je pro zmíněné bakterie velmi škodlivý. [3]

Methan ( $\text{CH}_4$ )	40-75 %
Oxid uhličitý ( $\text{CO}_2$ )	25-55 %
Vodní pára ( $\text{H}_2\text{O}$ )	0-10 %
Dusík ( $\text{N}_2$ )	0-5 %
Kyslík ( $\text{O}_2$ )	0-2 %
Vodík ( $\text{H}_2$ )	0-1 %
Amoniak ( $\text{NH}_3$ )	0-1 %
Sulfan ( $\text{H}_2\text{S}$ )	0-1 %

Tabulka 1: Složení bioplynu [3]

Mimo výše uvedeného bioplynu (Tabulka 1) vzniká i tzv. digestát. Jedná se o zbytek po procesu anaerobní fermentace při výrobě bioplynu v bioplynových stanicích, který je možný aplikovat na zemědělskou půdu se záměrem hnojení, tj. dodání živin půdě. Obsahuje rychle uvolnitelný dusík (N) až 1 % ve hmotě, nižší obsah uhlíku (C) a 2 – 13 % je rozložitelná sušina. Při průměrném obsahu 0,5 % celkového dusíku v hnojivu se dodá, při dávce 1 t ( $1 \text{ m}^3$ ) digestátu, 5 kg dusíku na hektar. Dusík (N) je pro rostliny podstatný, protože podporuje jejich bujný růst.



Z dalších živin, které digestát obsahuje, stojí za zmínku draslík (K), který rostliny využívají pro podporu kořenového systému a dozrávání pletiv, hořčík (Mg), který důležitým prvkem při fotosyntéze a pak fosfor (P), který je nutný pro správný růst a vývoj květů. [14]

### **1. 3. 2 Využití biomasy pro výrobu tvarovaných paliv**

Fytomasa se nejčastěji využívá jako palivové dřevo, anebo také ve formách malých slisovaných částí tzv. briket a pelet. Lisované dřevní pelety jsou moderním a ekologickým využitím dřevních pilin a hoblin, které vznikly jako vedlejší produkt při zpracování dřeva. Brikety jsou též ekologickým palivem, které se vyrábí z dřevních odpadů (piliny, hobliny), ze zemědělských odpadů (sláma, pleva) a z lisované rašeliny. Jediný rozdíl mezi těmito ekologickými palivy je v rozměrech a gramáži. Pro výrobu tohoto ekologického paliva se využívá speciálních zařízení, které rozmělní fytomasu na drobné částice a poté je slisují dohromady. Následně se z této směsi vyrábějí, buď malé pelety či větší brikety. [7, 20]

### **1. 3. 3 Zplyňování biomasy**

Jedná se o proces termochemické konverze uhlíkatého materiálu, v pevném či kapalném skupenství, na výhřevný generátorový plyn za působením zplyňovacích médií a vysoké teploty. Ke zplyňování bývá použit volný či vázaný kyslík ( $O_2$ ), nebo vodík ( $H_2$ ). Produktem je plyn obsahující výhřevné složky ( $H_2$ ,  $CO$ ,  $CH_4$  a další organické sloučeniny –  $C_xH_y$ ), doprovodné složky ( $CO_2$ ,  $H_2O$  a  $N_2$ ) a znečišťující složky (dehet, prach, sloučeniny síry, chlóru, alkálie a další). [6]

Tuto technologii využívají už rok a půl v Energetickém centru v Kozomíně, cca 20 kilometrů severně od Prahy. Tento areál byl vybudován na místě původního vepřína. Technologie je unikátní, bezemisní a funguje na principu zplyňování dřevních štěpek. Generuje se zde přes 1000 MWh elektrické energie za měsíc, což by pokrylo spotřebu zhruba 3000 domácností. V tomto energetickém centru dosahují účinnosti přeměny zdrojů na elektrickou energii ve výši 36 %. Tento zdroj vytváří 5 generátorů plynů, 3 kogenerační jednotky o max. výkonu 706 kWh a vedení tepla i syntézního plynu. Ve zplyňovacím reaktoru pracují s teplotami 1100-1200 °C. Zplyňuje se zde dřevní štěpka kategorie O2 (lesní klest, větve, pařezy, ořezy, piliny, kůra). Každý den dokáží zpracovat 50-55 tun materiálu. [4, 20]

### 1. 3. 4 Pyrolýza biomasy

Pyrolýza je fyzikálně – chemický proces probíhající za nepřístupu kyslíku ( $O_2$ ), při kterém je surovina termicky rozložena na nízkomolekulární látky a tuhý zbytek. Žádaným produktem jsou ve většině případů kapalné podíly. Proto je důležité nastavit podmínky procesu tak, aby bylo zabráněno rozkladu materiálu až na molekuly plynu, a aby nedocházelo ani k polymerizačním reakcím, které by vedly ke vzniku dalších vysokomolekulárních látek. [8]

Mezi děje, které probíhají při pyrolýze řadíme:

- do 150 °C – odpaření veškeré vody a k desorpci adsorbovaných látek ( $CO_2$ ,  $CH_4$ ,  $C_2H_6$ ),
- 300-500 °C – uvolňování dehtových par, odchází vodní pára ( $H_2O$ ) a oxid uhličitý ( $CO_2$ ) vznikající při odštěpování hydroxylových a karboxylových skupin
- nad 500 °C – končí vznik dehtových par, v reaktoru zůstává pevný zbytek (polokoks)
- nad 600 °C – odcházejí z reaktoru pouze jen plynné produkty a polokoks se přeměňuje na koks [8]

### 1. 3. 5 Karbonizace biomasy

Karbonizace biomasy je jednou z nejstarších zušlechťovacích metod při výrobě dřevěného uhlí. Kdysi byl využíván tepelný rozklad biomasy bez přístupu kyslíku ( $O_2$ ), ovšem byl značně nevhodný a ekologicky nevýhodný. Ve 21. století se využívá procesu suchá destilace, která se provádí v karbonizačních pecích za vzniku oxidu uhelnatého ( $CO$ ), toxických a karcinogenních látek, např. formaldehyd (methanal  $CH_2O$ ), acetaldehyd (ethanal  $CH_3-CHO$ ), ... a jiné. Výroba 1 tuny dřevěného uhlí spotřebuje zhruba 10 tun dřeva. [9]

### 1. 3. 6 Organická fermentace biomasy na mokré cestě

Při organické fermentaci biomasy obsahující cukr a škrob v mokřém prostředí a po následné destilaci produktu kvašení je získáván vysokoprocentní ethanol ( $CH_3-CH_2OH$ ), který má následné využití jakožto ekologické palivo pro spalovací motory. Z 1 kg cukru, pocházejícího z rostlin, lze teoreticky získat až 0,65 litrů čistého ethanolu. [9]

### 1. 3. 7 Esterifikace surových bio-olejů

Jedná se o chemickou přeměnu rostlinných olejů na estery, které se mohou využít v dieslových motorech, proto se jim též říká bionafta. Rostlinné oleje pocházejí z řepky olejné, nebo ze slunečnice roční, které se lisují za tlakových a extrakčních postupů. Dalším produktem,

co vzniká, je na protein bohatý koláč (zbytek). Ten je vhodný využít jako živočišné krmivo. Při esterifikační reakci se rostlinné glyceridy v přítomnosti methanolu ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), či ethanolu ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$ ) a vhodného katalyzátoru přeměňují na methyl nebo ethyl estery. Vedlejším produktem je glycerol. Nejslibnějším esterem pro výrobu bionafty je MEŘO (methylester řepkového oleje). Estery rostlinných olejů se mohou užívat ve směsi s běžnou motorovou naftou. [26]

Používání bionafty je oproti používání konvekční motorové nafty spojeno s menšími emisemi škodlivých látek. Tím pádem je omezen výskyt respiračních problémů a snižuje se riziko vzniku rakoviny. V řepkovém oleji dokonce není obsaženo ani velmi malé množství síry (S), takže při spalování nevzniká oxid siřičitý ( $\text{SO}_2$ ), což je původce některých respiračních problémů, a hlavně přispívá ke vzniku kyselého deště. Jediný problém, který se vyskytuje je zápach, který je podobný zápachu oleje při smažení, pokud je tedy používáno MEŘO (methylester řepkového oleje). [26]

Proces výroby MEŘO je velmi dobře propracován a komerční využití má ve Francii, v Německu, Itálii i v České republice. Poslední výsledky výzkumného programu Evropské komise Thermi Programme ukázaly, že u motorů pracujících se směsnými palivy, se nevyskytly žádné problémy. V dnešní době jsou hlavními překážkami uplatnění na trhu: vysoké výrobní náklady, omezené množství surovin (které umožňují státy Evropské unie vypěstovat) a nedostatek vůle států zavést na biopaliva daňové úlevy. [10, 26]

## 1. 4. Výhody a nevýhody využití biopaliv

Každé palivo má své výhody a nevýhody. Nejčastějšími výhodami jsou biologická odbouratelnost, ekologické palivo, dostupnost a obnovitelnost (energie z „vlastních“ zdrojů), vysoká mazací schopnost, netoxičita,...a další. [18]

Biologicky odbouratelná paliva, jsou taková paliva, která jsou časově rychleji degradována oproti běžně užívaným palivům (např. za dobu 28 dnů dojde k degradaci 95 % bio-nafty oproti 40 % ropné nafty). Dostupnost a obnovitelnost plodin na výrobu biopaliv je zřejmá. Státy EU včetně České republiky jsou schopné každý rok vypěstovat energeticky významné rostliny – cukrovou řepu, řepku olejnou, kukuřici. Dále se sem řadí i využití exkrementů a podestýlky od chovu skotu, prasat, drůbeže a koní. Velmi podstatnou výhodou je i netoxičita, ovšem je nutné dělat analýzy vzorků biopaliv, protože biopaliva mohou obsahovat různé příměsi těžkých kovů, síry, PAU či halogenů. [18, 19]

Z nevýhod jsou nejpatrnější ekonomicky náročná výroba, tvorba koroze a organických nánosů ve spalovacích motorech, nižší výkon, u některých paliv vyšší viskozita. Některé procesy přípravy biopaliv jsou jak energeticky, tak i ekonomicky velmi nepříznivé. U některých přeměn je nutné vytvořit speciální podmínky – vysoký tlak, teplota. Jako jedním z příkladů je právě pyrolýza, kde je nutné dosáhnout velmi vysoké teploty nad 600 °C. [18, 19]

## 1. 5. Výroba biopaliv první generace

Do první generace biopaliv patří bioethanol ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$ ) a bionafta. Zmíněná paliva se získávají přímo z biomasy, která je často získávána z pěstovaných plodit. Biethanol ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$ ) se vyrábí převážně fermentací C6 cukrů – zejména glukózy, kdy se používají klasické, či geneticky modifikované kmeny kvasinek (např. *Saccharomyces cerevisiae*). [21]

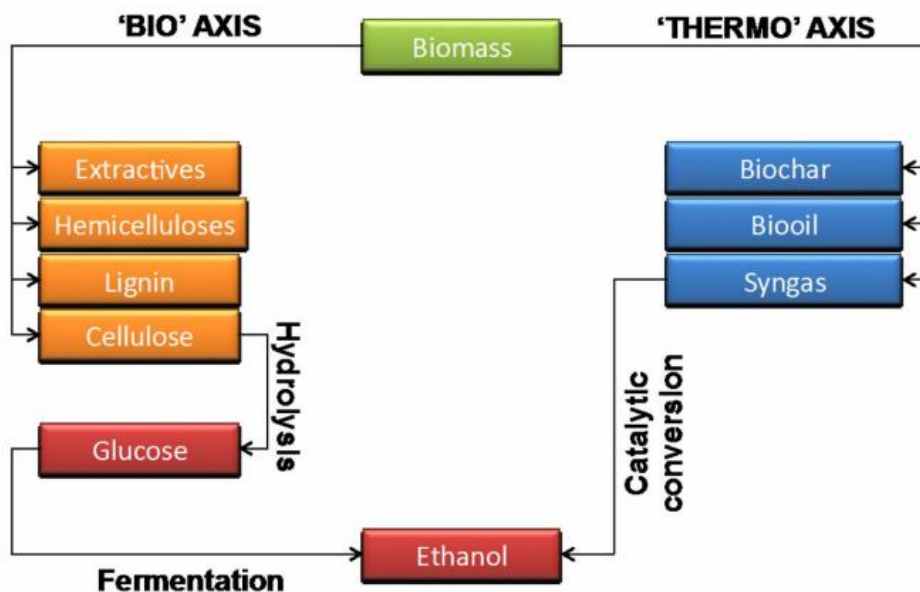
K produkci bioethanolu se nejčastěji používají cukrová třtina a kukuřice, méně používané zahrnují pšenici, ječmen, bramborové slupky a cukrovou řepu. Proces výroby bioethanolu z cukrové třtiny je poměrně jednoduchý. Do vody je vhozena cukrová třtina, která se drtí. Dělá se to za účelem oddělení sacharózy, která se musí následně vyčistit a posléze se může použít k výrobě surového cukru nebo ethanolu. Ovšem za to kukuřice je zase pro změnu hlavním zdrojem uhlovodíků, které se též mohou použít na výrobu ethanolu ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$ ). K tomu je zapotřebí použití enzymů, které jsou schopné štěpit škrob a tím oddělit cukry, které mohou být přeměněny na ethanol ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$ ). Jako nejpoužívanější enzym se používá  $\alpha$ -amyláza, a to sice díky nízké ceně. [11, 21]

Průmyslově produkované biopalivo, jakým je bionafta se výrobním procesem od výroby ethanolu ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$ ) velmi liší. Považuje se spíš za chemický proces. Proces výroby spočívá v extrakci olejů a jejich přeměnou na bionaftu. Dosahuje se toho tak, že se rozbijí vazby spojující dlouhé řetězce mastných kyselin na glycerol a jeho nahrazením methanolem v procesu transesterifikace. V USA se často využívá palmový, sójový olej a oleje z nejedlých rostlin jako je Dávivec černý (*Jatropha curcas*). Levnější variantou připadají již použité oleje, nebo již zmíněný olej Dávivce černého. [11, 22]

## 1. 6. Výroba biopaliv druhé generace

Surovinou druhé generace biopaliv je nepotravinářská biomasa. Jedná se zejména o lesní biomasu včetně těžebních zbytků, zemědělský odpad (seno, sláma, kukuřiční, řepkové a jiné rostlinné zbytky), energetické rostliny (čirok, křídlatka, šťovík,..apod.) či biologický odpad z domácnosti. [22]

Cílem je získat podstatně levnější biomasu, protože všechny potravinové plodiny (kukuřice, cukrová třtina, rostlinné oleje) jsou dražší. Proto se právě vyplatí používat lignocelulózovou biomasu ve výrobě paliv. Z druhé strany pohledu je zmíněná biomasa složitější na chemickou/biologickou přeměnu, a tudíž je závislá na nových technologiích. Z toho plyne, že výroba biopaliv druhé generace je spojená s komoditním trhem, takže cena přeměny prvotní suroviny na žádaný produkt musí být co nejnižší, aby se dosáhlo zisku. Tento procesy přeměny biomasy za získání biopaliv druhé generace se provádí dvěma způsoby, obecně označovanými jako „thermo“ nebo „bio“ přístup. Zjednodušené schéma výroby biopaliv druhé generace je znázorněno na obrázku číslo 1. [22]



Obrázek 1: Zjednodušené schéma výroby biopaliv 2. generace [22]

Z biopaliv, která jsou takto vyrobená sem patří bioethanol, motorová nafta jako syntetický produkt Fisher-Tropschovy syntézy ze syntézního plynu produkovaného zplyňováním biomasy, syntetická letecká biopaliva,..atd. [21]

### **1. 6. 1. Výroba bioethanolu**

Při výrobě bioethanolu se používá glukóza, nebo škrob a celulóza. Z rostlin se nejčastěji využívá cukrová řepa, cukrová třtina nebo obilí, ale i brambory. Cukr můžeme přímo kvasit na alkohol, ovšem škrob a celulózu musíme nejprve hydrolyzovat. K tomu se nejčastěji využívá enzymatická hydrolýza. Bohužel tento proces je u celulózy obtížný a časově náročný, a to i díky využití některých mikroorganismů. Pro lepší zpracování celulózy mikroorganismy je nutné ji upravit chemickou hydrolýzou s cílem ji z části depolymerizovat. K tomu se využívá působení zředěné kyseliny sírové ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) a následné zahřátí horkou parou na teploty 160 – 190 °C za zvýšeného tlaku. Při teplotách 190 – 210 °C dochází k reakci kyseliny s polysacharidy (hydrolýze) a tím vznikají zkvasitelné roztoky mono- a oligosacharidů. Ty už můžeme pomocí fermentace kvasinkami převést na ethanol. Produktem fermentace je rmut s obsahem ethanolu okolo 12 %. Následně probíhá destilace, po níž má surový alkohol koncentraci skoro 90 %. Ten je ovšem nutné zbavit vody průchodem molekulárních sít, kdy výsledkem je ethanol ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$ ) s vysokým obsahem čistoty. Nevýhodou je časová a energetická náročnost. [3, 15]

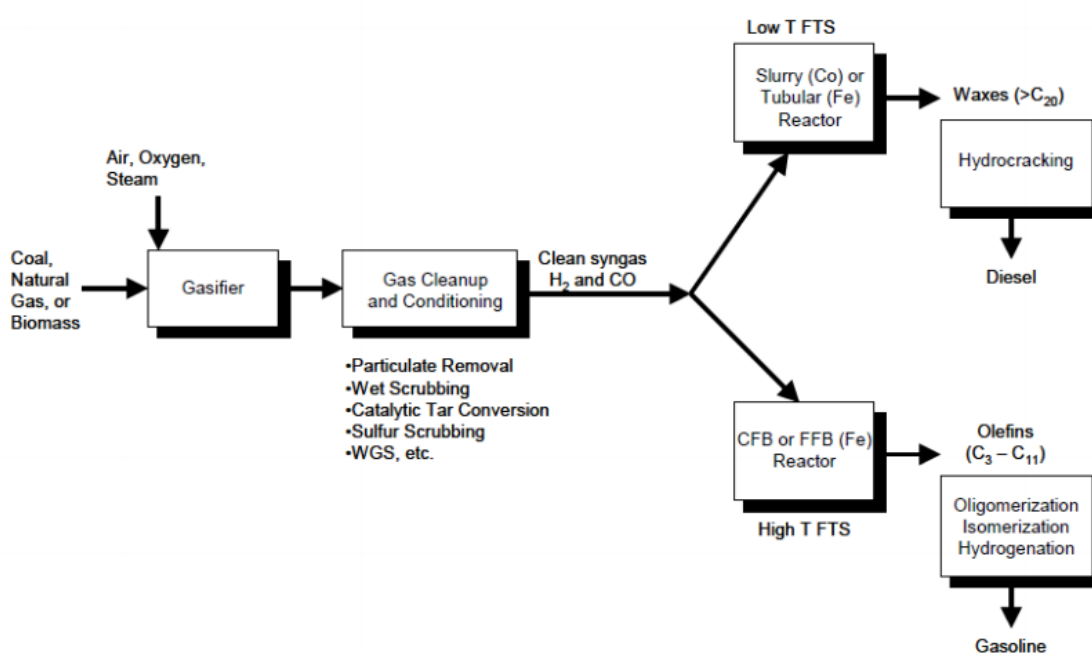
### **1. 6. 2. Výroba syntetické motorové nafty pomocí Fischer-Tropschovy syntézy**

V dnešní době se syntetická motorová paliva vyrábějí ze syntézního plynu, který produktem zemního plynu ( $\text{CH}_4$ ), nebo zplyňováním biomasy. Rozšíření surovinové základny Fischer-Tropschovy syntézy o zemní plyn souvisí se stále zvyšující se světovou spotřebou energie a se snižujícími se světovými zásobami ropy. Technologický postup výroby tohoto syntetického paliva se označuje jako GTL (Gas to Liquids). V současné době se pouze do některých nadstandardních paliv přidává složka GTL, která zvyšuje jejich kvalitu. Výroba syntetických motorových paliv realizovaná Fischer-Tropschovou syntézou na bázi biomasy nese označení BTL (Biomass to Liquids). Fischer-Tropschova syntéza je další variantou chemického i energetického využití biomasy, která se považuje za velmi perspektivní a v posledních letech je předmětem intenzivního výzkumu. Výroba syntézního plynu, základní suroviny pro Fischer-Tropschovu syntézu, je nejčastěji realizována zplyňováním biomasy. [16]

## Chemické procesy v rámci Fischer-Tropschova

Fischer-Tropschova syntéza byla dříve dlouho považována za polymerizační reakci, která se skládá z následujících kroků (Obrázek 2):

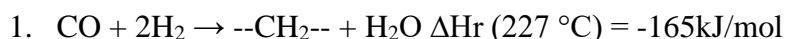
1. Adsorpce reaktantu (CO) na povrchu katalyzátoru.
2. Řetězová iniciace pomocí CO disociace následovaná hydrogenací.
3. Nárůst řetězců pomocí dalších CO molekul následovaných hydrogenací.
4. Řetězová terminace.
5. Desorpce produktu z povrchu katalyzátoru. [25]



Obrázek 2: Obecný diagram procesu Fischer-Tropschovy syntézy [25]

Na katalyzátor sorbovaný oxid uhelnatý (CO) je hydrogenován s vodíkem (H<sub>2</sub>) na alkylové radikály. Ty lze dále hydrogenovat na methan (CH<sub>4</sub>), nebo mohou působit jako programátor růstu uhlovodíkového řetězce. Ukončení tvorby řetězce může nastat kdykoliv během procesu růstu řetězce, čímž se tedy může získat určitý podíl  $\alpha$ -olefinů nebo n-parafinů, jakmile jednou produkt desorbuje. [25]

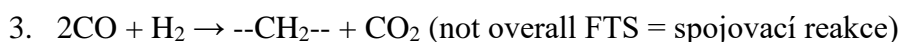
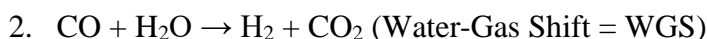
Reakce probíhající v procesu F-T syntézy:



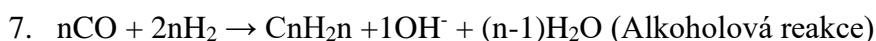
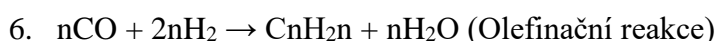
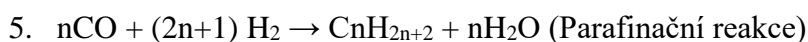
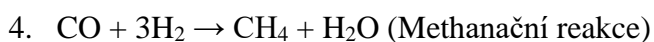
Druhou reakcí je přeměna vodní páry (H<sub>2</sub>O) a oxidu uhelnatého (CO) za pomoci železnatých (Fe) katalyzátorů, na směs plynů, která je složena z molekul oxidu uhličitého (CO<sub>2</sub>) a vodíku



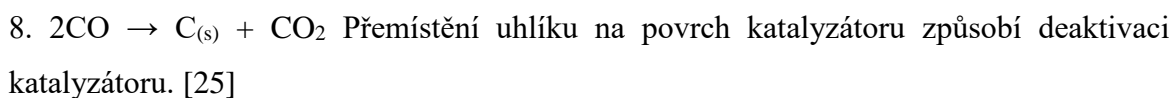
(H<sub>2</sub>). Pokud zkombinujeme reakci 1 s reakcí 2, získáme spojovací reakci pro Fe katalyzované Fischer-Tropschovy syntézní reakce (reakce 3). [25]



Specifické produkty Fischer-Tropschovy syntézy jsou syntetizovány z následujících reakcí [25]:



Další srovnatelnou reakcí, která může být důležitá v procesech Fischer-Tropschových syntéz je Boudouardova reakce [25]:

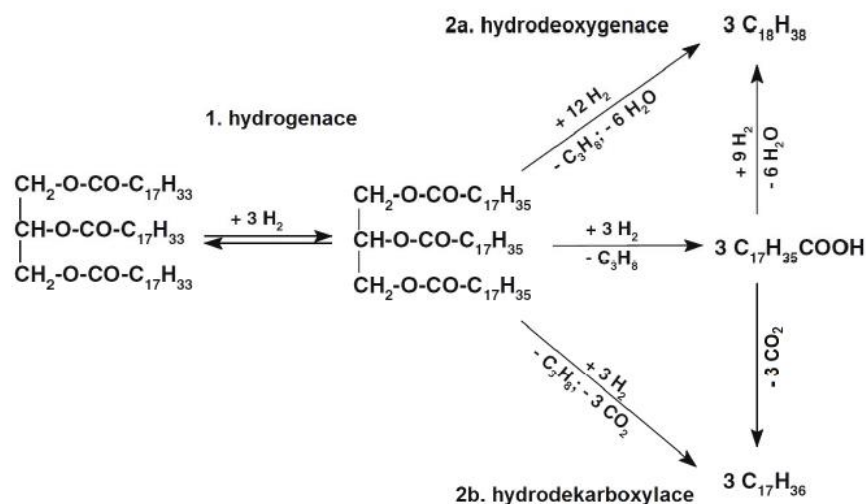


### 1. 6. 3. Získávání leteckých paliv hydrogenací rostlinných olejů (HJR, HEFA)

Při hydrogenaci rostlinného oleje dochází nejdříve k nasycení dvojných vazeb uhlovodíkových řetězců mastných kyselin vázaných v molekulách triglyceridů, a poté vlastní štěpení nasycených triglyceridů. Toto štěpení se provádí dvěma způsoby (Obrázek 3) [29]:

**Hydrodeoxygenace** – proces, při kterém dochází k rozpadu triglyceridů za tvorby propanu (CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 6 molekul vody (H<sub>2</sub>O) a 3 molekul n-oktadekanů (C<sub>18</sub>H<sub>38</sub>). Ti mají stejný počet uhlíkových atomů, jako mastné kyseliny vázané v původních molekulách triglyceridu. Nevýhodou je, že vyžaduje až 4 krát větší množství vodíku (H<sub>2</sub>) než hydrodekarboxylace. [29]

**Hydrodekarboxylace** – při tomto procesu vzniká propan (CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 3 molekuly oxidu uhličitého (CO<sub>2</sub>) a 3 molekuly n-heptadekanu (C<sub>17</sub>H<sub>36</sub>). Výtěžek uhlovodíků je asi o 5 % nižší než u hydrodeoxygenace. Může za to ztráta uhlíku v podobě oxidu uhličitého (CO<sub>2</sub>). [29]



Obrázek 3: Zjednodušené reakční schéma hydrogenace rostlinného oleje [29]

Jako výchozí surovina těchto procesů se využívají surové i odpadní rostlinné oleje a živočišné tuky. Finálním produktům hydrogenace olejů se v anglické literatuře říká zkratkou HVO (hydrotreated vegetable oil) nebo též HEFA (hydrotreated esters and fatty acids). [29]

Díky vysoké kvalitě těchto motorových paliv typu HVO se využívají jako letecká turbínová paliva, která se označují biojet, biokerosene, HRJ (hydroprocessed renewable jet). Jedno z významných paliv se jmenuje NExB-TL renewable aviation fuel, které vyrábí společnost Neste Oil. Tyto paliva mají nízkoteplotní vlastnosti, zejména nízký bod krystalizace, což je jeden z klíčových parametrů, který se u leteckých paliv sleduje. Některá z těchto paliv jsou již oficiálně schválená a využívána jako komponenty standartního leteckého paliva typu JET A1. Biopaliva typu HVO využívaná v letectví jsou tedy v současné době jediná biopaliva, díky kterým se může docílit snížení emisí skleníkových plynů v letecké dopravě. Při srovnání s ropnou motorovou naftou se u čistého HVO jedná o snížení emisí částic o 25-46 %, snížení emisí uhlovodíků a oxidu uhelnatého (CO) o 50-80 % a snížení oxidů dusíku (NO<sub>x</sub>) se pohybuje v rozmezí 6-16 %. [29]

#### 1. 6. 4. Biovodík jako produkt katalytické konverze syntézního plynu

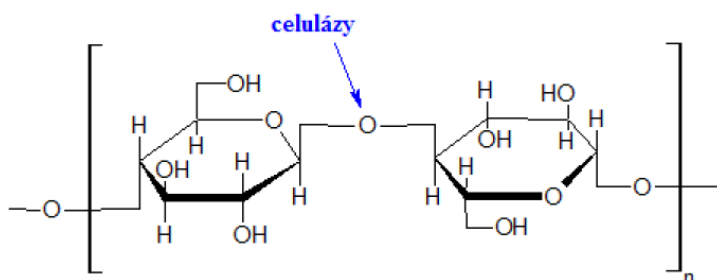
Vodík (H<sub>2</sub>) patří mezi ekologické nosiče velkého množství energie. Bohužel je velmi nestabilní a při styku se vzduchem je výbušný. Jako alternativní palivo pro pohon motorových vozidel je předmětem výzkumu. Vodík se získává rozkladem vody pomocí elektrolýzou. Principem je, že v uzavřeném cyklu se vodík (H<sub>2</sub>) získává z vody (H<sub>2</sub>O) a jeho opětovným spalováním vzniká voda (H<sub>2</sub>O). Škodliviny, které běžně vznikají při spalování fosilních paliv

vůbec nevznikají, nebo vznikají jako sekundární produkt v důsledku vlivů. Oxid uhličitý ( $\text{CO}_2$ ) zde nevzniká vůbec, protože v molekule vodíku se nenachází žádný uložený uhlík (C). Vznik nepatrného množství oxidů dusíku ( $\text{NO}_x$ ) je způsoben obsahem dusíku ( $\text{N}_2$ ) ve vzduchu. Stopová množství oxidu uhelnatého (CO), pevných částic, či oxidu siřičitého ( $\text{SO}_2$ ) ve spalinách vznikají v důsledku spalování zbytků motorových olejů. USA a EU počítají, že k výraznějšímu rozvoji vodíkových technologií může dojít po roce 2020, což je způsobeno několikanásobně dražší cenou vodíkových palivových článků. Ovšem již nyní některé světové automobilové závody (např. Toyota a Honda) vyvinuly modely aut pro pohon na bázi vodíkových palivových článků. [27]

## 1. 7. Využití celulózy z odpadního papíru

### Celulóza

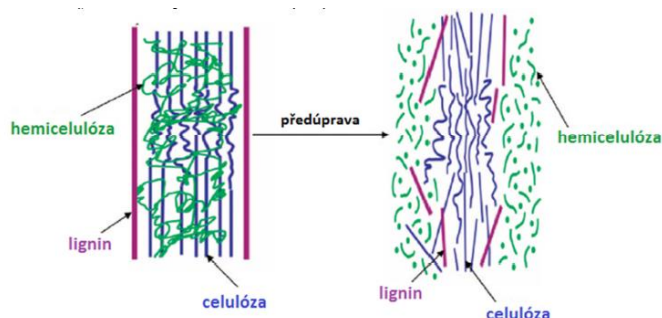
Jedná se o vysokomolekulární homopolysacharid, což znamená, že je to polysacharid tvořený stejnými sacharidickými podjednotkami, a sice zpolymerizovanou  $\beta$ -D-glukózou (Obrázek 4), u které jsou jednotlivé molekuly glukózy mezi sebou propojeny  $\beta$ -(1,4)-glykosidickými vazbami. V obr. 4 je uvedeno místo ataku při biochemické depolymeraci enzymy. U lineárního řetězce celulózy převládá krystalický charakter. Obsahuje také tzv. amorfni úseky, které jsou s krystalickou formou přítomny v poměru 1:3. Celulóza má běžně ve svém řetězci 800 – 17 000 glukózových jednotek. Jednotlivé řetězce celulózy jsou k sobě vázány prostřednictvím vodíkových vazeb a tvoří tzv. fibrily, fibrilární svazky, a ty tvoří stěny rostlinných buněk. [30, 32, 33]



Obrázek 4: Struktura celulózy [42]

### 1. 7. 1. Předúprava lignocelulóзовého materiálu

Jedná se o proces předběžné úpravy substrátu zejména fyzikální nebo chemickou cestou, možnost je využít i kombinaci obou metod. Účinnost metody předúpravy lignocelulóзовých materiálů je závislá na několika kritériích – musí se snížit velikost částic biomasy, odstranit lignin a snížit krystalinitu celulózy (Obrázek 5). V předúpravových procesech se využívá přídatných látek a energie, často se také jedná o jejich kombinaci. [34, 35]



Předúprava biomasy musí splňovat následující požadavky:

- Zvýšit tvorbu cukrů nebo schopnosti tvořit cukry v procesu hydrolýzy
- Zabránit rozkladu sacharidů, které by se mohly dále využívat
- Ekonomická efektivnost spojená s cenou biomasy i energetikou procesu

Metody předúpravy lze rozdělit do těchto kategorií: fyzikální, fyzikálně-chemické, chemické a biologické. Nejčastěji bývají využity kombinace těchto metod. [34, 35]

### **Fyzikální předúpravy**

#### ***Mletí***

Hlavním významem mechanických předúprav je snížení velikosti částic a krystalinitu, kvůli zvětšení specifického povrchu a snížení stupně polymerace lignocelulózové biomasy. Nejčastěji se provádí kombinace mletí, sekání a drcení. Energie, která je potřebná pro tento proces předúpravy závisí na požadované velikosti částic. Při úpravě na velmi drobné částice (prášek) je nákladnost procesu značně nevýhodná a ani nedochází k odstraňování ligninu. Pouze k jeho depolymeraci štěpením nekondenzovaných vazeb aryletherů. [34, 36, 37, 38]

#### ***Ozáření***

Na zlepšení enzymatické hydrolýzy lignocelulózových materiálů se používá záření (např.  $\gamma$ -záření, elektronový paprsek, či mikrovlnné záření). Vlivem ozáření dochází k degradaci křehkých vláken celulózy, tak i nízkomolekulárních oligosacharidů. Dochází zde disociaci glykosidických vazeb řetězci celulózy – pouze v přítomnosti ligninu. Důsledkem velmi intenzivního záření může docházet k rozkladům oligosacharidů a cyklické struktury glukózy. Bohužel se i zde se potýkáme s problémem ekonomicky nákladného průmyslového provozu. [39]

#### ***Předúprava teplem***

Během procesu fyzikální předúpravy pomocí tepla dochází k zahřívání lignocelulózového materiálu na teplotu 150 – 180 °C. Části lignocelulózové biomasy, zejména hemicelulóza a lignin se začínají rozpouštět. Tepelným působením na hemicelulózu je hydrolyzována a vznikají kyseliny, které katalyzují další hydrolýzu hemicelulózy.

Při teplotách nad 160 °C dochází k hydrolyzování ligninu a vznikají fenolické sloučeniny, které působí inhibičně na bakterie a kvasinky, proto je nutné tyto reaktivní sloučeniny odstranit. [32]

### **Fyzikálně-chemické metody**

#### ***Amoniakální exploze (AFEX)***

V této metodě se využívá kapalný amoniak ( $\text{NH}_3$ ) při teplotách 60 – 100 °C a vysokém tlaku, který působí různě dlouhou dobu. Principem metody je po nasycení biomasy nejprve snížení tlaku, čímž amoniak ( $\text{NH}_3$ ) přechází do plynného skupenství, a tak způsobuje bobtnání a fyzikální narušení vláken biomasy a také částečnou dekrystalizaci celulózy. Výsledkem metody AFEX je pouze předupravený materiál bez kapalného podílu, což snižuje náklady na proces. Krystalinika celulózy se sníží a dojde k rozrušení vazeb mezi ligninem a polysacharidy. Také je nutné odstranit acetátové skupiny. Stravitelnost biomasy pro enzymy se zvyšuje a enzymatická hydrolýza vede k vyšším výnosům cukrů. Výhodou je, že se v průběhu metody AFEX netvoří žádné inhibitory biologických procesů, i když některé extrakty buněčných stěn rostlin mohou zůstat na povrchu. Při optimálních podmínkách lze dosáhnout až 90 %-ní konverze celulózy a hemicelulózy na zkvasitelné cukry. [37]

#### ***Exploze oxidu uhličitého ( $\text{CO}_2$ )***

Zde se využívá oxidu uhličitého ( $\text{CO}_2$ ), jakožto superkritické tekutiny. Díky těmto podmínkám lze dosáhnout účinného odstranění ligninu, čímž vzroste stravitelnost substrátu. Delignifikace může být zvýšena přidávkem ethanolu ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$ ) do směsi. Molekuly oxidu uhličitého ( $\text{CO}_2$ ) jsou srovnatelné s velikostí vody ( $\text{H}_2\text{O}$ ), nebo amoniakem ( $\text{NH}_3$ ) a mohou tedy pronikat stejně malými póry lignocelulózy, což je usnadněno působením vysokého tlaku. Po velmi rychlém poklesu tlaku dochází k rychlému odpaření kapalné fáze vedoucímu k narušení struktury celulózy a hemicelulózy. To má za následek zvětšení plochy substrátu pro enzymy. Při nízkých teplotách nedochází touto metodou k rozpadu monosacharidů, a přesto jsou výtěžky cukrů nižší než u metody AFEX. [37]

#### ***Exploze vodní parou ( $\text{H}_2\text{O}$ )***

Tato metoda pojednává o hydrotermální předúpravě lignocelulóзовého materiálu vystaveného nasycené páře pod vysokým tlakem při teplotách 160 – 260 °C a pak dojde k náhlému poklesu tlaku na tlak atmosférický. Metoda je kombinací mechanické síly s chemickými účinky, protože dochází k autohydrolýze acetylových skupin přítomných v hemicelulóze. Voda ( $\text{H}_2\text{O}$ ) se při vysokých teplotách chová jako slabá kyselina. Mechanické

účinky způsobí oddělení vláken vlivem explozivní dekomprese. V kombinaci s částečnou hydrolyzou hemicelulózy je lignin uvolněn ze struktury a do určité míry odstraněn z materiálu. Mezi hlavní faktory, které mají vliv na účinnost této hydrotermální metody jsou velikost částic materiálu, teplota a doba působení vysokého tlaku. [36, 37]

### ***Parní exploze s přidavkem oxidu uhličitého (CO<sub>2</sub>) nebo kyselinou sírovou (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)***

Přidavkem kyseliny sírové (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), nebo oxidu uhličitého (CO<sub>2</sub>) se dá snížit doba působení vysokého tlaku a také teplota parní exploze. Zlepšuje hydrolyzu, protože vede k úplnému odstranění (zkapalnění) hemicelulózy a snižuje tvorbu inhibičních látek. Množství přidavku kyseliny sírové (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) nebo oxidu uhličitého (CO<sub>2</sub>) se pohybuje v rozmezí 0,3 – 3 % w/w. [34, 36]

### ***Předúprava horkou vodou (H<sub>2</sub>O)***

Další z metod hydrotermálních předúprav, která využívá rychlou dekompresi a nepoužívá žádný katalyzátor, ani chemikálie. Tlak se reguluje tak, aby zůstala voda v kapalném stavu při 160 – 240 °C, ale vyvolávala změny ve struktuře lignocelulózy. Vysoký tlak působí pouze pár minut, poté následuje dekomprese na atmosférický tlak. Cílem je tedy rozpustit hemicelulózu a tím zpřístupnit celulózu enzymům a zabránit tvorbě inhibičních látek. Metoda je to poměrně účinná, hlavně na odstranění hemicelulózy, ale úplné delignifikace působením horkou vodou (H<sub>2</sub>O) prostě nelze dosáhnout. Vlivem ekonomického hlediska je velmi žádanou metodou. [36, 37]

## **Chemické předúpravy**

### ***Ozonolýza***

Ozon (O<sub>3</sub>) je silný antioxidant, který je vysoce účinný při procesu odstraňování ligninu z lignocelulóзовých materiálů. Proces se provádí při pokojové teplotě za normálního tlaku. Zde nedochází ke vzniku inhibičních látek, které by omezovaly následné procesy hydrolyzy. Metoda je velmi neekonomická, protože ozon se připravuje při elektrickém výboji. [37]

### ***Peroxid vodíku (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)***

Biodegradační proces ligninu může být katalyzován enzymem peroxidázou v přítomnosti peroxidu vodíku (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Dochází k rozpuštění 50 % ligninu a veškeré hemicelulózy. Používá se 2%-ní H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> při teplotě 30 °C po dobu 8 hodin. V procesu zcukernatění se získá 95 % glukózy z celulózy za 24 hodin při 45 °C. [34]

### ***Předúprava organickými rozpouštědly***

Často se v této metodě uplatňují organické nebo vodní směsi rozpouštědel jako je methanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), ethanol ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$ ), ethylenglykol a tetrahydrofurfurylalkohol. Ty rozpouštějí lignin a umožňují lepší průnik k celulóze. Další výhodou je získání relativně čistého ligninu jako vedlejšího produktu. Organická rozpouštědla je možno i kombinovat s kyselinami (např. sírovou, chlorovodíkovou,..), které působí katalyticky a štěpí vazby v řetězci hemicelulózy. Přitom dochází k zanedbatelným ztrátám celulózy, které jsou pouhá 2 %. Organická rozpouštědla se odstraňují odpařováním. Je nutné je odseparovat, protože působí inhibičně na enzymy. Z ekonomického hlediska se nejčastěji užívá ethanol ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$ ) a methanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), protože mají nízké body varu. [34, 37]

### ***Alkalická předúprava***

Alkalickou předúpravou je možnost zvýšit dostupnost celulózy pro enzymy a účinně rozpustit lignin. Metoda se provádí za pokojové teploty v rozmezí několika sekund až dní. Dochází k degradaci cukrů, ale ne až v takové míře, jako při kyselé předúpravě, nebo při hydrotermálních procesech. Nejčastěji se využívají tyto zásady: NaOH, KOH,  $\text{Ca(OH)}_2$ . Hydroxid sodný (NaOH) způsobuje bobtnání vláken, zvýšení vnitřního povrchu celulózy a snižuje stupeň polymerace a krystalinitu, což vyvolává narušení struktury ligninu. Zvyšuje stravitelnost tvrdého dřeva ze 14 % na 55 % a snížení ligninu z 55 % až na 20 %. Za to hydroxid vápenatý ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) odstraňuje lignin, což zvyšuje krystalinitu a tím zlepšuje přístup enzymů k celulóze. Dochází i k odstranění acetylové skupiny. Tato metoda předúpravy působením hydroxidu vápenatého ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) se provádí při teplotách 85 – 150 °C po dobu 3 – 13 hodin. Ve srovnání s NaOH, či KOH je předúprava  $\text{Ca(OH)}_2$  značně ekonomická, jelikož může být znovu získán a použit. [37]

### ***Kyselé předúprava***

Tento typ metody předúpravy pomocí kyselin je hlavně zaměřen na rozpuštění celulózy, a tím ke zlepšení přístupu k celulóze. Dají se využívat zředěné i koncentrované kyseliny. Ty se ovšem využívají méně, protože dochází ke vzniku inhibičních látek, jako je furfural, hydroxymethylfurfural a aromatické sloučeniny uvolněné z ligninu. Kromě toho koncentrované kyseliny působí korozivně na reaktory, ve kterých je předúprava prováděna. Zředěné kyseliny jsou pro průmyslové aplikace výhodnější a lze je použít pro široké spektrum lignocelulóзовých materiálů. Provádí se při vysoké teplotě 180 °C po krátkou dobu, nebo při nižší teplotě 120 °C, po delší dobu (30 - 90 min). Vzniklý xylan, po rozpuštění hemicelulózy, je převáděn



na zkvasitelné cukry. Bohužel vlivem vysoké teploty při této metodě dochází k degradaci cukrů na furfural, hydroxymethylfurfural a aromatické sloučeniny z ligninu, stejně jako u koncentrovaných kyselin. Nejčastěji se využívá kyselina sírová ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), kyselina chlorovodíková ( $\text{HCl}$ ), kyselina fosforečná ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) a kyselina dusičná ( $\text{HNO}_3$ ). Bylo také zjištěno, že kombinace kyseliny a zásady má nejvyšší účinky na předúpravu a dostupnost celulózy pro enzymy. [36, 37]

### **1. 7. 2. Metody hydrolýzy lignocelulózového materiálu**

Polymery uhlovodíkového typu musí být převedeny na jednotlivé cukry pomocí procesu hydrolýzy, aby mohly být využity mikroorganismy. Často se využívá kyselé a enzymatické hydrolýzy (ta není předmětem mé práce). [31]

#### ***Kyselá hydrolýza zředěnými kyselinami***

Kyselá hydrolýza se provádí jako dvoustupňový proces s použitím zředěné kyseliny sírové ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), nebo dalších minerálních kyselin. Jedná se o nejstarší metodu technologie užívanou pro konverzi celulózy na ethanol ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$ ). V první fázi dochází k hydrolýze hemicelulózy vlivem nižších teplot ( $100 - 160\text{ }^\circ\text{C}$ ), aby se dosáhlo vzniku pěti-uhlíkatých cukerných jednotek. V druhé fázi probíhá samotná hydrolýza celulózy za působení vyšších teplot ( $200 - 400\text{ }^\circ\text{C}$ ) a přeměňuje se na šesti-uhlíkaté cukerné složky – glukózy ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ). Obsah glukózy v hydrolyzátu je pouze 50 %. Hydrolyzáty z obou procesů je také nutné zneutralizovat hydroxidem sodným ( $\text{NaOH}$ ) a poté fermentovat na alkohol. [31, 33, 40, 41]

#### ***Kyselá hydrolýza koncentrovanými kyselinami***

K této hydrolýze se nejčastěji využívají kyselina chlorovodíková ( $\text{HCl}$ ) a kyselina sírová ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Používají se protože, hydrolyzují hemicelulózu a celulózu za mírné teploty, a díky tomu je degradace cukrů minimální. Výtěžnost ethanolu ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$ ) po fermentaci je poměrně vysoká, což je rozhodujícím ekonomickým hlediskem. Bohužel koncentrované kyseliny jsou drahé, takže je nutné a žádoucí, aby se zpětně vrátily do provozu. Hlavní výhodou je široké spektrum biomasy, které lze využít jako vstupní surovinu pro přeměnu na cukry a následně na ethanol ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$ ). [31, 40]

## **Cíl experimentální části práce**

Hlavním cílem bylo ověřit účinnost hydrolýzy (odpadní) biomasy s použitím málo těkavé zředěné minerální kyseliny při teplotách, kdy dochází k jejímu zakoncentrování odpařováním vodní páry. Hodnocení bylo prováděno na základě gravimetrického stanovení zbytku nerozpustné biomasy. Po úvodních experimentech, které přinesly základní informace o stupni přeměny celulózy biomasy na ve vodě rozpustné produkty, byl v následných experimentech sledován vliv doby hydrolýzy a teploty na nárůst organických látek v kapalném podílu reakční směsi, který byl posuzován dle hodnot souhrnného parametru  $CHSK_{Cr}$ . Dalším cílem bylo ověřit možnost získávat při neutralizaci reakční směsi příslušné draselné soli pro hydrolýzu použité minerální kyseliny, které by potenciálně mohly být použity jako minerální hnojivo.

## 2 Experimentální část

### 2. 1. Použité chemikálie, pomůcky a zařízení

#### 2. 1. 1. Seznam použitých chemikálií

Chemická látka (čistota %)	Vzorec	Výrobce
D-Glukosa Monohydrát p.a.	$C_6H_{12}O_6$	PENTA s. r. o., Praha, ČR
Chlorid vápenatý dihydrát p.a. (99 %)	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	LACHEMA – Neratovice, s.r.o., ČR
Oxid hořečnatý, lehký	$MgO$	LACHEMA – Neratovice, s.r.o., ČR
Tartrát amonný	$C_4H_4O_6(NH_4)_2$	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Chlorid sodný, čistý (100 %)	$NaCl$	LACHEMA – Neratovice, s.r.o., ČR
Dihydrogenfosforečnan draselný (99-101 %)	$KH_2PO_4$	LACHEMA – Neratovice, s.r.o., ČR
Dihydrogenfosforečnan sodný (99-101 %)	$NaH_2PO_4$	LACHEMA – Neratovice, s.r.o., ČR
Fosforečnan sodný, čistý	$Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$	LACHEMA – Neratovice, s.r.o., ČR
Kyselina sírová (16 %)	16 %-ní $H_2SO_4$	PENTA s. r. o., Praha, ČR
Silikonový olej	-	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Papírovina (plato od vajíček)	$(C_6H_{10}O_5)_n$	Podnik pro výrobu vajec v Kosičkách, s.r.o.
Travina Chrastice rákosovitá ( <i>Phalaris arundinacea</i> )	$(C_6H_{10}O_5)_n$	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Voda	$H_2O$	-
Uhličitan draselný (bezvodý) p.a. (98 %)	$K_2CO_3$	LACH-NER – Neratovice, s.r.o., ČR

Síran hořečnatý heptahydrát p.a. (99 %)	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	LACH-NER – Neratovice, s.r.o., ČR
Amoniak (vodný $\Theta$ 25%)	$NH_4OH$	LACH-NER – Neratovice, s.r.o., ČR
Butyl-acetát	$CH_3COO(CH_2)_3CH_3$	-
Kyselina fosforečná (85 %)	85 %-ní $H_3PO_4$	LACHEMA – Neratovice, s.r.o., ČR
Krystalová violet'	$C_{24}H_{28}N_3Cl$	Majetek laboratoří KBBV, UPa
Chlorid sodný (0,9 %) (fyziologický roztok)	$NaCl$	Majetek laboratoří KBBV, UPa
Methylénová modř	$C_{16}H_{18}ClN_3S$	Majetek laboratoří KBBV, UPa
Lugolův roztok	$\Theta I_2 + KI + H_2O$	Připraveno v laboratořích KBBV, UPa
Karbofuchsin	-	Majetek laboratoří KBBV, UPa

Tabulka 2: Seznam použitých chemikálií

## 2. 1. 2. Seznam použitých pomůcek a zařízení

Součástí majetku laboratoře Ústavu environmentálního a chemického inženýrství, UPa.

Přístroj / Pomůcky	Výrobce
Magnetická míchačka	Heidolph Instruments D-91126 Schwabach MR
Termočlánek s regulací teploty	Heidolph EKT – 3001 (9–12 V), Německo
Váhy	Kern 440-35N – Balingen, Německo
Mlýnek na kávu	Bosh MKM 6003 – 180 W, (220 – 260 V)
Mineralizační termostat	Hach Lange LT200
Spektrofotometr	Hach Lange DR3900
Mikroskop	Eclipse E200-LED, Nikon Instruments Europe
pH – metr	Gryf 208L, Gryf HB, spol. s. r. o.
Erlenmeyerova baňka (500 ml)	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Sestupný chladič	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Teploměr	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Zátky	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Čtyřhrdlá nádoba	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Trojhrdlá nádoba (250 ml)	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Míchadlo	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Hodinové sklo	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Nůžky	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Hliníkový hrnec	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Násypka	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Lžice	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Nádoba (750 ml, 2000 ml)	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Zábrusová trubka pro odvod vznikajících plynů	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Promývačka (250 ml)	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Hadice	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Büchnerova nálevka	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Odsávací baňka	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Filtrační papír	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa

Dělička	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
pH – papírek	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Frita	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Krycí a podložní sklíčko	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Kahan	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa
Pipeta	Majetek laboratoří ÚECHI, UPa

*Tabulka 3: Seznam použitých pomůcek a zařízení*

## 2. 2. Hydrolýza recyklovaného papíru

### 2. 2. 1. Hydrolýza 10, 04 g papíroviny (plata na vejce) v 16%-ní $H_2SO_4$ - podle modifikovaného postupu z literatury [23]

#### Aparatura:



Obrázek 6: Aparatura pro hydrolýzu papíroviny – Foto: Pavel Matějček (2018)

#### Postup:

Byla složena destilační aparatura (sulfonační baňka ponořená v olejové lázni, opatřená elektromagnetickým mícháním, teploměrem a sestupným chladičem s vytárouvanou předlohou) a zapojen přívod vody do chladiče. Do nádoby sloužící jako olejová lázeň byl přidán silikonový olej. Na vahách bylo do připravené aparatury naváženo 10,04 g recyklovaného papíru z nastříhaných kusů plata od vajíček. K předloženým kusům papíru bylo nadávkováno 200 ml 16%-ní  $H_2SO_4$ . Vzhledem k velkému objemu čtyřhrdlé nádoby byla nádoba nahrazena za tříhrdlou nádobu o objemu 250 ml z důvodu rychlejší temperace.

Následně byla reakční směs temperována na 170 °C olejové lázni od 15 hodin, reakční směs za současného oddestilování vody postupně dosáhla po 2 hodinách záhřevu teploty 102 °C (89 °C na přestupníku). Temperování bylo ukončeno následující den v 6:30, reakční směs měla teplotu 117 °C a na přestupníku byla teplota 92 °C. Celkově bylo vydestilováno 152,47 ml těkavého podílu (voda se stopami  $H_2SO_4$ ) o hmotnosti 153,71 g.

Sulfonační baňka byla opatrně vytažena z olejové lázni a suspenze v ní obsažená byla převedena na Büchnerovu nálevku a s pomocí vývěvy byl kapalný podíl odsán. Odsátého černého podílu bylo 80 ml o hmotnosti 96,74 g. Tento podíl obsahoval středně koncentrovanou  $\text{H}_2\text{SO}_4$  s rozpuštěnými sacharidy. Pevný podíl na Büchnerově nálevce byl propláchnut 50 ml destilátu, poté vyňat, nechán vysušit a zvážen na předvážkách. Z 10,04 g papíroviny bylo získáno 5,82 g pevného podílu černé barvy. Filtrát byl převeden do 600 ml kádinky společně s elektromagnetickým míchadlem. Ta byla umístěna do prázdné misky na elektromagnetické míchadlo.

Posléze byl připraven vodný roztok rozpuštěním 45 g bezvodého  $\text{K}_2\text{CO}_3$  a 50 ml  $\text{H}_2\text{O}$ , který byl opatrně, za stálého míchání, dávkován do filtrátu, tak dlouho dokud roztok nepřestal pění (uvolňování  $\text{CO}_2$ ). Také docházelo k vylučování produktu srážení, a to konkrétně  $\text{K}_2\text{SO}_4$ . Proces neutralizace byl doprovázen zvýšením teploty směsi na  $40\text{ }^\circ\text{C}$ . Po ukončení neutralizace bylo změřeno pH, pomocí pH-papírku (neutrální pH 5). Směs byla následně ochlazená ve vodní lázni s ledem na  $15\text{ }^\circ\text{C}$  a kvantitativně zfiltrována na Büchnerově nálevce. Ve filtrátu (117 ml, 120,75 g) byla obsažena glukóza získaná hydrolýzou papíroviny. Nerozpustný podíl byl tvořen  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , který na filtračním papíře byl nechán sušit. Po zvážení podílu s  $\text{K}_2\text{SO}_4$  na předvážkách byl zjištěn výtěžek 40,64 g. V hydrolyzátu bylo určeno  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  pomocí kyvetových testů, v mineralizačním termostatu po dobu 2 hodin při  $144\text{ }^\circ\text{C}$ , které činilo 12,3 g/l.

### 2. 2. 2. Hydrolýza 20, 06 g papíroviny (plata na vejce) v 16%-ní $\text{H}_2\text{SO}_4$

- podle modifikovaného postupu z literatury [23]

#### Aparatura:



Obrázek 7: Aparatura pro hydrolýzu papíroviny – Foto: Pavel Matějčik (2018)



### **Postup:**

Byla složena destilační aparatura (sulfonační baňka ponořená v lázni ( $V = 250$  ml), opatřená elektromagnetickým mícháním, termočlánkem s regulací teploty, teploměrem a sestupným chladičem s vytárouvanou předlohou) a zapojen přívod vody do chladiče. Do nádoby sloužící jako olejová lázeň byl přidán silikonový olej. Na vahách bylo do připravené aparatury naváženo 20,06 g recyklovaného papíru z nastříhaných kusů plata od vajíček. K předloženým kusům papíru bylo nadávkováno 200 ml 16%-ní  $H_2SO_4$ .

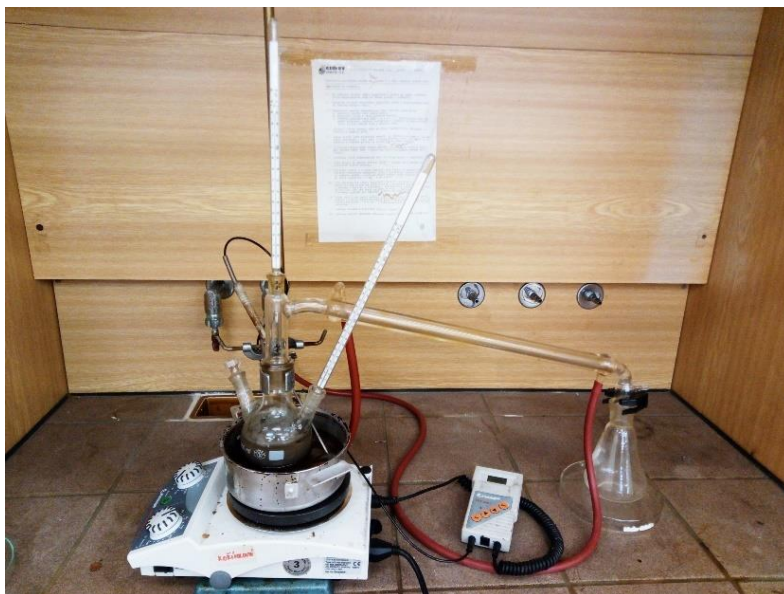
Následně byla reakční směs temperována na  $170\text{ }^\circ\text{C}$  v olejové lázni od 14:50 hodin, kdy v reakční směsi byla naměřena teplota  $102\text{ }^\circ\text{C}$  a na přestupníku byla teplota  $98\text{ }^\circ\text{C}$ . V čase 16:30 byla teplota reakční směsi  $103\text{ }^\circ\text{C}$  a na přestupníku teplota  $99,5\text{ }^\circ\text{C}$ . Temperování bylo poté ukončeno a spuštěno znovu následující den v 6:30, kdy teplota reakční směsi byla změřena teploměrem a čítala hodnotu  $97\text{ }^\circ\text{C}$  a na přestupníku  $80\text{ }^\circ\text{C}$ . Teplota oleje čítala  $180\text{ }^\circ\text{C}$ . Konec temperování byl v 15:00.

Vydestilovaného podílu vody s obsahem kyseliny sírové ( $H_2SO_4$ ) byl 140 ml a hmotnost 142,6 g. Suspenze obsažená v sulfonační baňce byla převedena na Büchnerovu nálevku a s pomocí vývěvy byl kapalný podíl odsán, který obsahoval středně zředěnou kyselinu sírovou a rozpuštěné sacharidy. Jeho množství činilo 25 ml a 28,57 g. Pevný podíl byl propláchnut 80 ml destilátu (81,02 g) se středně zředěnou kyselinou sírovou. Celkové množství kapalného podílu tedy bylo 105 ml o hmotnosti 109,59 g. Poté byl ještě černý pevný podíl převeden z Büchnerovy nálevky na hodinové sklo a vložen do sušárny. Hmotnost pevného podílu po vysušení činila 8,72 g. Filtrát byl převeden do 500 ml kádinky s elektromagnetickým míchadlem, jež následně byly umístěny do ledové lázně na elektromagnetické míchadlo.

Poté byl připraven roztok rozpuštěním 45 g bezvodého  $K_2CO_3$  a 50 ml  $H_2O$ , který byl opatrně za stálého míchání přidáván do filtrátu. Pěnění roztoku dokazovalo přítomnost  $CO_2$  a také docházelo k vylučování sraženého produktu  $K_2SO_4$ . Posléze bylo změřeno pH pomocí pH-papírku, které čítalo hodnotu 5, což dokázalo zneutralizování roztoku. Po ukončení měření pH byl roztok kvantitativně zfiltrován na Büchnerově nálevce. Ve filtrátu (180 ml; 196,54 g) byla obsažena glukóza, jež byla získána hydrolyzou papíroviny. Podíl vysráženého  $K_2SO_4$  byl nechán vysušit a následně zvážen. Jeho hmotnost byla 20,73 g. V hydrolyzátu bylo určeno  $CHSK_{Cr}$  pomocí kyvetových testů, které činilo 13,8 g/l.

### 2. 2. 3. Hydrolýza 15, 06 g papíroviny (plata na vejce) v 16%-ní H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - podle modifikovaného postupu z literatury [23]

#### Aparatura:



Obrázek 8: Aparatura pro hydrolýzu papíroviny – Foto: Pavel Matějček (2018)

#### Postup:

Byla složena destilační aparatura (sulfonační baňka ponořená v lázni (V = 250 ml), opatřená elektromagnetickým mícháním, termočlánkem s regulací teploty, teploměrem a sestupným chladičem s vytárouvanou předlohou). Do nádoby sloužící jako olejová lázeň byl přidán silikonový olej. Na vahách bylo do připravené aparatury naváženo 15,06 g recyklovaného papíru z nastříhaných kusů plata od vajíček, které byly namlety v mlýnku na kávu. K předložené drti bylo nadávkováno 200 ml 16%-ní H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Následně byla reakční směs temperována na 170 °C v olejové lázni od 09:30 hodin. V 15:45 byla teplota reakční směsi 112 °C a na přestupníku teplota 99 °C. Další měření proběhlo v 17:30, kdy teplota reakční směsi činila 118 °C, teplota na přestupníku 99 °C a teplota oleje čítala 166 °C. Temperování probíhalo přes noc a následující den v 7:40 proběhlo poslední měření a poté ukončení temperace: 118 °C reakční směs, 80 °C přestupník a 167 °C měla teplota oleje.

Množství vydestilovaného podílu vody s obsahem kyseliny sírové (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) bylo 163 ml a hmotnost čítala 164,24 g. Suspenze obsažená v sulfonační baňce byla převedena na frytu a s pomocí vývěvy byl kapalný podíl odsán, který obsahoval středně zředěnou kyselinu

sírovou a rozpuštěné sacharidy. Jeho množství činilo 22 ml a 24,62 g. Pevný podíl byl propláchnut 50 ml destilátu (51,11 g) se středně zředěnou kyselinou sírovou. Celkové množství kapalného podílu tedy bylo 72 ml o hmotnosti 80,65 g. Poté byl ještě černý pevný podíl převeden z fryty na hodinové sklo a vložen do sušárny. Hmotnost pevného podílu po vysušení činila 6,83 g. Filtrát byl převeden do 500 ml kádinky s elektromagnetickým míchadlem, jež následně byly umístěny do ledové lázně na elektromagnetické míchadlo.

Poté byl připraven roztok rozpuštěním 45 g bezvodého  $K_2CO_3$  a 50 ml  $H_2O$ , který byl opatrně za stálého míchání přidáván do filtrátu. Pěnění roztoku dokazovalo přítomnost  $CO_2$  a také docházelo k vylučování sraženého produktu  $K_2SO_4$ . Posléze bylo změřeno pH pomocí pH-papírku, které čítalo hodnotu 5, což dokázalo zneutralizování roztoku. Po ukončení měření pH byl roztok kvantitativně zfiltrován na Büchnerově nálevce. Ve filtrátu (93 ml; 102,73 g) byla obsažena glukóza, jež byla získána hydrolyzou papíroviny. Podíl vysráženého  $K_2SO_4$  byl převeden na hodinové sklo a následně zvážen. Jeho hmotnost činila 20,83 g. V hydrolyzátu byla také zjištěna hodnota  $CHSK_{Cr}$  pomocí kyvetových testů, které činilo 14,7 g/l.

#### **2. 2. 4. Hydrolyza 10, 04 g papíroviny (plata na vejce) v 16%-ní $H_3PO_4$ - podle modifikovaného postupu z literatury [23]**

**Aparatura:** viz aparatura (obrázek 6, 7, 8)

#### **Postup:**

Byla složena destilační aparatura (sulfonační baňka ponořená v lázni ( $V = 250$  ml), opatřená elektromagnetickým mícháním, termočlánkem s regulací teploty, teploměrem a sestupným chladičem s vytárouvanou předlohou). Do nádoby sloužící jako olejová lázeň byl přidán silikonový olej. Na vahách bylo do připravené aparatury naváženo 10,04 g recyklovaného papíru z nastříhaných kusů plata od vajíček, které byly namlety v mlýnku na kávu. K předložené drti bylo nadávkováno 200 ml 16 %-ní  $H_3PO_4$ . Tu bylo nutné si připravit z 85%-ní  $H_3PO_4$  v poměru 9 : 1 (180 ml  $H_2O$  a 20 ml 85%-ní  $H_3PO_4$ )

Následně byla reakční směs temperována na 170 °C v olejové lázni od 09:45. V čase 10:15 byla teplota reakční směsi 105 °C a na přestupníku teplota 98 °C. Další měření proběhlo v 15:30, kdy teplota reakční směsi činila 99 °C, teplota na přestupníku 93 °C a teplota oleje čítala 169 °C. Poté bylo měření ještě v 17:10, kdy teplota reakční směsi činila 96,5 °C, teplota na přestupníku 85,5 °C a teplota oleje čítala 169 °C Temperování

probíhalo přes noc a následující den v 6:30 proběhlo poslední měření a poté ukončení teploty: 95 °C reakční směs, 70 °C přestupník a 167 °C měla teplota oleje.

Množství vydestilovaného podílu vody s obsahem kyseliny fosforečné ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) bylo 155 ml a hmotnost čítala 160,32 g. Suspenze obsažená v sulfonační baňce byla převedena na frytu a s pomocí vývěvy byl kapalným podíl odsán, který obsahoval středně zředěnou kyselinu fosforečnou a rozpuštěné sacharidy. Jeho množství činilo 25 ml a 28,62 g. Pevný podíl byl propláchnut 50 ml (51,62 g) destilátu se středně zředěnou kyselinou fosforečnou. Celkové množství kapalného podílu tedy bylo 75 ml o hmotnosti 80,24 g. Poté byl ještě černý pevný podíl propláchnut 500 ml vody (aby došlo k odstranění přebytků kyseliny fosforečné ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ )), převeden z fryty na hodinové sklo a vložen do sušárny. Hmotnost pevného podílu po vysušení činila 6,08 g.

Filtrát byl převeden do 500 ml kádinky s elektromagnetickým míchadlem. Poté byl připraven roztok rozpuštěním 35,7 g bezvodého  $\text{K}_2\text{CO}_3$  a 50 ml  $\text{H}_2\text{O}$ , který byl opatrně za stálého míchání přidáván do filtrátu. Pěnění roztoku dokazovalo přítomnost  $\text{CO}_2$  a také docházelo k vylučování sraženého produktu  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Posléze bylo změřeno pH pomocí pH-papírku, které čítalo hodnotu 3. V tomto případě bylo pH pouze upraveno, kvůli nadměrné kyselosti filtrátu. Po ukončení měření pH byl roztok kvantitativně zfiltrován na Büchnerově nálevce. Ve filtrátu (140 ml; 153,10 g) byla obsažena glukóza, jež byla získána hydrolyzou papíroviny. Podíl vysráženého  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  byl převeden na hodinové sklo a následně zvážen. Jeho hmotnost činila 6,07 g. V hydrolyzátu byla také zjištěna hodnota  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  pomocí kyvetových testů, které činilo 4,85 g/l. Dále v něm bylo určeno pH, jehož hodnota byla 6,84.

Dále byl v hydrolyzátu dokázán struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ). Do 500 ml  $\text{H}_2\text{O}$  bylo přidáno 87,64 g  $\text{MgSO}_4$  podle teorie a kádinka s tímto roztokem byla přidána na elektromagnetické míchadlo a za stálého míchání bylo přidáno celkem 140 ml hydrolyzátu po kapkách. Následně bylo do roztoku přidáno několik kapek amoniaku ( $\text{NH}_3$ ) a pH bylo upraveno na hodnotu 8,26. Roztok s vysráženým struvitem ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) byl odsán pomocí vývěvy s frytou a dán sušit do sušárny. Hydrolyzát (665 ml; 690,68 g; pH = 8,26) byl dále předán na analýzu. V hydrolyzátu byla také zjištěna hodnota  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  pomocí kyvetových testů, které činilo 5,62 g/l.

## 2. 2. 5. Hydrolýza 10, 06 g papíroviny (plata na vejce) v 16%-ní H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - podle modifikovaného postupu z literatury [23]

**Aparatura:** viz aparatura (obrázek 6, 7, 8)

### **Postup:**

Byla složena destilační aparatura (sulfonační baňka ponořená v lázni (V = 250 ml), opatřená elektromagnetickým mícháním, termočlánkem s regulací teploty, teploměrem a sestupným chladičem s vytárouvanou předlohou) a zapojen přívod vody do chladiče. Do nádoby sloužící jako olejová lázeň byl přidán silikonový olej. Na vahách bylo do připravené aparatury naváženo 10,06 g recyklovaného papíru z nastříhaných kusů plata od vajíček. K předloženým kusům papíru bylo nadávkováno 200 ml 16%-ní H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Ještě před začátkem temperování bylo odebráno malé množství vzorku k určení hodnoty CHSK<sub>Cr</sub> pomocí kyvetových testů, jehož hodnota čítala 1,50 g/l. Následně byla reakční směs podrobena temperaci od 13:25 do 14:00. Teplota reakční směsi postupně narůstala z hodnoty 101 °C až na 105 °C a teplota na přestupníku taktéž stoupala z hodnoty 71 °C do hodnoty 98 °C. Po prvním temperování bylo znovu odebráno malé množství k určení hodnoty CHSK<sub>Cr</sub>. Hodnota činila 6,44 g/l, což dokázalo zvyšování podílu rozložení organické hmoty. Po týdnu bylo znovu provedeno odebrání vzorku pro CHSK<sub>Cr</sub> se získanou hodnotou 11,1 g/l. Posléze byla provedena druhá temperace od 13:40 do 14:30. Teplota v reakční směsi vzrůstala z hodnoty 100 °C na teplotu 104 °C a teplota na přestupníku se též zvyšovala z teploty 71 °C na teplotu 98 °C. Po druhé temperaci bylo provedeno další stanovení CHSK<sub>Cr</sub> s naměřenou hodnotou 13,1 g/l.

Vydestilovaného podílu vody s obsahem kyseliny sírové (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) bylo 4,5 ml o hmotnosti 6,78 g. Suspenze obsažená v sulfonační baňce byla převedena na Büchnerovu nálevku a s pomocí vývěvy byl kapalný podíl odsán, který obsahoval středně zředěnou kyselinu sírovou a rozpuštěné sacharidy. Jeho množství činilo 161 ml a 182,23 g. Poté byl černý pevný podíl převeden z Büchnerovy nálevky na hodinové sklo a vložen do sušárny. Hmotnost pevného podílu po vysušení činila 6,04 g. Filtrát byl převeden do 500 ml kádinky s elektromagnetickým míchadlem, jež následně byly umístěny do ledové lázně na elektromagnetické míchadlo. U filtrátu bylo taktéž určeno CHSK<sub>Cr</sub>, které činilo 25,7 g/l.

Poté byl připraven roztok rozpuštěním 45 g bezvodého K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 50 ml H<sub>2</sub>O, který byl opatrně za stálého míchání přidáván do filtrátu. Pěnění roztoku dokazovalo přítomnost CO<sub>2</sub>

a také docházelo k vylučování sraženého produktu  $K_2SO_4$ . Posléze bylo změřeno pH pomocí pH-papírku, které čítalo hodnotu 5, což dokázalo zneutralizování roztoku. Po ukončení měření pH byl roztok kvantitativně zfiltrován na Büchnerově nálevce. Ve filtrátu (211 ml; 227,80 g) byla obsažena glukóza, jež byla získána hydrolyzou papíroviny. Podíl vysráženého  $K_2SO_4$  byl nechán vysušit a následně zvážen. Jeho hmotnost byla 25,86 g. V hydrolyzátu bylo určeno  $CHSK_{Cr}$  pomocí kyvetových testů, které činilo 12,9 g/l.

## **2. 2. 6. Hydrolyza 10, 04 g papíroviny (plata na vejce) v 16%-ní $H_2SO_4$ - podle modifikovaného postupu z literatury [23]**

**Aparatura:** viz aparatura (obrázek 6, 7, 8)

### **Postup:**

Byla složena destilační aparatura (sulfonační baňka ponořená v lázni ( $V = 250$  ml), opatřená elektromagnetickým mícháním, termočlánkem s regulací teploty, teploměrem a sestupným chladičem s vytárouvanou předlohou) a zapojen přívod vody do chladiče. Do nádoby sloužící jako olejová lázeň byl přidán silikonový olej. Na vahách bylo do připravené aparatury naváženo 10,04 g recyklovaného papíru z nastříhaných kusů plata od vajíček. K předloženým kusům papíru bylo nadávkováno 200 ml 16%-ní  $H_2SO_4$ .

Ještě před začátkem temperování bylo odebráno malé množství vzorku k určení hodnoty  $CHSK_{Cr}$  pomocí kyvetových testů, jehož hodnota čítala 1,82 g/l. Následně byla reakční směs podrobena temperaci od 13:50 do 14:30. Teplota reakční směsi postupně narůstala z hodnoty 102 °C až na 103 °C a teplota na přestupníku taktéž stoupala z hodnoty 90 °C do hodnoty 100 °C. Po prvním temperování bylo znovu odebráno malé množství k určení hodnoty  $CHSK_{Cr}$ . Hodnota činila 8,21 g/l. Po sedmi dnech byla provedena druhá temperace od 06:20 do 12:50. Teplota v reakční směsi byla 102 °C a teplota na přestupníku se též zvyšovala až teplotu 98 °C. Po druhé temperaci bylo provedeno další stanovení  $CHSK_{Cr}$  s naměřenou hodnotou 12,73 g/l.

## 2. 3. Hydrolýza traviny

### 2. 3. 1. Hydrolýza 10,08 g traviny v 16%-ní $\text{H}_2\text{SO}_4$

- podle modifikovaného postupu z literatury [23]

#### Aparatura:



Obrázek 9: Aparatura pro hydrolýzu suché traviny – Foto: Pavel Matějčiek (2018)



Obrázek 10: Sulfonační banka naplněná suchou travinou – Foto: Pavel Matějčiek (2018)

### **Postup:**

Byla složena destilační aparatura (sulfonační baňka ponořená v lázni ( $V = 250$  ml), opatřená elektromagnetickým mícháním, termočlánkem s regulací teploty, teploměrem a sestupným chladičem s vytárouvanou předlohou) a zapojen přívod vody do chladiče. Do nádoby sloužící jako olejová lázeň byl přidán silikonový olej. Na vahách bylo do připravené aparatury naváženo 10,08 g traviny Chrastice rákosovité (*Phalaris arundinacea*). K předloženým kouskům nařezané traviny bylo nadávkováno 200 ml 16%-ní  $H_2SO_4$ .

Posléze byla reakční směs temperována od 14:50. Proces temperování byl ukončen téhož dne v 17:30. Vlivem nedbalosti zkontrolování aparatury došlo k částečnému vytečení 16%-ní  $H_2SO_4$  do olejové lázni, která následně zpolymerovala a ztuhla. Na proces temperace to ovšem nemělo nikterak závažný důsledek. Podíl vydestilované vody se stopami kyseliny sírové činil 128 ml s hmotností 128,09 g.

Suspenze obsažená v sulfonační baňce byla převedena na Büchnerovu nálevku a s pomocí vývěvy byl kapalný podíl odsán, který obsahoval středně zředěnou kyselinu sírovou ( $H_2SO_4$ ) a rozpuštěné sacharidy. Jeho množství činilo 32 ml a 39,91 g. Pevný podíl byl propláchnut 50 ml destilátu (51,11 g) se středně zředěnou kyselinou sírovou  $H_2SO_4$ . Celkové množství kapalného podílu tedy bylo 82 ml o hmotnosti 88,02 g. Poté byl ještě černý pevný podíl převeden z Büchnerovy nálevky na hodinové sklo a vložen do sušárny. Hmotnost pevného podílu po vysušení činila 5,98 g. Filtrát byl převeden do 500 ml kádinky s elektromagnetickým míchadlem, jež následně byly umístěny do ledové lázně na elektromagnetické míchadlo.

Poté byl připraven roztok rozpuštěním 45 g bezvodého  $K_2CO_3$  a 50 ml  $H_2O$ , který byl opatrně za stálého míchání přidáván do filtrátu. Pěnění roztoku dokazovalo přítomnost  $CO_2$  a také docházelo k vylučování sraženého produktu  $K_2SO_4$ . Posléze bylo změřeno pH pomocí pH-papírku, které čítalo hodnotu 5, což dokázalo zneutralizování roztoku. Po ukončení měření pH byl roztok kvantitativně zfiltrován na Büchnerově nálevce. Ve filtrátu (76 ml; 86,9 g) byla obsažena glukóza, jež byla získána hydrolyzou papíroviny. Podíl vysráženého  $K_2SO_4$  byl nechán vysušit a následně zvážen. Jeho hmotnost byla 31,28 g. V hydrolyzátu bylo určeno  $CHSK_{Cr}$  pomocí květových testů, které činilo 3,99 g/l.



### 2. 3. 2. Hydrolýza 15,02 g traviny v 16%-ní H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - podle modifikovaného postupu z literatury [23]

#### Aparatura:



Obrázek 11: Aparatura pro hydrolýzu traviny – Foto: Pavel Matějčík (2018)

#### Postup:

Byla složena destilační aparatura (sulfonační baňka ponořená v lázni (V = 250 ml), opatřená elektromagnetickým mícháním, termočlánkem s regulací teploty, teploměrem a sestupným chladičem s vytárouvanou předlohou). Do nádoby sloužící jako olejová lázeň byl přidán silikonový olej. Na vahách bylo do připravené aparatury naváženo 15,02 g uschlých a nastříhaných kousků traviny *Chrastice rákosovité* (*Phalaris arundinacea*), které byly namlety v mlýnku na kávu. K předložené drti bylo nadávkováno 200 ml 16 %-ní H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Následně byla směs temperována na 170 °C v olejové lázni od 10:30, kdy teplota reakční směsi měla 98 °C, na přestupníku byla hodnota 100 °C. V 17:30 proběhlo další měření – teplota oleje 166 °C, teplota reakční směsi 92 °C a na přestupníku byla hodnota 79 °C. Poslední měření bylo následující den v 10:00, kdy teplota oleje dosáhla hodnoty 170 °C, reakční směs měla teplotu 93 °C a na přestupníku byla teplota 80,5 °C. Ihned poté bylo temperování ukončeno.

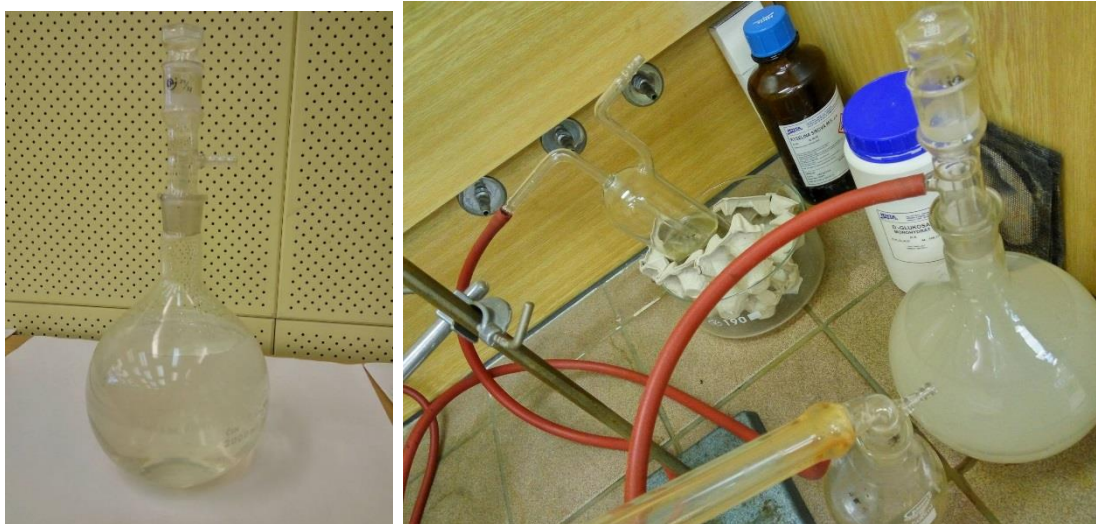
Směs obsažená v sulfonační baňce byla převedena na frytu a propláchnuta podílem vydestilované vody se stopami kyseliny sírové ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) (165 ml; 166,38 g). Odsátého podílu bylo 114 ml o hmotnosti 116,69 g. Černý podíl na frytě byl následně propláchnut vodou a dán na hodinové sklo a vložen sušit do sušárny. Hmotnost pevného podílu po vysušení činila 6,68 g. Filtrát byl převeden do 500 ml kádinky s elektromagnetickým míchadlem, jež následně byly umístěny do ledové lázně na elektromagnetické míchadlo.

Poté byl připraven roztok rozpuštěním 45 g bezvodého  $\text{K}_2\text{CO}_3$  a 50 ml  $\text{H}_2\text{O}$ , který byl opatrně za stálého míchání přidáván do filtrátu. Pěnění roztoku dokazovalo přítomnost  $\text{CO}_2$  a také docházelo k vylučování sraženého produktu  $\text{K}_2\text{SO}_4$ . Posléze bylo změřeno pH pomocí pH-papírku, které čítalo hodnotu 5, což dokázalo zneutralizování roztoku. Po ukončení měření pH byl roztok kvantitativně zfiltrován na Büchnerově nálevce. Ve filtrátu (164 ml; 173,44 g) byla obsažena glukóza, jež byla získána hydrolýzou papíroviny. Podíl vysráženého  $\text{K}_2\text{SO}_4$  byl nechán vysušit a následně zvážen. Jeho hmotnost byla 12,17 g. V hydrolyzátu bylo určeno  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  pomocí kyvetových testů, které činilo 7,93 g/l a jeho pH činilo 6,91.

## 2. 4. Fermentace glukózy

- podle modifikovaného postupu z literatury [24]

### Aparatura:



Obrázek 12: Fermentační nádoba + aparatura – Foto: Pavel Matějčiček (2018)

10X roztok solí: 5 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 0,5 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  + 0,84 g  $\text{MgO}$  + 50 g  $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6(\text{NH}_4)_2$  + 0,5 g  $\text{NaCl}$  + 500 ml  $\text{H}_2\text{O}$  + 12,76 ml 16 %-ní  $\text{H}_2\text{SO}_4$

$\text{MgSO}_4$  byl připraven reakcí 0,84g  $\text{MgO}$  s 12,76 ml 16 %-ní  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Fosfátový pufr byl připraven smícháním 3,8 g  $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  a 1,56 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  se 100 ml  $\text{H}_2\text{O}$ .

### Postup:

Do nádoby o objemu 2000 ml bylo předloženo 39,94 g (0,2 mol) glukózy, jež byla zředěna 1500 ml vody. Následovala příprava 1.0 M fosfátového pufru a roztoku solí označení 10X. Fosfátový pufr a roztok solí 10X byly přidány do živného roztoku a celkový objem byl upraven na 2000 ml přidávkem odměřeného množství vody. Jako poslední komponenta byla navážka 32,66 g kvasnic. Třetí den po vytvoření roztoku, ze kterého unikají přes promývačku naplněnou vodou bubliny plynu (vývin  $\text{CO}_2$ ) bylo do něj přidáno 40 g glukózy, přidavek byl doprovázen intenzivním pěněním. Sedmý den, čtrnáctý den, jedna-dvacátý a osma-dvacátý den byla navážka 40 g glukózy opakována, celkem takto bylo do 2 litrů fermentované směsi postupně nadávkován 240 g glukózy, jejímž kvašením by dle teorie mělo vzniknout 122,743 g ethanolu.

A. Třicátý pátý den bylo z roztoku 2000 ml odebráno 500 ml a tento objem byl použit k extrakci. Jako extrakční činidlo bylo využito 50 ml butyl-acetátu [CH<sub>3</sub>COO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>] a extrakce se prováděla 3x po dobu nejméně 5 minut. Jako extrakční aparatura byla využita Erlenmeyerova baňka (1000 ml), míchátko, elektromagnetické míchadlo, dělička (1000 ml) a zábrusová trubka na Erlenmeyerovu baňku. Po složení aparatury se 500 ml kvasného roztoku převedlo do Erlenmeyerovy baňky, též bylo přidáno 50 ml butyl-acetátu a zprovoznilo se elektromagnetické míchadlo. Míchání probíhalo po dobu nejméně 5 minut a výsledkem bylo vyextrahování všech alkoholů vzniklých kvasným procesem glukózy. Následně se vše převedlo do děličky a počkalo se na oddělení fází. Spodní fáze byla ještě dvakrát extrahována vždy 50 ml butyl-acetátu. Horní, bíle zakalená fáze byla nechána odseparovat v dělicí nálevce, vznikající bezbarvá horní vrstva butyl-acetátového extraktu byla následně předána na GS analýzu. Po extrakci byl celý objem nezakalené spodní fáze (430 ml) převeden do jiné kvasné nádoby, do které bylo přidáno 3,6 g kvasnic a 10 g glukózy, celkově tedy tato nádoba obsahovala 250 g glukózy, a to podle teorie čítá celkově 127,857 g ethanolu. Tato nádoba byla opatřena zábrusovou trubkou napojenou vývodem hadice do promývačky, kvůli odvodu vznikajícího plynu CO<sub>2</sub>. Ve spolupráci s diplomantkou z katedry biologických a biochemických věd (KBBV) byl odebrán vzorek pro vitální barvení, tj. k určení počtu živých a mrtvých buněk. Tento vzorek byl 10 krát zředěn.

B. Třicátý pátý den bylo do roztoku 1500 ml přidáno 30 g glukózy a čtyřicátý druhý den byla přidána navážka 10 g glukózy. Celkový obsah glukózy v 1,5 litru fermentované směsi byl 280 g glukózy což teoreticky odpovídá výtěžku 143,1986 g ethanolu.

### Výpočty:

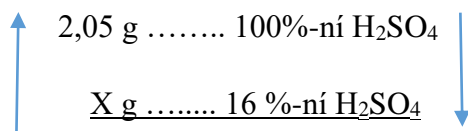
- **Navážka MgO:**  $n_{\text{MgO}} = n_{\text{MgSO}_4}$

$$M_{\text{MgO}} = 40,32 \text{ g/mol}; M_{\text{MgSO}_4} = 120 \text{ g/mol}; m_{\text{MgSO}_4} = 2,5 \text{ g}$$

$$m_{\text{MgO}} = \frac{m_{\text{MgSO}_4}}{M_{\text{MgSO}_4}} * M_{\text{MgO}} = \frac{2,5}{120} * 40,32 = 0,84 \text{ g}_{\text{MgO}}$$

- **Navážka 16 %-ní H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**  $n_{\text{MgO}} = n_{\text{H}_2\text{SO}_4}$   $M_{\text{MgO}} = 40,32 \text{ g/mol}; M_{\text{H}_2\text{SO}_4} = 98 \text{ g/mol};$   
 $m_{\text{MgO}} = 0,84 \text{ g}$

$$m_{\text{H}_2\text{SO}_4} = \frac{m_{\text{MgO}}}{M_{\text{MgO}}} * M_{\text{H}_2\text{SO}_4} = \frac{0,84}{40,32} * 98 = 2,042 \text{ g}_{\text{H}_2\text{SO}_4}$$



$$x = \frac{100}{16} * 2,042 = 12,76 \text{ ml } 16 \text{ \% -ní H}_2\text{SO}_4$$

- **Teoretický výtěžek Ethanolu (nádobka 1 500 ml – 32,66g kvasnic)**

$$n_{\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6} = 2 n_{\text{C}_2\text{H}_6\text{O}} \quad M_{\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6} = 180,1559 \text{ g/mol}; M_{\text{C}_2\text{H}_6\text{O}} = 46,068 \text{ g/mol};$$

$$m_{\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6} = 280 \text{ g}$$



$$m_{\text{C}_2\text{H}_6\text{O}} = 2 * \frac{m_{\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6}}{M_{\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6}} * M_{\text{C}_2\text{H}_6\text{O}} = 2 * \frac{280}{180,1559} * 46,068 = 143,1986 \text{ g}_{\text{C}_2\text{H}_6\text{O}}$$

- **Teoretický výtěžek Ethanolu (nádobka 500 ml – 3,6 g kvasnic)**

$$n_{\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6} = 2 n_{\text{C}_2\text{H}_6\text{O}} \quad M_{\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6} = 180,1559 \text{ g/mol}; M_{\text{C}_2\text{H}_6\text{O}} = 46,068 \text{ g/mol};$$

$$m_{\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6} = 250 \text{ g}$$



$$m_{\text{C}_2\text{H}_6\text{O}} = 2 * \frac{m_{\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6}}{M_{\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6}} * M_{\text{C}_2\text{H}_6\text{O}} = 2 * \frac{250}{180,1559} * 46,068 = 127,857 \text{ g}_{\text{C}_2\text{H}_6\text{O}}$$

## 2. 5. Analýza hydrolyzátů

K analýze hydrolyzátů bylo připraveno živné médium pro zjištění inhibiční aktivity hydrolyzátů vůči kvasinkovým buňkám (*Saccharomyces cerevisiae*). V nádobě 1 500 ml bylo smícháno 20 g monohydrátu D-glukózy, 10 g kvasinek a 1000 ml H<sub>2</sub>O. Do živného média mělo být přidáno i 0,5 g/l KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, avšak dihydrogenfosforečnan draselný byl nahrazen K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Z celkových 68 ml hydrolyzátu získaného z pokusu, kap. „, 2. 2. 1. Hydrolýza 10, 04 g papíroviny v 16%-ní H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>“, bylo přepočítáno, že množství K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, které je nutno přidat do média odpovídá 4,62 g. Tento vedlejší produkt byl získán při neutralizaci produktu hydrolýzy. Třetí den bylo do takto připraveného roztoku přidáno 10 g glukózy. Teoretický výtěžek ethanolu byl 15,34 g/l roztoku. Dalším krokem byla spolupráce s diplomantkou z katedry biologických a biochemických věd, která následně prováděla tyto úkony. Po týdnu byly z kultivačního média odebrány vzorky k mikroskopování. Před vlastním mikroskopováním byl každý vzorek 3x zředěn fyziologickým roztokem.

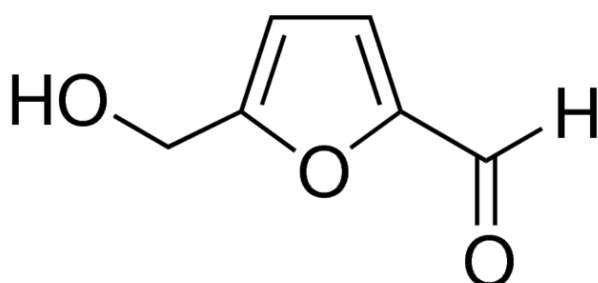
Z daných vzorků byly zhotoveny:

- A) nativní preparáty, které se používají k pozorování pohybu buněk. Buňky byly pozorovány ve světlém poli při zvětšení 400 x.
- B) vzorky byly obarveny dle Grama, kdy vzorek byl zvětšen 1000 x a bylo prováděno pozorování pod imerzním olejem. Zde byla zkoumána bakteriální kontaminace vzorků.
- C) vzorky byly obarveny methylenovou modří (tzv. vitální barvení). Vitální barvení se využívá k určení počtu mrtvých buněk ve vzorku. Kvasinkové buňky byly pozorovány ve světlém poli při zvětšení 400 x. [17]

## 3 Výsledky a diskuze

### 3. 1. Hodnocení přeměny biomasy na ve vodě rozpustné produkty

V rámci spolupráce s VÚT v Brně byla analyzována složení hydrolyzátů z experimentů hydrolýzy odpadní biomasy (experimenty 2. 2. 1 – 2. 2. 4) a hydrolýzy traviny (experimenty 2. 3. 1 a 2. 3. 2). Bylo prokázáno minimální množství cukrů, spíše se jednalo o obsah následných produktů. Jednalo se zejména o 5-hydroxymethylfurfural (Obrázek 13), kyselinu octovou ( $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{COOH}$ ) a kyselinu mravenčí ( $\text{HCOOH}$ ). Toto zjištění indikovalo, že je potřeba zmírnit podmínky hydrolýzy, aby nedošlo ke kompletnímu rozhydrolyzování cukrů.



Obrázek 13: Vzorec 5-hydroxymethylfurfuralu [28]

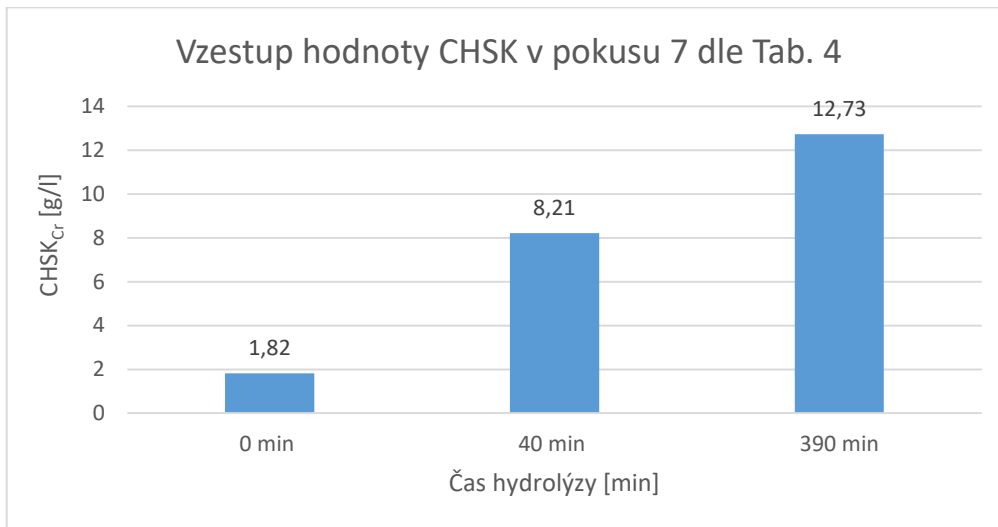
V tabulce č. 4 je popsán výsledek elementární analýzy nerozpustných podílů. Zároveň bylo experimentálně zjištěno procentuální zastoupení prvků (C, H, N a S) ve výchozí papírovině a travině, které byly použity na experimenty. V pokusech 1, 2, 3, 5 a 6 bylo zjištěno zbytkové množství síry (S), z využití minerální kyseliny ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) na hydrolýzu. Procentuální obsah elementů se zvyšoval vlivem rozpadu celulózy na menší řetězce mono- a oligosacharidů.

Vzorek	Výsledek elementární analýzy nerozpustných podílů v %			
	C	H	N	S
Papírovina	42,09 ± 0,03	4,80 ± 0,01	0	0
1. pokus (2. 2. 1)	42,87 - 45,59	3,18 ± 0,20	0	5,83 - 6,89
2. pokus (2. 2. 2)	43,54 - 45,05	5,37 ± 0,08	1,44 ± 0,07	1,67 - 2,85
3. pokus (2. 2. 3)	31,67 ± 0,08	2,87 ± 0,04	0,39 ± 0,02	9,67 ± 0,22
4. pokus (2. 2. 4)	43,34 ± 0,52	5,40 ± 0,08	0,50 ± 0,06	0
Travina	39,35 ± 0,09	5,28 ± 0,03	0,48 ± 0,07	0
5. pokus (2. 3. 1)	13,64 ± 0,27	3,76 ± 0,36	0,38 ± 0,03	16,75 ± 0,15
6. pokus (2. 3. 2)	20,79 - 21,83	3,18 ± 0,12	0	11,83 - 12,84

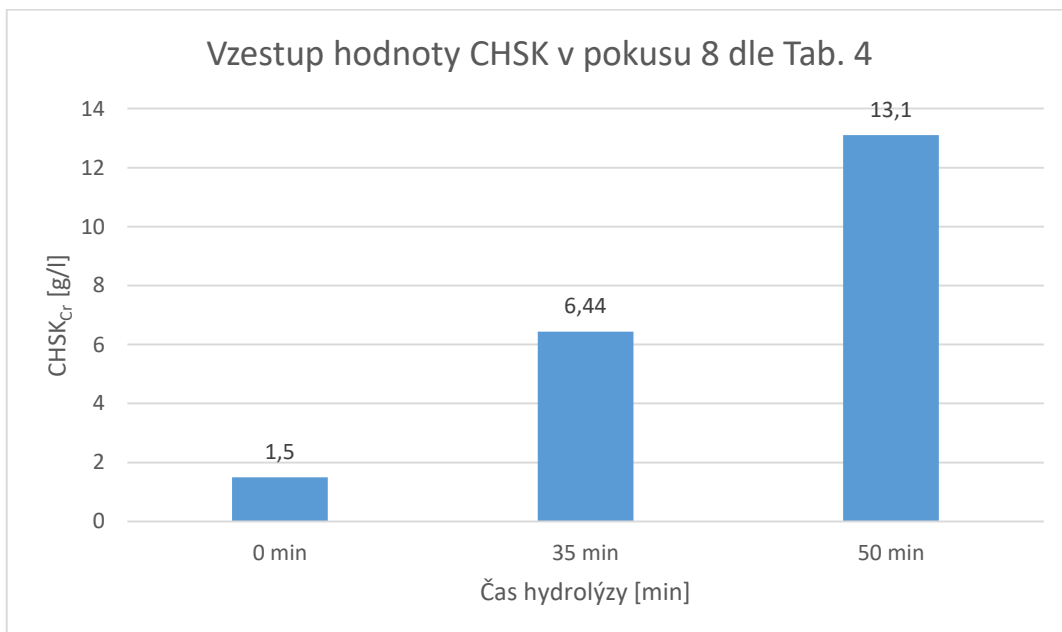
Tabulka 4: Výsledek elementární analýzy nerozpustných podílů

### 3. 2. Zjištění závislosti délky hydrolyzy na hodnotách CHSK

Zde se se vyhodnocovaly výsledky naměřených hodnot  $CHSK_{Cr}$ , pomocí kyvetových testů. Jednalo se o hodnoty z pokusu 7 a 8. Naměřené hodnoty  $CHSK_{Cr}$  byly zaneseny do grafu. Je zřejmé, že délka hydrolyzy je podstatná, ale pouze pokud se jedná o časový horizont 1 hodiny. Pak už se hodnoty CHSK výrazně nemění a zůstávají konstantní.



Graf 1: Vzestup hodnoty CHSK v pokusu 7 podle Tab. 4

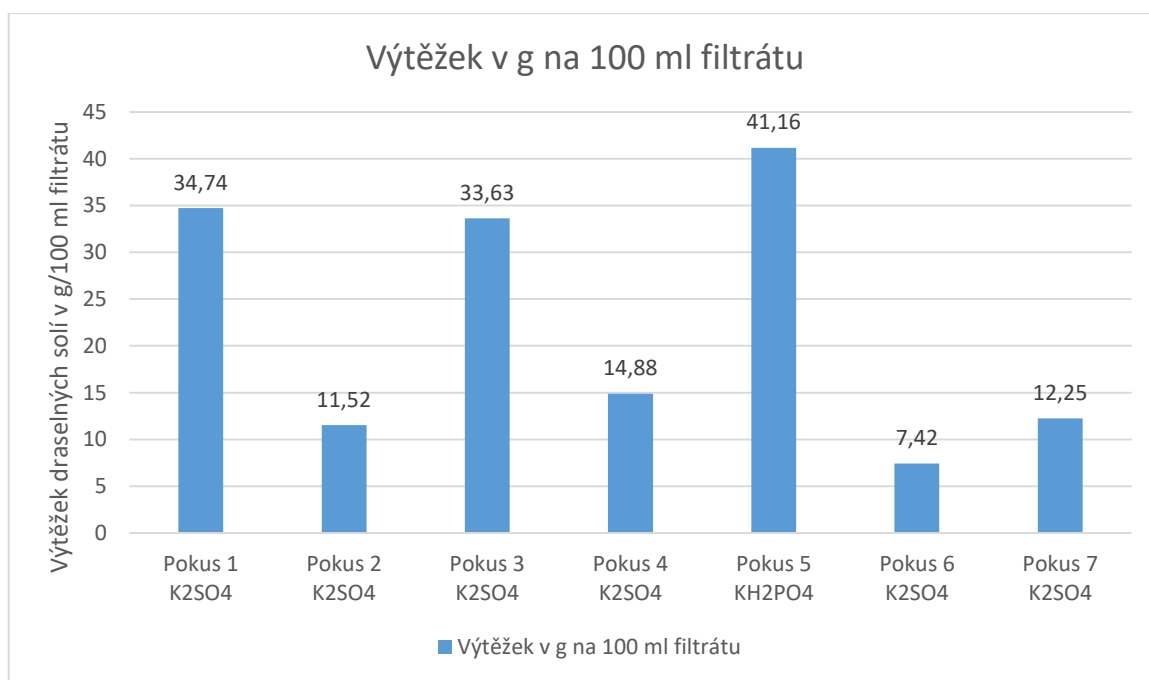


Graf 2: Vzestup hodnoty CHSK v pokusu 8 dle Tab. 4



### 3. 3. Separace $K_2SO_4$ krystalizací po neutralizaci filtrátů s $K_2CO_3$

Zde se zejména vyhodnocovaly výsledky získaných výtěžků z pokusů 1 - 7. Nejdříve bylo nutné hydrolyzáty, které vznikly za působení 16%-ní  $H_2SO_4$  (u pokusu 5 za působení 16%-ní  $H_3PO_4$ ) na odpadní papírovinu nebo travinu, zneutralizovat pomocí 45%-ního roztoku  $K_2CO_3$ . Při neutralizaci docházelo k pění roztoku, což dokazovalo vývin  $CO_2$ , a zároveň se na dně začal srážet pevný síran draselný  $K_2SO_4$  (u pokusu číslo 5 vznikl pevný  $KH_2PO_4$ ). Celkovou sumarizaci zásad, hmotnosti pevného podílu, hmotnosti výtěžků a moly použité kyseliny jsou uvedeny v tabulce (Tab. 5). Největšího výtěžku bylo dokázáno v pokusu číslo 5 – hydrolyza traviny, kdy hmotnost pevné draselné soli  $K_2SO_4$  byla 41,16 g na 100 ml filtrátu. Druhého největšího výtěžku se dosáhlo v pokusu číslo 1 - při hydrolyze papíroviny, kdy podíl vysrážených draselných solí činil 34,74 g na 100 ml filtrátu. (Graf. 3) Zásadní vliv na výtěžek draselných solí má teplota a délka temperace. Největších výtěžků draselných solí se dosáhlo při temperaci 2 – 2,5 hod. V ostatních případech byly hydrolyzáty příliš rozhydrolyzované a obsah draselných solí v nich byl nižší.



Graf 3: Výtěžek draselných solí na 100 ml filtrátu

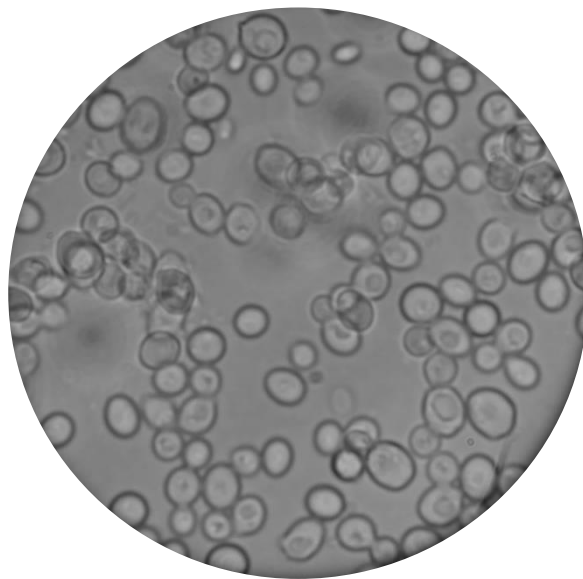
<b>Pokus</b>	<b>Navážka</b>	<b>Moly použité kyseliny</b>	<b>Nerozpustný podíl</b>	<b>Separované draselné soli</b>	<b>Moly draselné soli</b>
1. pokus (2. 2. 1) Hydrolyza papíroviny v 16 %-ní H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	10,04 g	M (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) = 98,079 g/ mol ρ = 1,109 g/ ml 0,36182 molů	5,82 g	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 34,74 g/100 ml filtrátu	M (K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) = 174,26 g/ mol 0,23321 molů
2. pokus (2. 2. 2) Hydrolyza papíroviny v 16 %-ní H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	20,06 g	M (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) = 98,079 g/ mol ρ = 1,109 g/ ml 0,36182 molů	8,72 g	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 11,52 g/100 ml filtrátu	M (K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) = 174,26 g/ mol 0,11896 molů
3. pokus (2. 3. 1) Hydrolyza travin v 16 %-ní H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	10,08 g	M (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) = 98,079 g/ mol ρ = 1,109 g/ ml 0,36182 molů	5,98 g	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 33,63 g/100 ml filtrátu	M (K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) = 174,26 g/ mol 0,17950 molů
4. pokus (2. 2. 3) Hydrolyza papíroviny v 16 %-ní H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	15,06 g	M (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) = 98,079 g/ mol ρ = 1,109 g/ ml 0,36182 molů	6,83 g	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 14,88 g/100 ml filtrátu	M (K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) = 174,26 g/ mol 0,11953 molů
5. pokus (2. 2. 4) Hydrolyza papíroviny v 16 %-ní H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	10,04 g	M (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ) = 97,994 g/mol ρ = 1,089 g/ml 0,355561 molů	6,08 g	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 41,16 g/100 ml filtrátu	M (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) = 136,086 g/ mol 0,04460 molů
6. pokus (2. 3. 2) Hydrolyza travin v 16 %-ní H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	15,02 g	M (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) = 98,079 g/ mol ρ = 1,109 g/ ml 0,36182 molů	6,68 g	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 7,42 g/100 ml filtrátu	M (K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) = 174,26 g/ mol 0,06983 molů
7. pokus (2. 2. 5) Hydrolyza papíroviny v 16 %-ní H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	10,06 g	M (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) = 98,079 g/ mol ρ = 1,109 g/ ml 0,36182 molů	6,04 g	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 12,25 g/100 ml filtrátu	M (K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) = 174,26 g/ mol 0,14834 molů

Tabulka 5: Sumarizace a přehled výtěžků hydrolyz

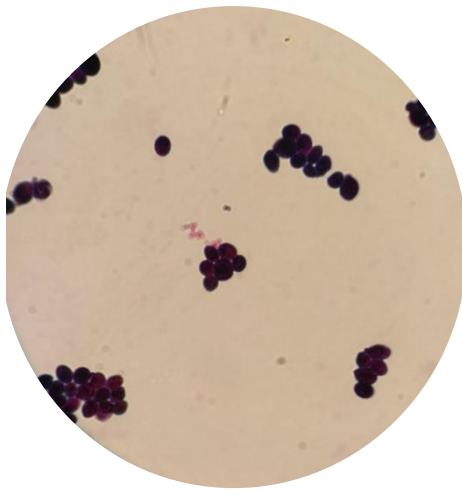
### 3. 4. Hydrolyzáty – Zjištění inhibiční aktivity

Tento výzkum byl prováděn v laboratořích na katedře biologických a biochemických věd, Univerzity Pardubice společně s diplomantkou z již zmíněné katedry. Součástí výzkumu bylo i pořízení fotografií v mikroskopu. (Obrázek 14, 15, 16). Prvním částí výzkumu bylo pozorování kvasinkových buněk v připraveném nativním preparátu. Byly pozorovány pohybující se kvasinkové buňky (*Saccharomyces cerevisiae*) při zvětšení 400 x ve světelném poli. Důkazem je jejich fotografie je na obrázku č. 14. Dalším krokem bylo obarvení vzorků dle Grama. Zjišťovala se bakteriální kontaminace mikrokoky, které mohou ovlivnit životaschopnost a metabolismus kvasinek. Výzkum byl prováděn tak, že obarvený vzorek byl 1000 x zvětšen a pozorování probíhalo pod imerzí. Na obrázku č. 15 jsou patrné červeně obarvené gramnegativní bakterie a fialově obarvené grampozitivní kvasinky. Poslední částí výzkumu bylo vitální barvení, kdy v 10 zorných polích byl pozorován poměr živých a mrtvých kvasinkových buněk ve vzorku. Využívala se k tomu methylenová modř a vzorek byl 400 x zvětšen. Na obrázku č. 16 jsou patrné modře obarvené buňky, které jsou již mrtvé, naopak živé buňky obarveny nejsou. Díky této metodě byl zjištěn podíl mrtvých buněk ve vzorku 6,31 %.

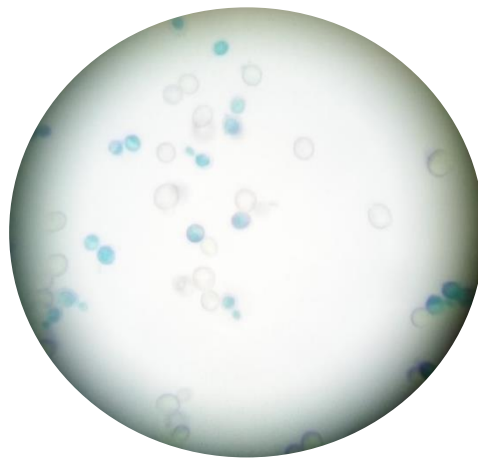
Ze získaných experimentálních měření lze říci, že hydrolyzáty mohou být pro obohacení kultivačního média použity jako zdroj draselných solí a síranů. Kvasinky v tomto médiu přežívají a jejich vitalita není hydrolyzáty příliš ovlivněna.



Obrázek 14: Pozorování pohybu buněk *S. cerevisiae* – Foto: KBBV, UPa (2018)



Obrázek 15: Barvení dle Grama – Foto: KBBV, UPa (2018)



Obrázek 16: Vitální barvení – Foto: KBBV, UPa (2018)

### 3. 5. Fermentace glukózy – Zjištění inhibiční aktivity

Byl odebrán vzorek z nádoby, která obsahovala: objem nezakalené fáze po extrakci (viz. 2. 4. Fermentace glukózy), 3,6 g kvasnic a 250 g glukózy (teoreticky 126,857 g ethanolu). Tento vzorek byl 10 krát zředěn a ve spolupráci s diplomantkou z katedry biologických a biochemických věd byl analyzován. Zjišťovala se inhibiční aktivita kvasinkové buňky (*Saccharomyces cerevisiae*) při zvětšení 400 x ve světelném poli. Byla zjištěna 100 % úmrtnost kvasinkových buněk, což bylo způsobeno využitím butyl-acetátu ( $\text{CH}_3\text{-CO-O-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_3$ ) – pro kvasinkové buňky je příliš toxický. Proto se butyl-acetát nedoporučuje jako vhodné extrakční činidlo.

## Závěr

Bakalářská práce je zaměřena na problematiku získávání kapalných biopaliv v ČR a zemích EU. V teoretické části jsou popsány způsoby využití biomasy k energetickým účelům, výhody a nevýhody využití biopaliv a detailně popsány výroby biopaliv první a druhé generace. Jelikož v experimentální části bakalářské práce byla využita celulóza z odpadního papíru, byly v teoretické části popsány i předúpravy a metody hydrolýzy lignocelulózového materiálu. Bylo zjištěno, že některé procesy výroby biopaliv jsou ekonomicky nevýhodné, a proto se biopaliva příliš nevyužívají. Časté využití nalézají v letectví, kde se tyto biopaliva připravují hydrogenací rostlinných olejů a označují se HJR či HEFA.

V experimentální části byl proveden laboratorní výzkum, který spočíval v hydrolýze celulóзовého materiálu (odpadní papíroviny, nebo uschlé traviny) se zředěnou minerální kyselinou. Hodnotila se přeměna biomasy na ve vodě rozpustné produkty – zejména cukry, což se týkalo experimentů hydrolýzy papíroviny (2.2. 1 – 2. 2. 4) a hydrolýzy traviny (2. 3. 1 a 2. 3. 3). V rámci spolupráce s VUT v Brně bylo prokázáno, že hydrolyzáty obsahují především produkty hydrolýzy cukrů – hlavně tedy kyselinu octovou, kyselinu mravenčí a 5-hydroxymethylfurfural. Následně také byly pevné nerozpustné podíly podrobeny elementární analýze. V experimentech 2. 2. 5 a 2. 2. 6 se zjišťovala závislost délky hydrolýzy na množství ve vodě rozpustných organických sloučenin. Toto množství bylo posuzováno na základě stanovení souhrnného parametru  $CHSK_{Cr}$  stanovovaného pomocí kyvetových testů. Prokázalo se, že délka hydrolýzy minerální kyselinou má podstatný vliv na hodnotu  $CHSK_{Cr}$ , ale pouze v horizontu 1 hodiny záhřevu v 16%-ní minerální kyselině na teplotu 98 °C, následně se již hodnoty  $CHSK_{Cr}$  výrazně neměnily a zůstaly konstantní. Součástí experimentů byla i separace draselných solí ( $K_2SO_4$ ) krystalizací po neutralizaci získaných filtrátů po separaci nerozpustného podílu biomasy, pro neutralizaci se používal  $K_2CO_3$ . Největšího výtěžku bylo dosaženo při násadě 10,04 g, době ohřevu 20 hod 45 min na teplotu 95 °C, kdy výtěžek činil 41,16 g  $KH_2PO_4/100$  ml filtrátu. Maximální výtěžek  $K_2SO_4$  byl dosažen při násadě 10,04 g, době ohřevu 15 hod 30 min na teplotu 117 °C a činil 34,74 g  $K_2SO_4/100$  ml filtrátu. Ze vzorku hydrolyzátu, vzniklého hydrolýzou 10,04 g papíroviny v 16%-ní  $H_2SO_4$ , době ohřevu 15 hod 30 min, při teplotě 117 °C o pH 5, bylo odebráno 4,78 ml (4,62 g) a smícháno s 10 g kvasinkových buněk, 1000 ml vody a 30 g D-glukózy. V takto vzniklém kultivačním médiu pro kvasinkové buňky byla následně zjišťována jejich inhibiční aktivita, bakteriální kontaminace pomocí barvení dle Grama, a poté počet mrtvých buněk pomocí barvení methylenovou modří. Byl tedy zjištěn podíl mrtvých buněk ve vzorku pouze 6,31 %.

## Použitá literatura

1. PASTOREK, Z., KÁRA, J., JEVIČ, P. *Biomasa obnovitelný zdroj energie*. FCC PUBLIC. **2004**. 17-18s. **ISBN 80-86534-06-5**
2. MINISTERSTVO ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ. *Možnosti energetického využití biomasy*. Praha. **2013**. 6-28s. **ISBN 978-80-74-34-122-9**
3. MURTINGER K., BERANOVSKÝ J. *Energie z biomasy*. 1. vyd. Brno: ERA, **2006**, 94 s. **ISBN 80-7366-071-7**
4. Autor neznámý. *Unikátní technologie pro zplyňování biomasy*. Technický týdeník (2016). 19. vyd. Praha: SpringerMedia, **1952**. s. 17. **ISSN 0040-1064**
5. Česká bioplynová asociace. Česká bioplynová asociace [online]. Copyright © 2013 [cit. 14.03.2017]. Dostupné z: <http://www.czba.cz>
6. JEREMIÁŠ, M., POHOŘELÝ, M., VOSECKÝ, M., SKOLJBA, S., ... a spol. *Alotermní fluidní zplyňování biomasy*. Paliva 1. Praha. **2009**. Sborník přednášek, 80–93
7. Česká peleta. O vytápění biomasou od A až do Z | *Pelety, brikety, dřevo* | Česká peleta [online]. Copyright ©2017 [cit. 20.03.2017]. Dostupné z: <http://www.ceska-peleta.cz/komfortni-teplisko/o-vytapeni-biomasou-od-a-az-do-z/>
8. JÍLKOVÁ, L., CIAHOTNÝ, K., ČERNÝ, R. *Technologie pro pyrolýzu paliv a odpadů*. VŠCHT. Paliva. **2012**. roč. 4, č. 3, s. 74-80. **ISSN 1804-2058**
9. VOBOŘIL, D. OEnergetice.cz Biomasa – využití, zpracování, výhody a nevýhody, energetické využití v ČR. [online]. Copyright © 2017 [cit. 20.03.2017]. Dostupné z: <http://oenergetice.cz/technologie/obnovitelne-zdroje-energie/biomasa-vyuziti-zpracovani-vyhody-a-nevyhody/>. **2017**
10. MURTINGER, K., BERANOVSKÝ, J. *Energie z biomasy*. 1. vyd. Brno: ERA vydavatelství, **2006**, 56 s. **ISBN 80-7366-071-7**
11. SCHLAUB, G., VETTER, A. *Biofuels for Automobiles*. Chem. Eng. Technol. (2008). Weinheim: Wiley-VCH. **1921**. 31. vydání. s. 721-743
12. Skupina ČEZ. Jak funguje bioplynová stanice | *Obnovitelné zdroje* | Skupina ČEZ. [online]. Copyright © **2017**, ČEZ, [cit. 21.03.2017]. Dostupné z: <https://www.cez.cz/cs/vyroba-elektriny/obnovitelne-zdroje/biopl原因/jak-funguje-biopl原因ova-stanice.html>
13. Skupina ČEZ.: *Energie z obnovitelných zdrojů*. 2. vyd. Praha: ATYPO, s. r. o., **2003**, 36 s.
14. DUNDÁLKOVÁ P., MARADA P.,... a spol. *Průručka pro nakládání s digestátem a fugátem*. Brno, Mendlova zemědělská a lesnická univerzita, **2009**, 30s. **ISBN 978-80-88000-11-2**
15. QUASCHNING, V. *Obnovitelné zdroje energií*. Praha: Grada, **2010**. Stavitel. **ISBN 978-80-247-3250-3**.
16. HROMÁDKO, J., HROMÁDKO, J., HONIG, V., CINDRA, M., *Technologie výroby biopaliv druhé generace*. Praha 10: Chemické listy. **2010**. roč. 104, č. 8, s. 784 – 790. **ISSN: 0009-2770**.

17. RYCHLÍKOVÁ, I. *Problematika získávání kvasného procesu v přítomnosti organických rozpuštědel omezeně mísitelných s vodou*. Pardubice, **2018**. Diplomová práce (Ing.). Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Katedra chemického a procesního inženýrství.
18. WEISS, V., SVOBODOVÁ, J. *Biopaliva – jejich výhody a nevýhody*. Ústí nad Labem, **2014**. Projekt – CZ.1.07/2.3.00/45.0029
19. TYKALOVÁ, V. *Biopaliva – alternativa budoucnosti?* Ústí nad Labem, **2010**. Bakalářská práce. (Bc.) Univerzita J. E. P. v Ústí nad Labem, Fakulta sociálně ekonomická
20. OCHODEK, T., KOLONIČNÝ, J., JANÁSEK, P. *Potenciál biomasy, druhy, bilance a vlastnosti paliv z biomasy*. Studie vypracovaná v rámci projektu „Možnosti lokálního vytápění výroby elektřiny z biomasy“, Výzkumné energetické centrum, Ostrava **2006**. 1-24 s. **ISBN 80-248-1207-X**
21. MCALOON, A., TAYLOR, F., YEE, W., IBSEN, K., WOOLEY, R. *Determining the cost of producing ethanol from corn starch and lignocellulosic feedstocks*. Colorado: National Renewable Energy Lab., Golden, CO (US). **2000**. **NREL/TP-580-28893**
22. LEE, R. A., LAVOIE, J-M. *From first-to-third-generation biofuels: Challenges of producing a commodity from a biomass of increasing complexity*. Oxford Academic: Animal Frontiers. **2013**. roč. 2, č. 3, s. 6-11 **ISSN 2160-6056**
23. MASCAL, M., SCOWN, R. *Converting municipal waste into automobile fuel: Ethanol from newspaper*. Journal of Chemical Education, University of California Davis, Department of chemistry. **2008**. roč. 85, č. 4, s. 546-548. **ISSN 0021-9584**
24. EPSTEIN, J-L., VIERA, M., BINOD, A. *Developing biofuel in teaching laboratory: Ethanol from various sources/ Ethanol from grass*. Journal of Chemical Education. Saint Peters College, Jersey City, Department of chemistry. **2010**. roč. 87, č. 7, s.708-710. **ISSN 0021-9584**
25. SPARTH, P-L., DAYTON, D-C. *Preliminary Screening — Technical and Economic Assessment of Synthesis Gas to Fuels and Chemicals with Emphasis on the Potential for Biomass-Derived Syngas*. Golden, Colorado. 2003. s. 90-107. **NREL/TP-510-34929**
26. EUREC, A. *The Future for Renewable Energy 2 – Prospects and Directions*, London. James and James Science Publishers. **2002**. **ISBN 978-1-902916-31-6**
27. POŽÁROVÁ Ivana *Alternativní zdroje energie-biopaliva*. Zlín, **2007**. Bakalářská práce (Bc). Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. **ISBN 80-7366-071-7**. Dostupné: [https://biom.cz/upload/6e01d6d4c4835ec93cda508772f3bf6e/alternativni\\_zdroje\\_energie\\_biopaliva\\_bp.pdf](https://biom.cz/upload/6e01d6d4c4835ec93cda508772f3bf6e/alternativni_zdroje_energie_biopaliva_bp.pdf)
28. Sigma-Aldrich: Analytical, Biology, Chemistry & Materials Science products and services. | Sigma-Aldrich [online]. Dostupné z: [https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/w501808?lang=en&region=CZ&gclid=CjwKCAjw68zZBRAnEiwACw0eYcseaqses6FWfOMIyOJOAcgkwBHTNNa1xp1-rCZTM66bMvqyvJNJJBoCxdUQAvD\\_BwE](https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/w501808?lang=en&region=CZ&gclid=CjwKCAjw68zZBRAnEiwACw0eYcseaqses6FWfOMIyOJOAcgkwBHTNNa1xp1-rCZTM66bMvqyvJNJJBoCxdUQAvD_BwE)
29. ŠIMÁČEK, P., VRTIŠKA, D., MUŽÍKOVÁ, V. *Motorová paliva vyráběná hydrogenací rostlinných olejů a živočišných tuků*. Praha 6: Chemické listy. **2017**. roč. 111, č. 3, s. 206-212. **ISSN 1213-7103**

30. OLSSON, L., HAHN-HÄGERDAL, B. *Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production*. *Enzyme and Microbial Technology*. **1996**. roč. 18, č. 5, s. 312-331. **ISSN 0141-0229**
31. BALAT, M. *Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review*. *Energy Conversion and Management*. **2011**. roč. 52, č. 2, s. 858-875. **ISSN 0196-8904**
32. HENDRIKS, A., ZEEMAN, G. *Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass*. *Bioresource Technology*. **2009**. roč. 100, č. 1, s. 10-18. **ISSN 0960-8524**
33. VON SIVERS, M., ZACCHI, G. *Ethanol from lignocellulosics: A review of the economy*. *Bioresource Technology*, **1996**. roč. 56, č. 2-3, s. 131-140. **ISSN 0960-8524**
34. KUMAR, P., BARRETT, D.M., DELWICHE, M.J. *Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production*. *Industrial*. **2009**. roč. 48, č. 8, s. 3713-3729. **ISSN 0888-5885**
35. MOSIER, M. *Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass*. *Bioresource Technology*. 2005. roč. 96, č. 6, s. 673-686. **ISSN 0960-8524**
36. MTUI, G.Y.S. *Recent advances in pretreatment of lignocellulosic wastes and Production of value added products: A review*. *African Journal of Biotechnology*. **2009**. roč. 8, s. 1389-1415. **ISSN 1684-5315**
37. ALVIRA, P., TOMAS-PEJÓ, E., BALLESTEROS, M. *Preatment technologies for an efficient bioethanol Production proces based on enzymatic hydrolysis: A review*. *Bioresource Technology*. 2010. roč. 101, č. 13, s. 4851-4861. **ISSN 0960-8524**
38. SANCHÉZ, O.J., CARDONA, C. A. *Trends in biotechnological production of fuel ethanol from diferrent feedstocks*. *Bioresource Technology*. **2008**. roč. 99, č. 13, s. 5270-5295. **ISSN 0960-8524**
39. TAHERZADEH, M.J., KARIMI, K. *Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review*. *International Journal of Molecular Science*. **2008**. roč. 9, č. 9, s. 1621-1651. **ISSN 1422-0067**
40. WYMAN, CH. E. *Ethanol from lignocellulosic biomass: Technology, economics, and opportunities*. *Bioresource Technology*. **1994**. roč. 50, č. 1, s. 3-15. **ISSN 0960-8524**
41. VANE, M. *A review of pervaporation for product recovery from biomass fermentation processes*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. **2005**. roč. 80, č. 6, s. 603-629, **ISSN 0268-2575**
42. Struktura celulózy. In: [online]. [cit. 2018-06-26]. Dostupné z: <http://leccos.com/index.php/clanky/celulosa>