

WPLYW INOKULUM NA PRODUKCJĘ BIOGAZU Z RÓŻNYCH GATUNKÓW ROŚLIN ENERGETYCZNYCH W TESTACH BMP

Marta Kupryś-Caruk

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego

Zakład Technologii Fermentacji

ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa

marta.kuprys@ibprs.pl

Streszczenie

Zbadano wpływ dwóch rodzajów inokulum (A – wsad z fermentora wtórnego biogazowni rolniczej, B – poferment z bioreaktora laboratoryjnego) na wydajność i szybkość produkcji biogazu z różnych gatunków roślin w testach BMP (BioMethane Potential). Użyto kiszonkę z kukurydzy oraz kiszonki z roślin wieloletnich: miskanta olbrzymiego, spartiny preriowej i rdestowca czeskiego.

Zastosowane inokulum nie miało wpływu na całkowitą wydajność produkcji biogazu z badanych roślin. W przypadku fermentacji spartiny, miskanta i rdestowca inokulum A przyspieszyło proces produkcji biogazu. 90% biogazu uzyskano w czasie o trzy dni krótszym niż w przypadku zastosowania inokulum B.

Słowa kluczowe: biogaz, inokulum, rośliny energetyczne

THE IMPACT OF THE INOCULUM ON THE BIOGAS PRODUCTION FROM DIFFERENT SPECIES OF ENERGY CROPS IN BMP TESTS

Summary

The influence of two types of inoculum (A and B) on biogas production from various species of plants was evaluated in BMP tests. Silages from maize, which is a common substrate in biogas installations and non-standard plants such as miscanthus, cordgrass and knotweed bohemica were used in research.

The type of inoculum did not influent on cumulative biogas production from evaluated plants. Inoculum A increased fermentation of cordgrass, miscanthus and knotweed bohemica. Fermentation of these plants lasted less three days compared to the usage of inoculum B.

Key words: biogas, inoculum, energy crops

WSTĘP

Biogaz powstaje w wyniku fermentacji metanowej substancji organicznej zarówno pochodzenia roślinnego, jak i zwierzęcego, składa się głównie z metanu i ditlenku węgla. Biogaz rolniczy uzyskuje się z surowców rolniczych, produktów ubocznych rolnictwa, płynnych lub stałych odchodów zwierzęcych, a także z odpadów i pozostałości z przetwórstwa produktów pochodzenia rolniczego [Podkówka 2012]. Obecnie w Europie (głównie w Niemczech) jako główny substrat do produkcji biogazu w biogazowniach rolniczych najczęściej stosuje się kukurydzę. W 2011 roku kiszonka z kukurydzy stanowiła prawie 80% wszystkich substratów kierowanych do produkcji metanu [Mast i in. 2013]. Jednak dominacja kukurydzy w uprawach na cele energetyczne budzi wiele kontrowersji i zastrzeżeń ze względu na jej negatywny wpływ na środowisko. Monokulturowa uprawa kukurydzy zwiększa ryzyko erozji gleby, wypłukiwania azotanów, zmniejsza zawartość substancji organicznej w glebie, a także wpływa na zmniejszenie bioróżnorodności [Möller i in. 2011; Michalski, Gładysiak 2012]. Z tego względu celowe jest poszukiwanie nowych gatunków roślin, które charakteryzowałyby się nie mniejszą niż kukurydza przydatnością i efektywnością w produkcji biogazu. Coraz większego znaczenia nabierają rośliny wieloletnie, które nie stanowią produktów żywnościowych czy paszowych, a do uprawy których można wykorzystać gleby ubogie, nieprzeznaczone pod uprawy rolnicze. Rośliny wieloletnie wymagają wykonania uprawy roli tylko przed założeniem plantacji (raz na 10-15 lat) oraz mniejszych od roślin jednorocznych dawek nawozów mineralnych. Mniejsze potrzeby nawozowe są spowodowane recyrkulacją składników mineralnych, z których duża część jest wycofywana do korzeni przed jesiennym zakończeniem wegetacji [Chołuj i in. 2008]. Uprawy roślin wieloletnich wpływają na zmniejszenie erozji gleb, wymywania składników odżywczych, sekwestrację węgla i zwiększenie zawartości humusu w glebie [Zhang i Shahbazi 2011]. W polskich warunkach klimatycznych mogą być uprawiane takie rośliny wieloletnie jak: rośliny drzewiaste i krzewiaste szybko odrastające po ścięciu z przeznaczeniem do spalania (wierzba, topola, robinia akacjowa), byliny (ślazowiec pensylwański, topinambur, rdestowiec) oraz trawy (typ fotosyntezy C3 jak i C4), które mogą być wykorzystywane do produkcji biogazu [Kuś i Matyka 2010].

Spośród traw największe zainteresowanie budzą trawy o typie fotosyntezy C4 (miskant, palczatka Gerarda, proso różgowate, spartina preriowa). Rośliny te charakteryzują się wyższą produktywnością niż rośliny C3 (typowe dla rodzimej runi łąkowej), mają szybszą fotosyntezę i większą wydajność biomasy przy relatywnie niższym zapotrzebowaniu na wodę

[Gołaszewski 2011]. Są to rośliny typowe dla krajów o klimacie tropikalnym i subtropikalnym, ale dające także dość duży plon biomasy w umiarkowanym klimacie Europy [Alexopoulou i in. 2013; Mast i in. 2013]. W praktyce dobór gatunków roślin wieloletnich przeznaczonych do produkcji biogazu będzie uzależniony od warunków glebowo-klimatycznych, jakości biomasy, a także uwarunkowań organizacyjno-ekonomicznych (koszty założenia i prowadzenia plantacji, mechanizacja zbioru, sposób transportu) [Kuś, Matyka 2010].

W celu zastosowania nowego, nieznanego substratu w biogazowni rolniczej niezbędne jest wstępne określenie jego biogazodochodowości w warunkach laboratoryjnych. Wprowadzenie nieodpowiedniego surowca może zahamować proces fermentacji, co z kolei wiąże się z ogromnymi stratami ekonomicznymi biogazowni. Z tego względu należy przed wprowadzeniem określić podatność nowego substratu na rozkład beztlenowy, przeprowadzając serię doświadczeń laboratoryjnych. Służą do tego testy uzysku biogazu, tzw. testy BMP (BioMethane Potential), różnorodne pod względem stosowanej aparatury, warunków prowadzenia procesu fermentacji i sposobu przedstawiania wyników badań [Angelidaki i in. 2009]. Do zapoczątkowania fermentacji metanowej, niezależnie od sposobu prowadzenia doświadczeń, w testach BMP stosuje się osad zaszczepowy (tzw. inokulum), czyli źródło bakterii przeprowadzających proces degradacji substancji organicznej. Inokulum może mieć różnorodne pochodzenie. W literaturze opisywane są badania nad produkcją biogazu z różnych substratów z zastosowaniem różnorodnych źródeł bakterii zaszczepowych, m.in. osadu ściekowego, odpadów komunalnych, gnojowicy świńskiej, bydłowej itp. [Lopes i in. 2004; Forster-Carneiro i in. 2008].

W pracy zbadano wpływ dwóch różnych rodzajów inokulum na produkcję biogazu (wydajność jak i szybkość produkcji) z kiszonki kukurydzy oraz z różnych gatunków roślin wieloletnich.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Przeprowadzono testy BMP mające na celu określenie wpływu dwóch rodzajów inokulum na produkcję biogazu z kiszonek z różnych gatunków roślin energetycznych. Badanymi roślinami były kukurydza (*Zea mays*), rdestowiec czeski (*Reynoutria x bohemica*), spartina preriowa (*Spartina pectinata*) i miskant olbrzymi (*Miscanthus x giganteus*). Rośliny pochodziły z kolekcji w Stacji Doświadczalnej w Skierniewicach, należącej do Katedry Fizjologii Roślin Wydziału Rolnictwa i Biologii Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Zebrane zostały 1 października 2011 roku. Po rozdrobnieniu całych roślin na

odcinki o długości ok. 2 cm, materiał zakiszono w plastikowych beczkach (po ok. 15 kg materiału na beczkę). Po 12 tygodniach od zamknięcia beczek pobrano z ich środka zakiszoną biomasę i poddano ją analizom chemicznym oraz fermentacji metanowej.

Suchą masę inokulum i kiszzonek oznaczono poprzez określenie ubytku masy próbki materiału podczas suszenia jej do stałej masy w temperaturze 105 +/- 5°C. Suchą masę organiczną oznaczono poprzez określenie strat przy prażeniu suchej masy badanych materiałów w temperaturze 550°C. Odczyn pH kiszzonek i inokulum oznaczono za pomocą pH-metru.

Fermentację metanową (testy BMP) przeprowadzono przy użyciu systemu pomiarowego OxiTop® Control (WTW). Anaerobową degradację prowadzono w szklanych butelkach o pojemności 1300 ml, do których przymocowywano głowice pomiarowe OxiTop®. Do próbki materiału roślinnego dodawano osad zaszczepowy (inokulum) w takiej ilości, aby stosunek suchej masy próbki do suchej masy inokulum wynosił 0,5. Masa fermentacyjna była cały czas mieszana za pomocą mieszadeł magnetycznych znajdujących się wewnątrz butelek. Butelki umieszczone były na indukcyjnych systemach mieszających. Ciśnienie powstającego w trakcie fermentacji biogazu było rejestrowane przez czujniki manometryczne znajdujące się w głowicach pomiarowych OxiTop® i automatycznie zapamiętywane w czasie całego doświadczenia. Głowice rejestrowały i zapamiętywały wartość ciśnienia, wykonując pomiar 360 razy w ciągu 21 dni doświadczenia. Po zakończeniu fermentacji dane zostały przesłane bezprzewodowo (w podczerwieni) do kontrolera OxiTop® OC 110, a następnie przekazane do komputera (PC) i przetworzone w programie Excel. Fermentację badanych kiszzonek prowadzono w trzech powtórzeniach w stałej temperaturze 39°C (fermentacja mezofilna) do momentu uzyskania stabilizacji ciśnienia (plateau).

Podstawą obliczeń ilości uzyskanego biogazu było równanie stanu gazu doskonałego:

$$pV = nRT$$

gdzie:

p – ciśnienie [Pa]

V – objętość gazu (butelki) [m³]

T – temperatura procesu [K]

R – stała gazowa 8,31 [J/(mol * K)]

n – liczba moli biogazu [mol]

Z powyższego równania obliczano liczbę moli powstałego biogazu, a następnie korzystając z definicji objętości molowej gazu obliczano jego objętość, którą wyrażano w Nml³ (objętość gazu w warunkach normalnych, czyli w warunkach ciśnienia 1013,25 hPa

i temperatury 0°C). Skład biogazu (zawartość procentowa metanu) analizowany był za pomocą analizatora COMBIMASS®GA-m.

Jako inokulum A zastosowano zawartość fermentora wtórnego z czynnej biogazowni rolniczej w miejscowości Piaski (woj. lubelskie), w której substratem do produkcji biogazu była mieszanka kiszonki kukurydzy i serwatki. Inokulum B stanowił poferment, który uzyskano podczas badań nad produkcją biogazu z mieszanki kiszonki z kukurydzy i gnojowicy bydłowej. Badania były prowadzone w bioreaktorze laboratoryjnym w Stacji Doświadczalnej SGGW w Skierniewicach.

Angelidaki i in. (2009) sugerują, iż osad zaszczepowy powinien charakteryzować się homogenicznością, tzn. nie powinien zawierać dużych, nierozłożonych cząstek biomasy. Z tego powodu przed przystąpieniem do fermentacji metanowej konieczna jest wcześniejsza preinkubacja inokulum w celu zwiększenia stopnia przefermentowania substancji organicznej i pozbycia się gazów. Takie postępowanie zwiększa powtarzalność wyników analizy uzysku biogazu. Mając na uwadze powyższe stwierdzenie, przed przystąpieniem do fermentacji metanowej wsad fermentacyjny z biogazowni i poferment precedzono i następnie inkubowano w temperaturze 39°C przez 7 dni przy stałym mieszaniu.

Metody statystyczne

W celu zbadania wpływu (bądź jego braku) rodzaju inokulum na wydajność produkcji biogazu z poszczególnych roślin, do analizy uzyskanych danych wykorzystano metodę analizy wariancji, którą wykonano przy użyciu programu Statistica 10. Analiza danych wybranych była oparta na metodzie analizy wariancji doświadczenia jednoczynnikowego w układzie całkowicie losowym. Szczegółowego porównania średnich i wyodrębnienia grup jednorodnych dokonano, stosując test Tukeya. Zaufanie do uzyskanych wniosków wynosiło 95%.

WYNIKI I Dyskusja

Ogólną charakterystykę inokulum zastosowanego w badaniach przedstawia tabela 1.

Tabela 1. Charakterystyka inokulum
Characteristic of inoculum

Inokulum	Źródło pochodzenia	Substrat biogazowy	pH	Sucha masa [%]	Sucha masa organiczna [% sm]
A	Wsad z fermentora wtórnego biogazowni rolniczej	Kiszonka z kukurydzy i serwatka	7,8	4,6	89,0
B	Poferment	Kiszonka z kukurydzy i gnojowica bydłowa	7,6	4,4	81,2

sm – sucha masa

Inokula charakteryzowały się niską zawartością suchej masy (4,4-4,6%), zawartością suchej masy organicznej poniżej 90% suchej masy oraz pH powyżej 7,0. Świadczy to o wysokim stopniu przefermentowania substancji organicznej.

Źródło, czyli miejsce skąd pochodzi osad zaszczepowy, ma też wpływ na różnorodność znajdujące się w nim mikroflory. Fermentacja metanowa to czteroetapowy proces przemiany substancji organicznej w warunkach beztlenowych, w którym biorą udział liczne grupy bakterii. Wyróżnia się cztery podstawowe etapy procesu fermentacji metanowej: hydrolizę, kwasogenezę, octanogenezę i metanogenezę [Yadvika i in. 2004; Weiss i in. 2009]. Każdy z tych etapów wymaga obecności innych rodzajów bakterii, dlatego dobry osad zaszczepowy powinien charakteryzować się obecnością aktywnych bakterii hydrolizujących, acetogennych i metanogennych. Aby zbadać aktywność poszczególnych grup bakterii w osadzie zaszczepowym, Angelidaki i in. (2009) proponują przeprowadzenie testów fermentacyjnych z użyciem różnych substratów modelowych, takich jak kwas octowy (do badania aktywności bakterii metanogennych) czy celuloza (do badania aktywności bakterii hydrolizujących). O aktywności mikrobiologicznej inokulum świadczy stosunek ilości metanu powstałego z substratów modelowych do ilości metanu, jaka może z nich powstać teoretycznie.

Tabela 2. przedstawia ogólną charakterystykę zastosowanych w badaniach kiszzonek z roślin energetycznych.

Tabela 2. Ogólna charakterystyka kiszzonek
General characteristic of silages

Roślina	Sucha masa [%]	Sucha masa organiczna [% sm]	pH
kukurydza	34,0	94,9	3,9
miskant	39,2	96,5	3,6
spartina	31,3	93,5	4,2
rdestowiec	32,1	94,2	3,8

Kiszsonki charakteryzowały się dobrą jakością, o czym świadczyło niskie pH (4,2 i poniżej). Jakość kiszzonek ma ogromne znaczenie dla procesu fermentacji metanowej. Zastosowanie kiszzonek zepsutych, spleśniałych wpływa na obniżenie produkcji biogazu [Kalač 2011]. Podatność badanych roślin wieloletnich na kiszenie jest cechą bardzo pożądaną. Kiszenie bowiem jest najczęściej stosowanym sposobem zabezpieczenia ciągłości podaży

substratu roślinnego i jednocześnie produkcji biogazu w okresie zimowym [Gołaszewski 2011].

Na podstawie przeprowadzonych testów BMP obliczono wydajność produkcji biogazu przez gram suchej masy organicznej kiszzonek badanych roślin (tabele 3 i 4).

Tabela 3. Wydajność produkcji i skład biogazu przy zastosowaniu inokulum A
Efficiency of biogas production and its composition with the usage of inoculum A

Roślina	Inokulum A		
	Biogaz [Nml ³ / g smo]	CH ₄ [%]	Czas, w którym powstało 90% biogazu [doba]
kukurydza	778,7 ^a	56,0	15
miskant	454,2 ^b	54,5	16
spartina	445,6 ^b	55,6	16
rdestowiec	173,8 ^c	55,6	15

a, b, c – grupy jednorodne wyznaczone testem Tukeya przy poziomie istotności $p \leq 0,05$
smo – sucha masa organiczna

Tabela 4. Wydajność produkcji i skład biogazu przy zastosowaniu inokulum B
Efficiency of biogas production and its composition with the usage of inoculum B

Roślina	Inokulum B		
	Biogaz [Nml ³ / g smo]	CH ₄ [%]	Czas, w którym powstało 90% biogazu [doba]
kukurydza	764,9 ^a	56,0	15
miskant	404,0 ^b	55,9	19
spartina	507,3 ^b	54,2	19
rdestowiec	257,0 ^c	54,7	18

a, b, c – grupy jednorodne wyznaczone testem Tukeya przy poziomie istotności $p \leq 0,05$
smo – sucha masa organiczna

Najwyższą wydajność produkcji biogazu otrzymano z kiszonki z kukurydzy, średnio 772 Nml z obu doświadczeń. Badane parametry fermentacji były identyczne przy użyciu obu rodzajów inokulum. Biogaz otrzymany z kiszonki z kukurydzy, niezależnie od zastosowanego w doświadczeniach inokulum, zawierał 56% metanu, a czas, po którym otrzymano 90% biogazu, wynosił 15 dni.

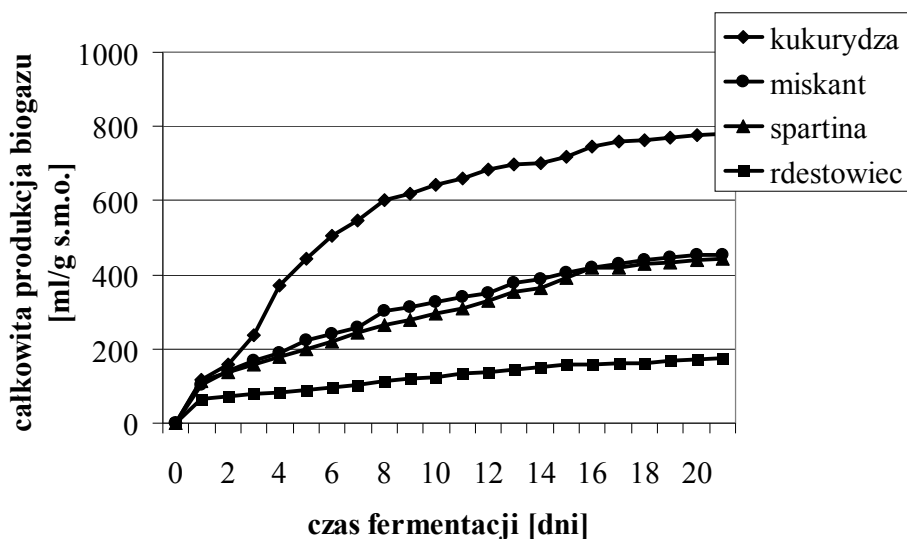
Miskant i spartina, niezależnie od zastosowanego inokulum, charakteryzowały się podobną wydajnością produkcji biogazu, średnio odpowiednio 429,1 oraz 476,4 Nml/g smo, a także podobną zawartością metanu w biogazie, wynoszącą od 54,2% do 55,9%. Szybkość

fermentacji tych gatunków roślin zależała od użytego w eksperymencie inokulum. 90% biogazu z badanych traw powstało w przypadku zastosowania inokulum A w krótszym czasie (16 dni), niż gdy zastosowano inokulum B (19 dni).

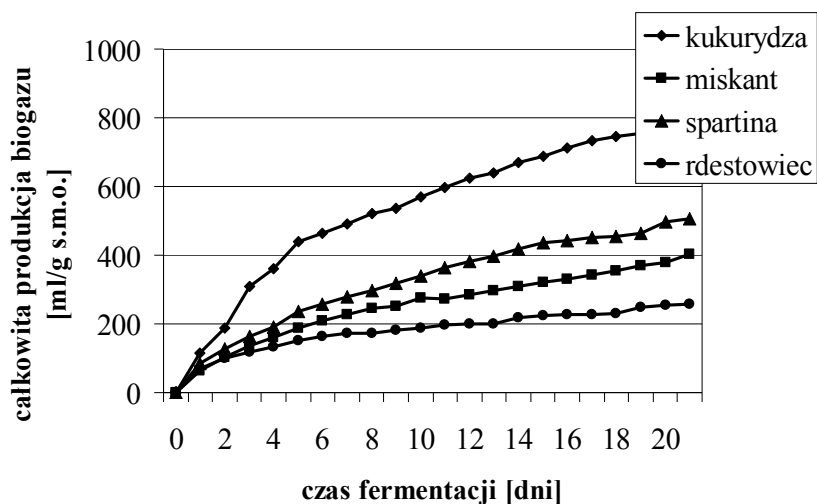
Rdestowiec okazał się rośliną o najniższej wydajności produkcji biogazu, z 1 g suchej masy organicznej powstało średnio z obu doświadczeń 215,4 Nml biogazu o zawartości metanu ok. 55%. Inokulum A, w przypadku rdestowca, również wpłynęło na przyspieszenie fermentacji. 90% biogazu powstało w czasie o 3 doby krótszym (w ciągu 15 dni), niż gdy zastosowano inokulum B.

Różnice pomiędzy całkowitą produkcją biogazu z poszczególnych roślin w zależności od rodzaju inokulum były nieistotne ($p > 0,05$).

Dynamikę produkcji biogazu z badanych roślin z zastosowaniem inokulum A i B przedstawiono na rysunku 1. i 2.



Rysunek 1. Krzywe produkcji biogazu z roślin energetycznych przy użyciu inokulum A
Biogas production curves from energy crops using inoculum A



Rysunek 2. Krzywe produkcji biogazu z roślin energetycznych przy użyciu inokulum B
Biogas production curves from energy crops using inoculum B

Krzywe produkcji biogazu dla danego gatunku rośliny w zależności od zastosowanego inokulum mają podobny przebieg.

Podobne badania prowadzili Leven i in. (2011). Badali wpływ źródła pochodzenia inokulum na wydajność produkcji biogazu ze słomy pszenicy i organicznych odpadów komunalnych. Jako inokulum zastosowali zawartość fermentorów z czterech różnych biogazowni prowadzących proces fermentacji metanowej w warunkach mezofilnych. Badania wykazały, że końcowa wydajność produkcji metanu z zastosowanych substratów była podobna w przypadku wszystkich rodzajów inokulum. Rodzaj inokulum miał jedynie wpływ na kinetykę procesu fermentacji metanowej. Według badaczy różnice w szybkości produkcji biogazu z danego substratu uzyskiwane w różnych testach BMP mogą wynikać z odmiennego składu mikrobiologicznego oraz właściwości fizycznych zastosowanego inokulum. Inokulum w zależności od pochodzenia może różnić się aktywnością i różnorodnością mikroflory, zawartością kwasów tłuszczowych, amoniaku, pH, pojemnością buforową oraz obecnością inhibitorów, co w konsekwencji wpływa na kinetykę procesu fermentacji metanowej.

Przedstawione wyniki badań wskazują na to, iż w testach BMP ważny jest dobór odpowiedniego inokulum do danego substratu. Dzięki takim zabiegom można osiągnąć w warunkach laboratoryjnych sprawny i stabilny przebieg procesu fermentacji metanowej. Według Singht i in. (2010) można to też osiągnąć między innymi poprzez wcześniejsze „zaadoptowanie” inokulum, na przykład przez kilkudniową inkubację z substratem użytym następnie do produkcji biogazu.

Sposobem na zwiększenie aktywności inokulum, a tym samym uzysku biogazu z badanych substratów w testach laboratoryjnych, jest także zastosowanie mieszanki

różnorodnych źródeł bakterii metanogennych, tak jak zrobili to Singht i in. (2010), badając produkcję biogazu z odchodów zwierzęcych. Jako inokulum stosowali różne substancje, które mieszały ze sobą w różnych proporcjach. Największy uzysk biogazu przy równocześnie największej zawartości metanu otrzymali w przypadku zastosowania inokulum powstałego ze zmieszania osadu ściekowego z osadem z fermentora biogazowni i gnojowicą bydłą.

W badaniach nad produkcją biogazu zauważono także, że na wynik testu BMP ma wpływ stosunek suchej masy inokulum do suchej masy substratu poddawanego fermentacji [Lopes i in. 2004; Neves i in. 2004; Raposo i in. 2006; Liu i in. 2009]. Badania wykazały, że wraz ze wzrostem zawartości suchej masy organicznej substratu w stosunku do suchej masy organicznej zastosowanego inokulum wydajność produkcji biogazu maleje.

Neves i in. (2004) badali wydajność produkcji metanu z odpadów kuchennych w zależności od stosunku suchej masy organicznej substratu do inokulum (S/I), a także rodzaju zastosowanego inokulum. Najwyższą wydajność osiągnęli, wykorzystując jako inokulum osad ściekowy przy S/I wynoszącym 0,5. Dalszy wzrost stosunku S/I spowodował znaczne obniżenie stopnia biodegradacji substratu. W przypadku zastosowania jako inokulum granulowanego osadu ściekowego, wzrost stosunku S/I nie miał istotnego wpływu na stopień biodegradacji odpadów kuchennych.

WNIOSKI

Zastosowane w testach BMP inokulum (wsad z fermentora wtórnego biogazowni rolniczej i poferment z bioreaktora laboratoryjnego) nie ma wpływu na całkowitą wydajność produkcji biogazu z jednostki suchej masy organicznej badanych gatunków roślin energetycznych, ale wpływa na kinetykę procesu, determinując szybkość powstawania biogazu.

PIŚMIENNICTWO

1. Alexopoulou E., Fernando A., Papatheohar Y., Cosentino S., Christou M. (2013). Annual versus perennial energy crops. Materiały konferencyjne. 21st European Biomass Conference and Exhibition, Kopenhaga, 3-7 czerwca, 322-325
2. Angelidaki I., Alves M., Bolzonella L., Borzacconi J., Campos L. J., Guwy A. J., Kalyuzhnyi P., Jenicek P., van Lier J. B. (2009). Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Sci. Technol.*, 59 (5), 927-934

3. Biogaz rolniczy odnawialne źródło energii. Teoria i praktyczne zastosowanie. (2012). Praca zbiorowa pod red. Podkówki W. Warszawa: Powszechne Wydawnictwo Rolnicze i Leśne
4. Chołuj D., Podlaski S., Wiśniewski G., Szmalec J. (2008). Kompleksowa ocena biologicznej przydatności 7 gatunków roślin wykorzystywanych na cele energetyczne. *Studia i Raporty IUNG-PIB*, 11, 81-98
5. Forster-Carneiro T., Perez M., Romero L., Sales D. (2008). Dry-thermophilic anaerobic digestion of organic fraction of the municipal solid waste: Focus on the inoculum sources. *Bioresource Technology*, 98, 3195-3203
6. Gołaszewski J. (2011). Wykorzystanie substratów pochodzenia rolniczego w biogazowniach w Polsce. *Postępy Nauk Rolniczych*, 2, 69-94
7. Kalač P. (2011). The required characteristics of ensiled crops used as a feedstock for biogas production: a review. *J. Agrobiol.*, 28, 85-96
8. Kuś J., Matyka M. (2010). Wybrane elementy agrotechniki roślin uprawianych na cele energetyczne. Monografia. Nowoczesne technologie pozyskiwania i energetycznego wykorzystania biomasy. Warszawa: Instytut Energetyki, 101-120
9. Leven L., Demetriades P., Hansson M., Schnurer A. (2011). Parameters affecting degradation rate and bio-methane potential in batch experiment setups. Poster Platform on 12th World Congress on Anaerobic Digestion, 31st October – 4th November, Guadalajara, Mexico
10. Liu G., Zhang R., El-Mashad H. M., Dong R. (2009). Effect of feed to inoculum ratios on biogas yields of food and green wastes. *Bioresource Technology*, 100, 5103-5108
11. Lopes W. S., Leite V. D., Prasad S. (2004). Influence of inoculum on performance of anaerobic reactors for treating municipal solid waste. *Bioresource Technology*, 94, 261-266
12. Mast B., Claupein W., Graeff-Honninger S. (2013). Perennial crops as alternative biogas substrate – yield performance and optimal harvest date. Materiały konferencyjne. 21st European Biomass Conference and Exhibition, Kopenhaga, 3-7 czerwca, 295-298
13. Michalski T., Gładysiak S. (2012). Porównanie wydajności kukurydzy i topinamburu uprawianych na potrzeby biogazowni. Materiały konferencyjne. Kukurydza i sorgo – Produkcja, Wykorzystanie, Rynek. Poznań-Dymaczewo Nowe, 9-11 maja.
14. Möller K., Schulz R., Müller T. (2011). Effects of setup of centralized biogas plants on crop acreage and balances of nutrients and soil humus. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 89, 303-312

15. Neves L., Olivera R., Alves M. (2004). Influence of inoculum activity on the biomethanization of a kitchen waste under different waste/inoculum ratios. *Proc. Biochem.*, 39, 2019-2024
16. Raposo F., Banks C., Siegert I., Heaven S., Borja R. (2006). Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests. *Process Biochemistry*, 41, 1444-1450
17. Singht R., Mandal S. K., Jain V. K. (2010). Development of mixed inoculum for methane enriched biogas production. *Indian J. Microbiol.*, 50 (Suppl 1), 26-33
18. Weiss A., Jérôme V., Burghardt D., Likke L., Peiffer S., Hofstetter E., Gabler R., Freitag R. (2009). Investigation of factors influencing biogas production in a large-scale thermophilic municipal biogas plant. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 84, 987-1001
19. Yadvika, Santosh, Sreekrishnan T., Kohli S., Rana V. (2004). Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques – a review. *Bioresource Technology*, 95, 1-10
20. Zhang B., Shahbazi A. (2011). Recent developments in pretreatment technologies for production of lignocellulosic biofuels. *J. Pet. Environ. Biotechnol.*, 2 (2), 1-8