

Handbok metanpotential



My Carlsson, AnoxKaldnes AB
Anna Schnürer, SLU

Juli 2011

SGC:s FÖRORD

FUD-projekt inom Svenskt Gastekniskt Center AB avrapporteras normalt i rapporter som är fritt tillgängliga för envar intresserad.

Denna rapport finns även tillgänglig på Avfall Sveriges hemsida (www.avfallsverige.se).

SGC svarar för utgivningen av rapporterna medan uppdragstagarna för respektive projekt eller rapportförfattarna svarar för rapporternas innehåll. Den som utnyttjar eventuella beskrivningar, resultat eller dylikt i rapporterna gör detta helt på eget ansvar. Delar av rapport får återges med angivande av källan.

En förteckning över hittills utgivna SGC-rapporter finns på SGC:s hemsida www.sgc.se.

Svenskt Gastekniskt Center AB (SGC) är ett samarbetsorgan för företag verkssamma inom energigasområdet. Dess främsta uppgift är att samordna och effektivisera intressenternas insatser inom områdena forskning, utveckling och demonstration (FUD).

SGC har följande delägare: Svenska Gasföreningen, E.ON Gas Sverige AB, E.ON Sverige AB, Göteborg Energi AB, Lunds Energikoncernen AB (publ) och Öresundskraft AB.

Följande parter har gjort det möjligt att genomföra detta utvecklingsprojekt:

Avfall Sverige
Svensk Biogas i Linköping AB
Stockholm Gas AB
Nordvästra Skånes Renhållnings AB
Göteborg Energi AB
Kraftringen Produktion AB
E.ON Gas Sverige AB
Företag och högskolor som deltagit i referensgruppen
Statens energimyndighet

SVENSKT GASTEKNISKT CENTER AB



Jörgen Held

FÖRFATTARNAS TACK

Arbetet med denna rapport har skett i nära samarbete med en referensgrupp med följande deltagare:

Åsa Davidsson (Lunds Tekniska Högskola), Jörgen Ejlertsson (Scandinavian Biogas), Ilona Horvath (Högskolan i Borås), Anna Karlsson (Linköpings Universitet), Anders Lagerkvist (Luleå Tekniska Universitet), Jing Liu (Bioprocess Control), Åke Nordberg (SLU) och Erik Nordell (Tekniska Verken AB)

Referensgruppen har bidragit med sin kunskap och erfarenhet under hela processen, från första brainstorming till färdig korrekturläst rapport och projektet hade inte kunnat genomföras utan denna hjälp.

SAMMANFATTNING

Innan ett organiskt material tas in i en biogasanläggning är det angeläget att göra en utvärdering avseende materialets metanbildningspotential. Detta gäller både vid uppstart av en ny anläggning och när nya material tas in i en befintlig anläggning. Den kemiska sammansättningen av organiska material varierar kraftigt och detta påverkar både nedbrytbarhet och metanbildning. Det är möjligt att göra en bedömning av metanpotentialen för en viss råvara genom att söka information i litteraturen eller genom någon typ av kemisk/fysikalisk/biologisk karakterisering av materialet. En ofta tillämpad biologisk utvärderingsmetod är att bestämma den maximala metanpotentialen för ett visst material genom sk satsvisa uttrötningsförsök (BMP, Biochemical Methane Potential).

Idag används BMP-metoden för att utvärdera olika material både på svenska och internationella universitet och institut, hos olika konsultfirmor och direkt på biogasanläggningar och viss data från dessa tester finns tillgängliga i vetenskaplig litteratur samt i olika rapporter. I litteraturen finns också riktlinjer och protokoll för hur BMP bör genomföras, men trots detta är det stor variation i hur testerna utförs och också i hur resultaten tolkas.

Denna rapport sammanfattar kunskap från vetenskaplig litteratur och rapporter samt från en svensk referensgrupp av personer som i dagsläget är aktiva utförare av BMP-tester. Rapporten redovisar inget standardiserat protokoll, då detta kan variera utifrån tillgänglig utrustning och också vilket material som avses testas, utan lyfter istället fram och diskuterar olika faktorer som är av vikt att ta hänsyn till vid genomförandet och tolkningen av ett BMP-test. Rapporten ger också förslag på hur resultaten på bästa sätt ska redovisas för att möjliggöra jämförande analyser/bedömningar av tester utförda vid olika instanser.

SUMMARY

Before using a organic material for biogas production it is essential to evaluate the methane production potential. The methane potential is one important tool possible to use during planning of new plants but also when new materials are considered for already running biogas plants. The chemical composition of different organic material varies extensively and this will have an impact on both the degradability and the methane potential. Information about the methane potential of a specific material can sometimes be found in the literature or can be calculated after a chemical/ physical or biological characterization. Here, the BMP test (Biochemical Methane Potential) is a commonly used method.

Today the BMP test is a commonly used method to determine the methane potential. Many national and international research groups, consultants as well as personal at biogas plants are using this method and there is a lot of data available in the literature from such tests. In addition there are several protocols giving guidelines on how to execute a BMP-test. The BMP-test is performed in many different ways, not always under optimized conditions, and there is a lack of information on how to interpret the obtained data.

This report summarizes knowledge from the literature and the experience from a Swedish referee group, consisting of persons being active performers of BMP-tests. The report does not include a standardized protocol as the procedure can be performed in different ways depending on available equipment and on the type of material to be tested. Instead the report discusses different factors of great importance for a successful test giving reliable results. The report also summarizes important information concerning the interpretation and how to present results in order to allow comparison of data from different test.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

1	Inledning.....	1
2	Satsvisa uttrötningsförsök (BMP)	2
2.1	Ymp	3
2.1.1	Val av ymp	3
2.1.2	Inhämtning och hantering av ymp.....	3
2.1.3	Analys/karakterisering av ympen.....	4
2.1.4	Utvärdering av ymp.....	4
2.2	Substrat	4
2.2.1	Intag och förvaring av substrat.....	4
2.2.2	Analys/karakterisering av substrat	5
2.3	Utförande av BMP-test.....	5
2.3.1	Invägning av substrat/ymp	5
2.3.2	Blank och kontroller	6
2.3.3	Sköljgas	7
2.3.4	Substrat/ymp-förhållande	7
2.3.5	Belastning/spädning	7
2.3.6	Spädningsmedium	8
2.3.7	Flaskvolym	8
2.3.8	Materialval	8
2.3.9	Inkubation.....	9
2.3.10	Omrörning	9
2.3.11	Temperatur	9
2.3.12	Provtagning och analys	9
2.4	Avläsning av potential	11
3	Tolkning av resultat.....	13
3.1	Vad kan utläsas ur resultaten?	13
3.1.1	Metanproduktionskurvan	13
3.2	Hur avgörs om ympens kvalitet är tilläckligt god?.....	18
3.3	Hur avgörs om analysresultaten är tillförlitliga?	20
3.4	Vad kan inte utläsas ur resultaten?	20
4	Felsökning	22
5	Snabbguide	27
6	Referenser.....	29

1 INLEDNING

I Sverige används idag många olika typer av organiska material för biogasproduktion, både olika organiska avfallsfraktioner och specifikt odlade grödor finns med i produktionskedjan (1). Totalt produceras biogas motsvarande 1,4 TWh/år, men denna produktion borde kunna tiodubblas (2,3). För att nå målet att flerfaldigt öka biogasproduktionen måste fler organiska fraktioner tas om hand i samhället och kanaliseras till biogasanläggningarna. Innan ett organiskt material tas in i en anläggning är det angeläget att göra en utvärdering avseende materialets lämplighet att användas för biogasproduktion, detta gäller både uppstart av en ny anläggning och när nya material tas in i en befintlig anläggning. Den kemiska sammansättningen av organiska material varierar kraftigt och detta påverkar både nedbrytbarhet och gaspotential. Bedömning av potentialen att använda ett visst material som råvara kan göras antingen genom att söka information i litteraturen (4) eller genom någon typ av kemisk/fysikalisk/biologisk karakterisering av materialet (5). En ofta tillämpad biologisk utvärderingsmetod är att bestämma den maximala biogas- och metanpotentialen för ett visst material med s k satsvisa utrotningsförsök (BMP, Biochemical Methane Potential).

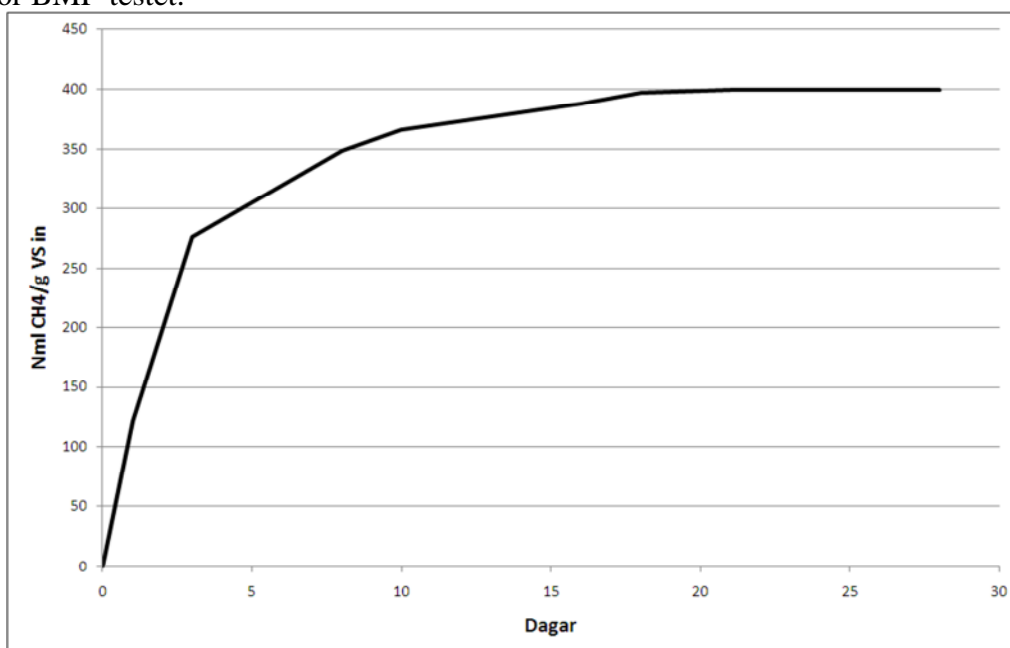
Idag används BMP-metoden för att utvärdera olika material på svenska och internationella universitet och institut, hos olika konsultfirmor och direkt på biogasanläggningar och viss data från dessa tester finns tillgängliga i vetenskaplig litteratur samt i olika rapporter (4, 5). I litteraturen finns också riktlinjer och protokoll för hur BMP bör genomföras (6-12), men trots detta är det stor variation i hur testerna utförs och också i hur resultaten tolkas. Beroende på tillgänglig apparatur och utrustning kan BMP-tester genomföras på flera sätt med goda resultat. Det finns emellertid vissa nyckelfaktorer som bör vara uppfyllda för att få bra och tillförlitliga resultat. För att möjliggöra jämförande analyser av data publicerad i artiklar och rapporter är det av största vikt att dessa nyckelfaktorer är uppfyllda.

Denna rapport sammanfattar kunskap från vetenskaplig litteratur och rapporter samt från en svensk referensgrupp av personer som i dagsläget är aktiva utförare av BMP-tester. Rapporten redovisar inget standardiserat protokoll, då detta kan variera utifrån tillgänglig utrustning och också vilket material som avses testas, utan lyfter istället fram och diskuterar olika faktorer som är av vikt att ta hänsyn till vid genomförandet och tolkningen av ett BMP-test. Rapporten ger också förslag på hur resultaten på bästa sätt ska redovisas för att möjliggöra jämförande analyser/bedömningar av tester utförda vid olika instanser.

2 SATSVISA UTRÖTNINGSFÖRSÖK (BMP)

BMP-metoden, som utvecklades på 1970-talet, är ett relativt enkelt analytiskt test som kan användas för att bestämma nedbrytbarheten och metanpotential hos ett organiskt material. Potentialen kan beräknas teoretiskt om sammansättningen på det organiska materialet är känd (13) men då denna beräkning inte tar hänsyn till nedbrytbarhet finns det en stor risk att potentialen överskattas med denna metod. Generellt innehåller ett organiskt material olika komponenter, vissa med god nedbrytbarhet och andra mer svårnedbrytbara föreningar. BMP-testet visar hur stor del av den organiska fraktionen av ett visst material som kan omvandlas till metan (8).

Testet utförs genom att en ymp, d v s mikroorganismer, blandas med det organiska materialet (substrat) som ska testas i en flaska, som sedan inkuberas under syrefria förhållanden vid önskad temperatur. Över tid följs sedan metanbildningen i flaskan och den ackumulerade produktionen beräknas. Metanpotentialen motsvarar det ackumulerade värdet när gasproduktionen, och då också nedbrytningen, avstannat (Figur 2.1). Värdet anges ofta som NmL metan/g VS (volatile solids) eller NmL metan/g COD (chemical oxygen demand), d v s den mängd metan som bildats från en viss mängd organiskt material (angivet som VS eller COD). N står för normal och anger att volymen anges vid ett visst standardtryck och -temperatur, vanligtvis 1 atm och 0 °C. Det finns idag flera standardiserade protokoll och metoder för BMP-tester beskrivna i litteraturen (6-12) och det finns också flertalet artiklar som beskriver olika parametrar som kan ha betydelse för utgången av testet. Parametrar som visats vara av betydelse är bl a: val av ymp, tid mellan inhämtning av ymp och försöksstart, hanteringen av substratet, belastning, spädningsmedium, förhållandet mellan mängd substrat och ymp, metodik och utrustning (7, 8, 14-22). Nedan diskuteras mer ingående några olika parametrar som är av betydelse för BMP-testet.



Figur 2.1. En typisk metanbildningskurva för ett BMP-test. Metanpotentialen är värdet som erhålls när den ackumulerade metanproduktionen avstannat. I detta fall är potentialen 400 NmL metan /g VS.

2.1 YMP

2.1.1 Val av ymp

Valet av ymp är en kritisk parameter för utgången av försöket och en stor anledning till att resultat från olika metanpotentialanalyser inte alltid är jämförbara, framförallt när det gäller kinetiken (metanbildningsförloppet). För att få ett bra resultat är det viktigt att ympen som används till försöket innehåller ett brett spektrum av mikroorganismer. Om möjligt är det bra om ympen som används redan är anpassad till ett substrat med likande sammansättning som det substrat som ska analyseras. För att säkerställa detta ska ympen inhämtas från en välfungerande samrötningsanläggning, alternativt från röttkammare på ett kommunalt reningsverk eller från pågående laboratorie- eller pilotförsök. En blandning av ymp från olika källor kan också användas. Även flytgödsel kan användas men detta material har vanligtvis en lägre mikrobiell aktivitet och är därför inte optimal för BMP-test (8). Vid valet är det också av vikt att ta hänsyn till processtemperaturen vid den anläggning som ympen hämtas från. Mikroorganismerna är anpassade till temperaturen och därför är det viktigt att analysen körs vid samma temperatur som den ursprungliga biogasanläggningen för att testet ska fungera så bra som möjligt. Vidare kan också temperaturen vara av betydelse för metanproduktionen varför det är viktigt att köra testet vid en temperatur relevant för senare applikation.

2.1.2 Inhämtning och hantering av ymp

För att få aktiva mikroorganismer i ympen är det viktigt att låta reaktorinnehållet flöda en stund innan det samlas upp. Annars finns en risk att materialet som samlas upp har stått stilla i ledningar och rör och att mikroorganismerna därmed är mindre aktiva på grund av ogynnsamma omgivningsförhållanden. Ympen bör i minsta möjliga mån komma i kontakt med luft och får inte frysas. För att minska kontakten med luft bör också uppsamlingskärlet fyllas nästan helt. Det är dock bra att lämna en liten gasfas (ca 10-20% av kärlets volym) för att undvika problem i samband med gasbildning). Många av mikroorganismerna i en biogasprocess är känsliga för syre och detta innebär bl a att metanbildningen endast sker i frånvaro av luft. Emellertid finns det också organismer som kan konsumera luft i en biogasprocess. Detta innebär att små mängder luft som eventuellt kommer in i ympen i samband med upphållningen inte innebär något problem för ympens aktivitet. Luften konsumeras vanligen snabbt och därefter är ympen tillräckligt syrefri.

Efter det att ympen inhämtats bör den inkuberas i samma temperatur som försöket senare ska köras så att det mesta av det kvarvarande organiska materialet bryts ned och gasproduktionen klingar av. Denna avgasning är betydelsefull då ympens bidrag till gasproduktionen under försöket annars kan bli för stor i förhållande till den gasmängd som produceras från det tillsatta organiska materialet. Osäkerhet i metanpotentialbestämningen blir då hög. Emellertid är det av vikt att avgasningen inte pågår under alltför lång tid då detta innebär en risk för att den mikrobiologiska sammansättningen i ympen ändras på grund av selektion eller att aktiviteten minskar. En avvägning mellan dessa aspekter måste göras när tiden för avgasning bestäms. Den lämpligaste tiden för en avgasning anges enligt litteraturen till 3-7 dagar (8).

Ibland kan ympen innehålla större partiklar, t ex växtmaterial som inte brutits ner i röttkammaren. Dessa partiklar kan göra att det blir svårt att få en jämn fördelning av ympmaterial i försöksflaskorna, något som kan leda till stor variation i gaspotential i försöket. Om ympen innehåller större partiklar bör dessa därför avlägsnas så att ympen blir så homogen som möjligt,

vilket både underlättar uttag av representativa delpolymer och minskar metanproduktionen från ympen. Borttagning av partikulärt material kan t ex ske genom att sila ympen genom ett grovt såll och görs lämpligen innan ovan nämnda avgasning. Syre som löser sig i ympen i samband med silningen kommer då i samband med avgasningen att hinna konsumeras

2.1.3 Analys/karakterisering av ympen

För att möjliggöra dimensionering av försöket måste ympens innehåll av organiskt material bestämmas. Den vanligaste analysen som används för detta ända mål är bestämning av glödförlust (volatile solid -VS). Alternativa analyser är COD (chemical oxygen demand) eller BOD (biological oxygen demand). Metoderna finns beskrivna i APHA Standard Methods.

2.1.4 Utvärdering av ymp

För att utvärdera ympens aktivitet är det lämpligt att i BMP- försöken använda sig av ett känt kontrollsubstrat, en så kallad positiv kontroll eller intern standard. Om metanpotentialen från denna kända substans inte uppnår en viss andel av substratets teoretiska potential bör testet underkännas. Vilken nivå som bör uppnås beror på vilken substans som används. För enkla föreningar som t ex olika fettsyror eller enkla socker bör potentialen nå det teoretiska värdet. För mer komplexa föreningar som t ex cellulosa kan testet godkännas om ca 70 % av det teoretiska värdet nås (värdet baserat på den samlade erfarenheten hos referensgrupp och författare). Vilket kontrollsubstrat som bör användas beror på vilket substrat som ska testas och vilken aktivitet som ska kontrolleras. I tabell 3.1 anges de komponenter som är lämpliga som kontrollsubstrat. Vid analys av ett komplext och blandat material är det lämpligt att använda ett kontrollsubstrat vars nedbrytning involverar alla olika nedbrytningssteg i biogasprocessen, t ex cellulosa eller ett fett eller protein. Lämpligtvis väljs ett kontrollsubstrat, eller en blandning av olika kontrollsubstrat, som har en liknande sammansättning som det substrat som ska analyseras i BMP-testet.

2.2 SUBSTRAT

2.2.1 Intag och förvaring av substrat

När det gäller substratet bör en provmängd som är avsevärt större än vad som behövs till testflaskorna finnas tillgängligt för att materialet ska kunna karakteriseras och för att säkerställa representativa delprov. Provet bör tas en kort tid innan försöket ska sättas upp eftersom materialets sammansättning kan förändras under lagring. Detta gäller särskilt material med hög fukthalt där t ex förskämningsprocesser kan leda till att en del av det organiska materialet konsumeras genom mikrobiell tillväxt (t ex mögel). Torra material kan däremot ofta lagras i rumstemperatur under en längre tid utan risk för någon förändring av sammansättningen. Om möjligt bör materialet inte frysas före försöket eftersom celler kan lysa och materialet på så sätt ”förbehandlas”. Frysning kan därför påverka metanpotentialen, oftast i positiv riktning. När det gäller material med hög fukthalt är därför att föredra att antingen använda materialet omgående alternativt använda kylförvaring.

Vid BMP-analys av heterogena substrat och substrat innehållande större partiklar, såsom t ex hushållsavfall, kan det vara svårt att säkerställa representativa delprov med samma innehåll av organiskt material. Detta kan göra att osäkerheten i försöket blir hög med stor variation mel-

lan parallella testflaskor som resultat. Genom att homogenisera, t ex genom att mala eller mixa, en större mängd av det material som ska testas kan detta undvikas. I detta sammanhang är det dock viktigt att vara medveten om att homogeniseringen i sig är en förbehandling som både kan inverka på metanbildningshastigheten och den slutgiltiga potentialen. Detta p g a att mikroorganismerna får en större yta att fästa till och därmed snabbare och i högre uträkning kan bryta ner materialet. Vid en homogenisering bör man om möjligt använda den/de finfördelningsmetoder som används/ska användas på den aktuella anläggningen.

2.2.2 Analys/karakterisering av substrat

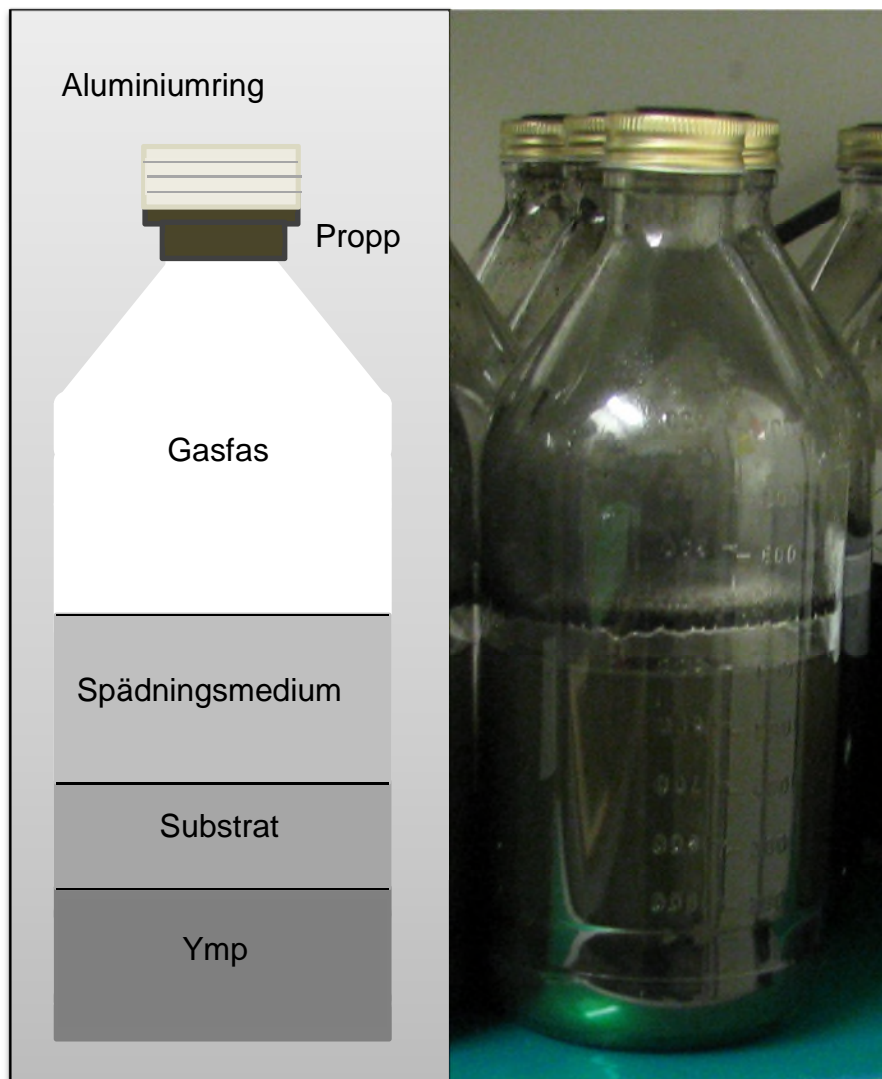
För att möjliggöra lämplig dimensionering (se vidare info under avsnittet ”Utförande av BMP-test”) av försöket samt för att relatera den producerade metanvolymen till mängd inmatat material ska substratet på samma sätt som ympen analyseras avseende innehåll av organiskt material. Ett lägsta krav är att substratet, precis som ympen, karakteriseras med avseende på organiskt innehåll i form av VS, COD eller BOD. Om en VS-analys används är det viktigt att vara medveten om att flyktiga komponenter som t.ex. fettsyror och alkoholer förloaras under denna analys varför det organiska innehållet i provet kan underskattas något. Torkning av prov innan COD analys kan också leda till en avgång av flyktiga ämnen. Om det är känt att provet innehåller höga halter av flyktiga fettsyror eller alkoholer kan dessa analyseras separat och mängden adderas till resultatet från VS-analysen för att få ett mer korrekt mått på innehållet av organiska ämnen. Varken VS eller COD -analysen särskiljer heller på nedbrytbart organisk material och icke-nedbrytbart material, t ex plaster eller lignin, något som kan ge en överskattning av mängden organisk material som kan omvandlas till metan. Ytterligare karakterisering som kan hjälpa till vid planering och utvärderingen av försöket är analys av pH, fett/protein/kohydrat, C/N-kvot samt övriga näringsförhållanden (elementaranalys). Dessa analyser kan dels möjliggöra beräkning av teoretisk metanpotential (12) och dels ge information om vilken belastning och spädningsmedium som är lämplig att använda i det aktuella BMP-testet (se mer info i avsnitten nedan). Andra parametrar som också kan vara intressanta att inkludera i ett analyspaket, speciellt om testet används för att utvärdera effekter av olika förbehandlingar, kan t ex vara analys av partikelstorleksfördelning samt andel organisk material i lösning respektive partikulär fas.

2.3 UTFÖRANDE AV BMP-TEST

2.3.1 Invägning av substrat/ymp

Utifrån analysen av VS, COD eller BOD av ymp och substrat beräknas hur mycket som ska vägas in i experimentflaskorna. För att få så jämn och säker fördelning av material som möjligt mellan olika flaskor är det oftast bäst att väga in alla material, även flytande, istället för att mäta upp volymen. Vid invägningen är det också viktigt att säkerställa att ympen och substratet är väl omblandat. Ofta behövs omrörning vid flera tillfällen under arbetets gång då det är vanligt med sedimentation av ymp och blöta substrat. Hur mycket ymp som behövs kan variera beroende på aktiviteten hos och mängden av mikroorganismer samt substratets tillgänglighet och mängd (8). Mängden ymp ska vara tillräcklig för att undvika ackumulering av syror under försökets gång. Ett riktmärke är 0.5-3 g VS substrat/L vätskevolym och det dubbla för ympen, dvs 1-6 g VS/L, vilket motsvarar en normal daglig belastning på storskaliga samröttningsanläggningar. Vilka mängder som är mest optimala beror dels på ympens aktivitet och dels på karaktären av substratet (8, se också 2.3.4 och 2.3.5).

Mängden material som vägs in beror på VS-innehållet i ymp och substrat men också på storleken av flaskorna som används i försöket. Den totala vätskevolymen i en flaska kan variera och vilken som är mest optimal beror delvis på vilken gasprovtagningsmetod som används och hur ofta provtagning ska/kan göras. Generellt erhålls ett högre tryck med en mindre gasfas och därmed krävs en tätare provtagningsfrekvens. I tester genomförda inom referensgruppen varierade den totala vätskevolymen mellan 25-70%. För att nå den slutgiltiga volymen behövs oftast ett spädningsmedium användas (Figur 2.2). Vilka mängder och spädningsmedium som är lämpliga diskuteras nedan (2.3.5).



Figur 2.2. Exempel på försöksflaska och fördelning av de olika ingående komponenterna.

2.3.2 Blank och kontroller

Utöver de flaskor med material som ska utvärderas startas också flaskor med enbart ymp och spädningsmedium, till samma slutvolym som övriga flaskor (kallas blank eller referens). Dessutom startas flaskor med en intern standard (eller positiv kontroll, tabell 1). Blankflaskorna visar hur mycket gas som produceras från ympen och denna mängd ska dras bort från den metanmängd som produceras från det aktuella substratet. För att möjliggöra en statistisk analys av resultatet är det viktigt att varje substrat samt blank och positiv kontroll utvärderas i

minst 3 parallella flaskor (triplikat). För väldigt heterogena substrat och/eller om mindre flaskvolym används (< 500 ml) kan antalet paralleller utökas för att öka säkerheten i analysen.

2.3.3 Sköljgas

För att minimera mikroorganismernas kontakt med syre spolas en syrefri gas i flaskorna under och efter det att materialen tillförs. Ofta rekommenderas att flaskorna spolas med N₂ med inblandning av CO₂ (80:20), det senare för att undvika pH-förändring i vätskefasen till följd av att CO₂ avlägsnas under spolningen. Det är dock vanligt och fullt möjligt att använda ren N₂ gas för detta moment. Efter invägning av ymp, substrat och spädningsmedium stängs flaskan med en syretät propp och en förslutning, t ex en aluminiumring, som säkerställer att proppen inte åker av flaskan om övertryck bildas.

2.3.4 Substrat/ymp-förhållande

Förhållandet mellan tillförd mängd substrat och ymp till testflaskorna är ett sätt att reglera hur många mikroorganismer som finns tillgängliga för att bryta ned det organiska materialet i substratet. Förhållandet bör vara anpassat så att den största delen av den totala gasproduktionen härrör från substratet samtidigt som andelen mikroorganismer ska vara tillräckligt stor för att möjliggöra ett relativt snabbt nedbrytningsförlopp och för att undvika överbelastning med efterföljande försurning. I ett lyckat försök produceras en metanvolym som kan uppmätas med statistisk säkerhet inom en rimlig tidsrymd.

Lämpliga substrat/ymp-förhållanden definieras vanligtvis som förhållandet mellan VS från ymp och VS från substrat. Andelen av VS i en ymp som faktiskt utgörs av mikroorganismer kan dock variera, samtidigt som VS i substrat kan utgöras av olika svår- och lättnedbrytbara organiska föreningar och till och med en del organiskt material som inte är (anaerobt) biologiskt nedbrytbart, såsom plaster och lignin. Beroende på ympens och substratets sammansättning kan därmed det ultimata förhållandet mellan dessa båda variera, men eftersom denna sammansättning ofta är obekant är det lämpligt att alla försök dimensioneras på samma sätt. Flera studier föreslår det optimala metanutbytet nås när kvoten ympens och substratets VS-innehåll är ca 2 eller högre men att även lägre kvoter (ner till 0.25) kan fungera beroende på materialets karaktär (7, 14, 15, 16). Om mängden ymp är för liten i förhållande till substratmängd är risken stor för försurning och för att den maximala produktionen inte nås. Metanpotentialen från den interna standarden ger en fingervisning om proportionerna i försöket är bra.

2.3.5 Belastning/spädning

Belastningen i detta sammanhang definieras som mängd organiskt material per volym vätska (g VS/L) och är alltså ett mått på koncentrationen organiskt material från substratet i testflaskorna. Belastningen avgör också koncentrationen av eventuella toxiska substanser i testflaskorna. Den rekommenderade belastning som anges ovan (0.5-3 g VS substrat/L vätskevolym) gäller för relativt lättnedbrytbara substrat med normal/hög metanpotential. För svårnedbrytbara substrat med låg gaspotential kan det ibland vara nödvändigt att öka belastningen. För lättnedbrytbara material kan det omvända gälla då dessa snabbt kan leda till att en försurning sker under försökets gång om belastningen är för hög. Ett typiskt material som snabbt leder till syraproduktion är substrat med hög C/N kvot där en hög andel av kolet finns i lösliga socker. För att undvika problem med sjunkande pH kan då t ex en mindre mängd substrat till-

sättas i försöket, alternativt kan en buffert användas som spädningsmedium (se mer info i avsnitt 2.3.6 nedan).

Om substratet är toxiskt kan det också behöva spädas i högre grad än vad som standardmässigt rekommenderas. Ett material som orsakar hämning kan identifieras då det antingen inte ger någon gas alls (eller mycket lite) eller ger en lång så kallad lagfas, d v s tiden innan gasproduktionen startat är lång (se 3.1.1). För att utreda en hämningseffekt och graden av toxicitet kan flera spädningar behövas. Hämningen kan vara kopplad till en toxisk substans som finns i substratet men kan också vara kopplad till t ex ett lågt eller högt pH-värde på substratet. Om ympen dessutom har en relativt dålig buffertkapacitet finns då en överhängande risk att pH i försöket blir för lågt eller för högt för att mikroorganismerna ska kunna växa. Om hämningen har sitt ursprung i ett felaktigt pH kan detta ofta åtgärdas genom att använda en buffert som spädningsmedium (se avsnitt 2.3.6).

2.3.6 Spädningsmedium

Olika spädningsmedium kan användas. Ofta fungerar det bra med enbart vatten för spädningen. Det är dock viktigt att använda kranvatten och inte destillerat eller jonfiltrerat vatten. De senare kan på grund av sitt låga innehåll av salter leda till försämrade förutsättningar för mikrobiell aktivitet. Vattnet behöver inte heller steriliseras då ympen i sig själv innehåller många olika mikroorganismer. Ett alternativt spädningsmedium är en näringslösning som innehåller olika spårelement, salter etc som mikroorganismer behöver för sin tillväxt, t ex ett tillväxtmedium (24). Olika ympslam har olika näringsammansättning och ibland kan innehållet vara lågt och bli begränsande för nedbrytningen. Att göra en näringslösning är dock tidskrävande och det krävs tillgång till en mängd olika kemikalier. I de flesta fall innehåller ympen tillräcklig näring för att på ett bra sätt kunna bryta ned den lilla mängd substrat som tillsätts. Slutligen kan också en buffert användas som spädningsmedium. Buffert som används bör ha sitt buffertintervall mellan pH 7 och 8, det optimala intervallet för tillväxt, och inte bestå av organiska komponenter. En lämplig buffert kan t ex vara en fosfatbuffert. Buffert kan tillsättas för att undvika försurning under nedbrytningsförloppet eller för att undvika pH-förändringar orsakade av sura eller basiska substrat. Om ympen har en låg alkalinitet bör en buffert användas i BMP-testet.

2.3.7 Flaskvolym

Flaskvolym som används i BMP-tester varierar mellan ca 0,1 och 2 L. Vilken volym som flaskan bör ha beror till viss del på det testade materialets karaktär. Med ett heterogent material blir det relativa felet större om flaskvolymen är liten. För väldigt heterogena substrat är det därför lämpligt att använda flaskor som rymmer 1-2 liter medan det går bra att skala ner försöket om man testar mer homogena material. Om mindre flaskor måste användas t ex för att substratmängden är begränsad eller för att endast mindre flaskor finns att tillgå kan försökets noggrannhet ökas genom att antalet parallella flaskor ökas från tre till fem.

2.3.8 Materialval

Det är naturligtvis av största vikt att provflaskor, slangar, korkar/proppar och gasuppsamlingspåsar är gastäta. Det är både av vikt att luft inte kommer in i flaskorna och att metan inte

kan ta sig ut eller lösa sig i propp/slangmaterial. Materialets lämplighet i detta sammanhang bör kontrolleras med tillverkaren.

2.3.9 Inkubation

Efter det att allt material är tillsatt och flaskorna stängda ska de inkuberas under lämpliga förhållanden. Viktiga parametrar i detta sammanhang är temperatur och omrörning (se nedan). Inkubationstidens längd, alltså den tiden BMP-försöket fortgår, beror på substratet, inkubationstemperatur och till viss del på ympen. Försöket ska dock fortgå till dess att den ackumulerade metanproduktionskurvan planat ut alternativt tydligt gått ner i hastighet. En vidare diskussion angående avläsning finns i avsnittet ”Tolkning av resultat” (3).

2.3.10 Omrörning

Omrörning skapar bättre kontakt mellan mikroorganismer och substrat och leder därför till ett snabbare nedbrytningsförlopp. Alltför kraftig omrörning kan dock ha negativ effekt då den kan bryta upp den kontakt mellan olika mikroorganismer eller mellan mikroorganismerna och deras substrat som är nödvändiga för en effektiv nedbrytning. En lämplig omrörning sätter innehållet i långsam cirkulation. Om det inte finns någon omrörare tillgänglig går det bra att med regelbundenhet (minst 1 gång/dag) istället skaka flaskorna för hand. Detta leder till ett långsammare metanbildningsförlopp men brukar inte påverka metanpotentialen.

2.3.11 Temperatur

Analys av metanpotential kan utföras vid mesofil eller termofil temperatur beroende på försökets syfte. Oavsett vilken inkubationstemperatur som väljs är det viktigt att den hålls jämn under hela försökets gång. Som nämnts ovan är det också av största vikt att välja en ymp som är anpassad till den aktuella temperaturen. Om ett vattenbad används för ändamålet är det viktigt att tänka på att säkerställa att vattennivån hela tiden överstiger vätskenivån i flaskan. Om vattennivån t ex på grund av avdunstning sjunker finns det en risk för temperatursvängningar i försöket.

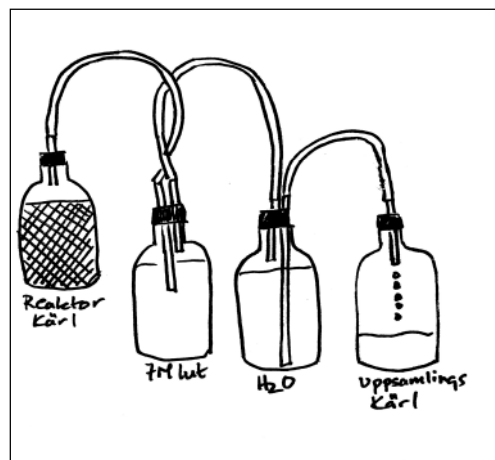
2.3.12 Provtagning och analys

Under försökets gång provtas i första hand gasfasen men analys av vätskefasen kan också bli aktuell.

Gas kan provtas och mätas på flera olika sätt:

1. Analys med gaspåse. Den producerade gasen samlas upp i en gaspåse som med regelbundna intervall töms och i samband med detta volymbestäms också gasen. Denna typ av gasprovtagning ger endast besked om biogaspotentialen och inte metanpotentialen, såvida inte den uppsamlade gasen också analyseras avseende metaninnehåll. Metananalys kan t ex göras med hjälp av GC (gas chromatography).

2. Analys genom seriekoppling med en lut- och eventuellt en vattenflaska (Figur 2.3). Här kopplas BMP-flaskan till en flaska med mättad lut (NaOH). I denna flaska löser sig koldioxiden från den bildade gasen i luten medan metanet passerar genom flaskans gasfas. Här kan antingen flödet på gasen, d v s metanet, analyseras on-line alternativt kan lutflaskan kopplas ihop med ytterligare en flaska innehållande vatten. Trycket från bildad metan och längden på rören i flaskan gör då att vattnet trycks ut till ett uppsamlingskärl. Vattenvoly- men i den sista flaskan motsvarar då mängden metan som produceras. Metoden fungerar utan avancerad analysutrustning men eftersom den kräver många genomföringar och kopplingar är det viktigt att vidta åtgärder för att undvika eventuella läckage, som lätt kan uppstå.



Figur 2.3. Seriekopplade gasflaskor för analys av metan.

3. Provtagning med tryckmätare och gasprovtagning. Trycket av biogasen som bildas analyseras med en manuell tryckmätare, vanligtvis genom att koppla mätaren till en nål som förs igenom proppen i flaskan. För att få metankoncentrationen tas sedan ett gasprov ut med en känd volym med en spruta. Provets innehåll av metan bestäms sedan med ett analysinstrument (GC) och metanhalten i försöksflaskan beräknas sedan genom att ta hänsyn till trycket vid den aktuella provtagningen. Efter provtagning utjämnas gastrycket genom att den bildade biogasen släpps ut i en gaspåse eller via ett vattenlås.
4. Provtagning vid övertryck. Ett gasprov med känd volym tas ut ur flaskan med trycklåst spruta. Provets innehåll av metan (och eventuellt koldioxid) analyseras med GC och den totala volymen i flaskan kan beräknas. Efter provtagning utjämnas gastrycket vid behov genom att den bildade biogasen släpps ut, därefter tas ytterligare ett gasprov och den utsläppta volymen beräknas
5. Onlinemätning av metan. Det finns idag några olika on- line mätare, inklusive gaskromatografer, tillgängliga på marknaden. Dessa kan kopplas direkt på testflaskan.

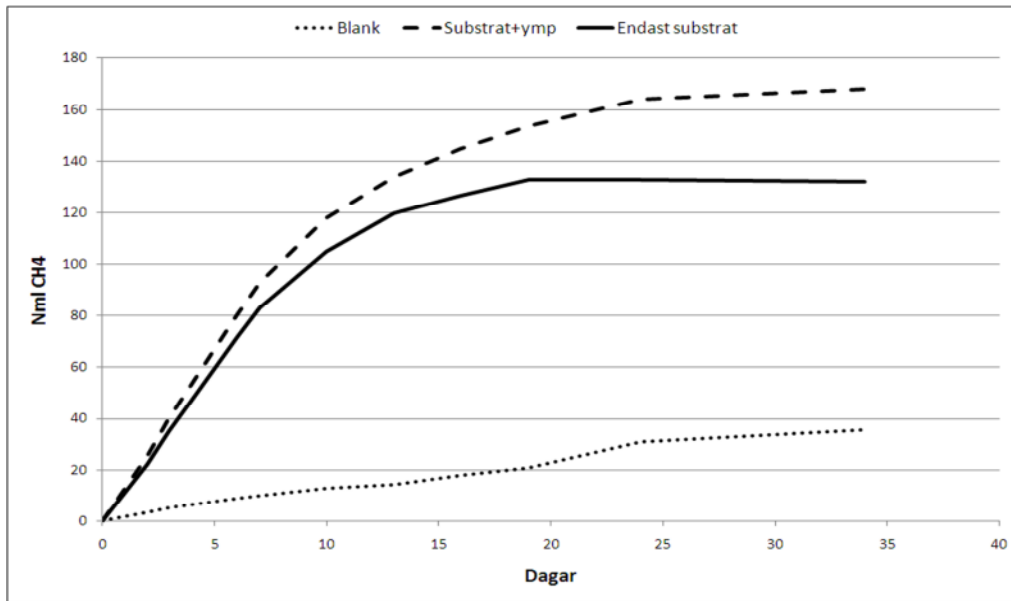
Precisionen på de manuella metoderna beror till stor del på analyspersonalens kunnande och erfarenhet. Gasprovtagning kräver träning och erfarenhet för att ge tillförlitliga och jämna re-

sultat. Speciellt svårt är att genomföra provtagning vid övertryck. Ett sätt att säkerställa tillförlitligheten på provtagningen är att införa någon typ av analyskörkort hos personal som ska genomföra försöken. Ett känt prov kan t ex provtas vid upprepade tillfällen och senare analyseras.

Andra analyser som kan vara relevanta för ett BMP-test är att mäta halter av fettsyror samt pH i vätskan. Dessa båda parametrar brukar inte analyseras rutinmässigt men kan vara viktiga att bestämma om försöket inte fungerat tillfredsställande. Analyser kan dels utföras på substratet och dels under försökets gång. Om prover tas under försökets gång måste denna provtagning ske med en spruta för att undvika gasläckage. Vidare är det viktigt att notera mängden på uttaget då många uttag kan påverka gas och vätskevolymen i flaskan i sådan utsträckning att detta måste korrigeras för vid beräkningen av metanpotentialen. Vid bestämning av pH är det viktigt att denna analys utförs omedelbart efter provuttag. Detta för att koldioxidavgång kan inverka på analysen. Andra parametrar som ibland diskuteras är analys av TS/VS i samband med att försöket avslutas, då med avsikten att utföra en beräkning på utrottningsgrad. Detta är dock inte att rekommendera då variansen i analysen ofta är högre än skillnaden i VS vid start och slut. Provtagningsfrekvensen för gas, och eventuellt vätska, varierar med olika material, olika ympar och också beroende på analysmetod. Generellt behövs en tätare provtagning i början än i slutet på försöket.

2.4 AVLÄSNING AV POTENTIAL

När försöket anses avslutat, dvs när den ackumulerade metanproduktionen planat ut, kan en metanpotential avläsas. Metanproduktionen från blankproverna dras bort från den totala produktionen från substrat så att endast substratets bidrag till gasproduktionen räknas in (Figur 2.4). Det finns dock en risk att ympen inte beter sig på samma sätt i experimentflaskorna som i blank- respektive kontrollflaskor. Till exempel så händer det ibland att gasproduktionen i kontrollen i slutet av försöket överstiger gasproduktionen från flaskan med substratet. Alternativt kan ympens bidrag komma tidigt i blanken, men sent i testflaskan, vilket resulterar i en ”bula” i mitten på kurvan. Olika varianter på kurvor och hur dessa kan tolkas finns beskrivet i avsnittet ”Tolkning av resultat” (3.1). Den avlästa biogas- och/eller metanpotentialen relateras till tillsatt mängd organiskt material (VS, COD eller BOD) och räknas om till standardförhållanden för att kunna jämföras med data från andra försök. Olika standarder används i olika länder men vanligtvis används en standardtemperatur på 0°C och ett standardtryck på 1 atm (=1,0133 bar). Beräkningen görs med allmänna gaslagen. Om potentialen anges per g tillförd COD kan den relateras till den teoretiska potentialen som är 0,350 Nm³ CH₄ per kg nedbruten COD (STP).



Figur 2.4. Ackumulerad metanmängd i en BMP-flaska med substrat och i en blank med enbart ymp samt den korrigerade metanproduktionen från substratet då metanproduktionen i blanken dragits bort.

3 TOLKNING AV RESULTAT

Resultaten från ett metanpotentialförsök bör utgöras av kurvor som redovisar metanproduktionen över tiden från ymp, kontrollsubstrat respektive testsubstrat samt resultat från eventuella analyser av vätskefasen. För att kunna tolka resultaten krävs förståelse för det anaeroba nedbrytningsförloppet såväl som för analysmetoden och dess begränsningar. Saknas denna förståelse finns risk för att resultaten feltolkas eller övertolkas.

Analysmetodens huvudsakliga begränsningar grundar sig i att försöken utförs satsvis, att ympens sammansättning varierar, att substratet kan vara heterogent, provmängden relativt liten och mängden ymp stor i förhållande till substrat. I detta avsnitt förklaras steg för steg hur resultaten ska tolkas och hur begränsningarna hanteras. Målet är att besvara följande frågor:

Vad kan utläsas ur resultaten?

*Vad kan **inte** utläsas ur resultaten?*

Hur avgörs om ympens kvalitet är tillräckligt god?

Hur avgörs om analysresultaten är tillförlitliga?

När bör ett försök förkastas?

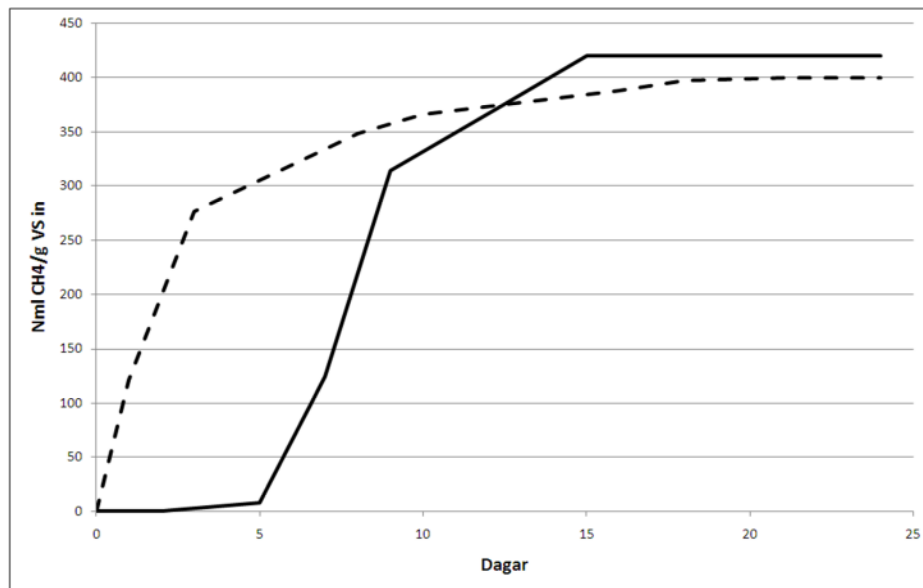
3.1 VAD KAN UTLÄSAS UR RESULTATEN?

3.1.1 Metanproduktionskurvan

Metanproduktionskurvan visar den totala ackumulerade metanproduktionen (i mL eller L vid standardförhållanden) över tid, vanligtvis relaterat till tillförd mängd organiskt material i form av VS eller COD (exempelvis Nml CH₄/g VS respektive Nml CH₄/g COD). Kurvan kan delas in i tre huvuddelar, i denna rapport benämnda *lagfas*, *nedbrytningsfas* och *utplaningsfas*. Dessa olika faser redovisas i avsnittet nedan med exempel på gasproduktionskurvor från olika experimentella försök.

Lagfas

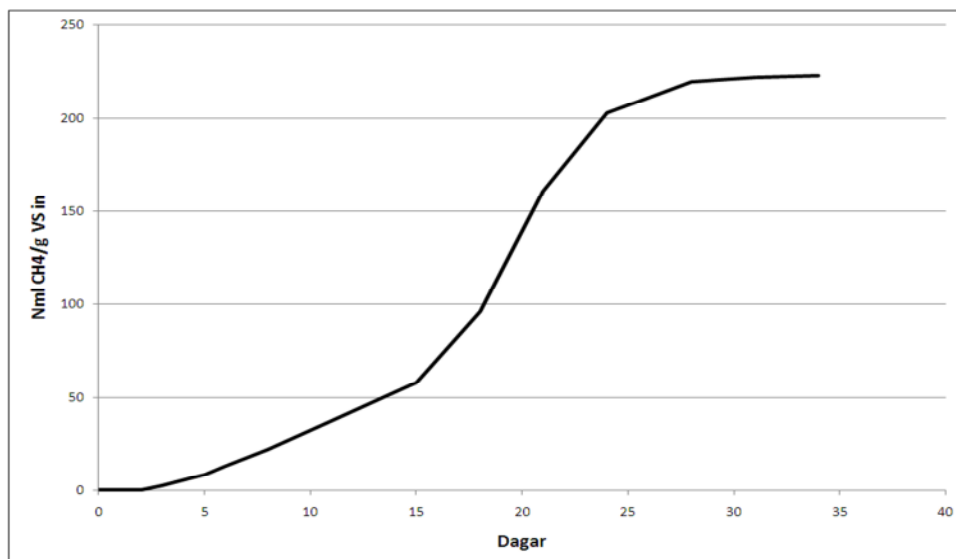
Tiden från försökets uppstart till dess att metanproduktionen startar kallas lagfas. I vissa fall startar metanproduktionen direkt (innan första mättillfället), i det fallet har kurvan ingen lagfas. Men ofta dröjer det några dagar innan metanproduktionen kommer igång (Figur 3.1). En lång lagfas kan bero på att ett substrat uteslutande består av svårhydrolyserat partikulärt material. Om substratet t ex består av lignocellulosarikt, torrt material, såsom halm, är en längre lagfas att vänta. I det fallet är det inget fel, utan naturligt att det tar en viss tid innan metanbildningen tar fart. En lång lagfas kan också bero på att mikroorganismerna är störda på något sätt och behöver tid att anpassa sig till den nya miljön. För lite mikroorganismer i förhållande till substrat eller förekomst av hämmande ämnen kan då vara orsaker till den längre lagfasen. Om inte metanproduktionen kommer igång inom ett par veckor startas försöket förslagsvis om. Om lagfasen för kontrollsubstansen också är lång indikerar detta att ympen inte är funktionell och bör bytas ut. Alternativt testas ett annat ymp/substrat-förhållande eller så utförs ett spädningstest av substratet, för att utröna om det innehåller hämmande ämnen.



Figur 3.1. Metanproduktionskurva med en lagfas på ca 5 dagar (heldragen) respektive utan lagfas (streckad). Metanproduktion från blank är bortdragen.

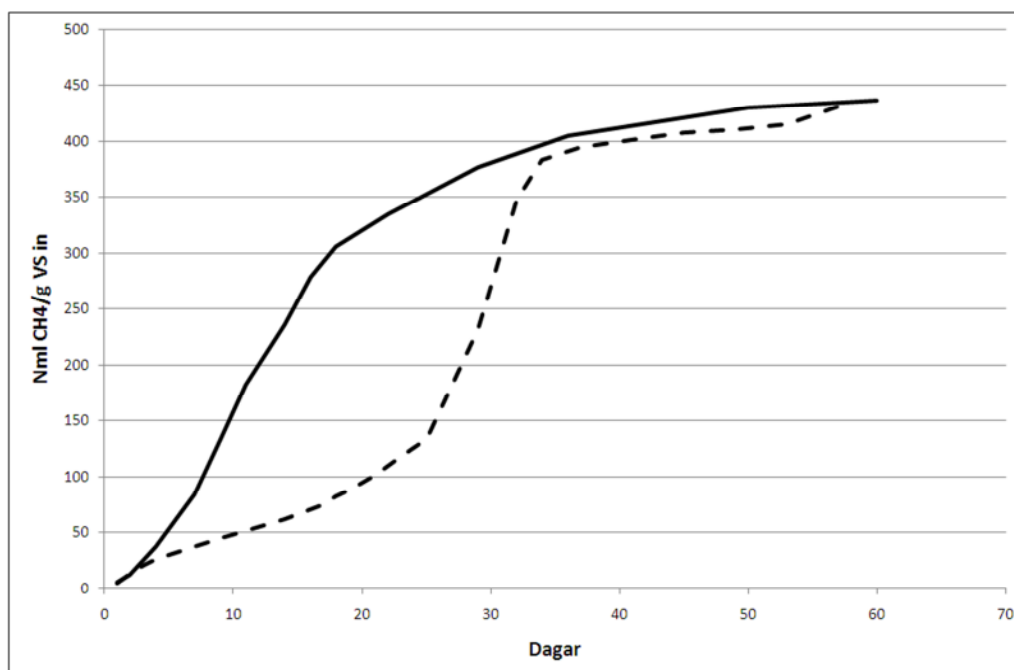
Nedbrytningsfasen

Tiden från det att metanproduktionen startar till det att den börjar klinga av benämns i denna rapport nedbrytningsfasen. I många fall är kurvan i denna fas mer eller mindre linjär men den kan också vara exponentiell eller innehålla flera delfaser. Kurvor med två nedbrytningsfaser kan antingen ha en långsam inledande fas och en snabbare andra fas eller det omvända, d v s en snabb inledande metanbildning som sedan bromsas upp (Figur 3.2). När den inledande fasen är långsam kan detta t ex bero på att substratet innehåller höga halter av hämmande ämnen såsom fettsyror eller ammoniak. Mikrofloran behöver tid på sig att anpassa sig vid den hämmande miljön, vilket förklarar den långsamma metanproduktionen under nedbrytningsfasens första del. En anpassning kan ske t ex genom att vissa toleranta mikroorganismer växer till eller att en nedbrytning av de hämmande ämnena sker. Efter detta går sedan nedbrytningen snabbt och kurvan får en kraftigare lutning. En annan förklaring till att det blir två olika faser är att den inledande nedbrytningen av substratet är hastighetsbegränsande. Till exempel är nedbrytning av komplexa kolhydrater som cellulosa relativt långsam medan cellulosans nedbrytningsprodukt, glukos, bryts ner mycket snabbt. En snabb inledande fas och en efterföljande långsammare andra fas kan erhållas när substratet består av en lättnedbrytbar löst fraktion och en svårnedbrytbar partikulär fas. Slutligen kan det också förekomma att en lagfas uppstår mellan två nedbrytningsfaser (Figur 3.2). Detta kan vara resultatet av att det bildas hämmande ämnen under den första nedbrytningsfasen och att mikrofloran måste anpassa sig till dessa innan en fortsatt nedbrytning kan ske.



Figur 3.2. En metanpotentialskurva med två nedbrytningsfaser, en inledande långsam och en andra snabbare fas. Metanproduktion från blank är bortdragen.

Nedbrytningsfasens totala längd ger en viss information om hur snabbt ett substrat kan brytas ned. Inom ett och samma försök kan nedbrytningshastigheten för olika substrat jämföras. Det är dock viktigt att beakta att nedbrytningsförloppet för ett visst material kan variera för olika ympar, troligen orsakat av skillnader i mikrobiell sammansättning. Figur 3.3 visar nedbrytningen av ett material i två olika försök med två olika ympar. Detta material har ett mycket långsamt nedbrytningsförlopp med båda ymparna men hastigheten skiljer ändå tydligt mellan de olika försöken. Trots att hastigheterna är olika erhålls samma metanpotential i båda försöken.



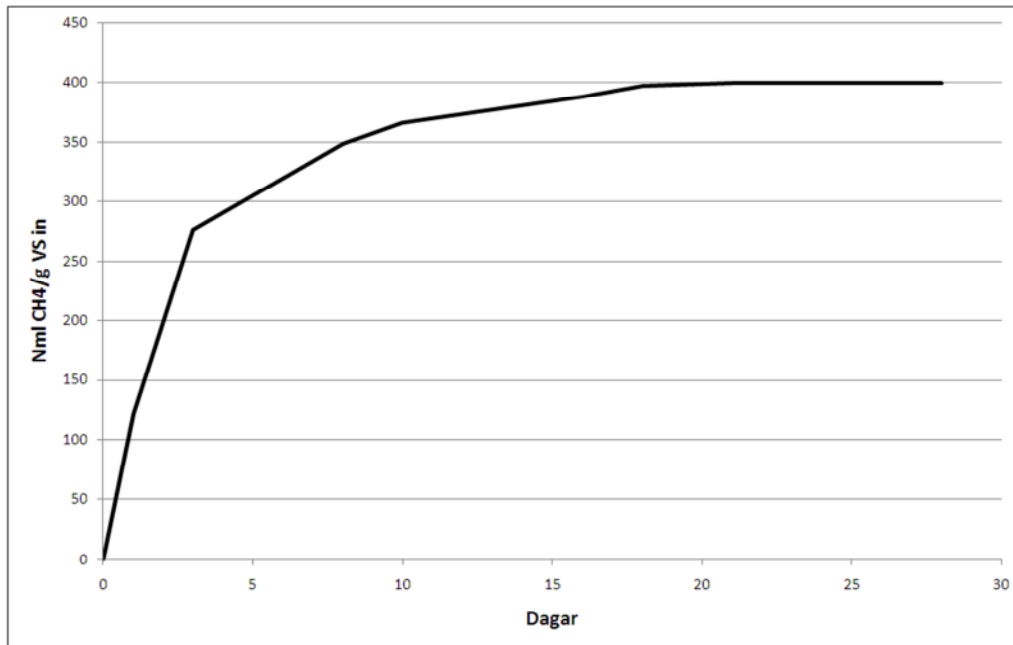
Figur 3.3. Nedbrytning av samma material med olika ympar. Metanproduktion från blank är bortdragen.

Nedbrytningsfasens längd ger alltså en kvalitativ (relativ) fingervisning om hur snabbt ett substrat kan brytas ned. För att ange ett mått på denna kan t ex tiden det tar innan 80 % av potentialen uppnåtts anges. Det är dock viktigt att inse att det utifrån metanproduktionskurvan

inte går att bestämma erforderlig uppehållstid i en kontinuerlig reaktor då hastigheten i ett BMP-test kan variera med olika ympar (se 3.4).

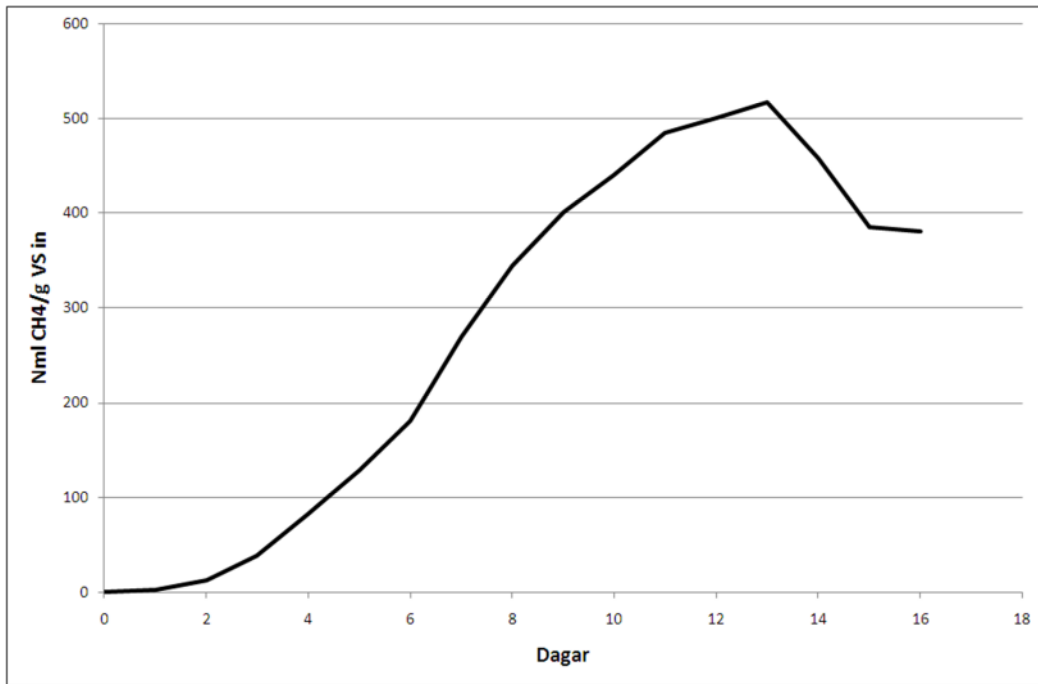
Utplaningsfasen

Tiden från det att metanproduktionen börjar avta till dess att försöket avslutas benämns i denna rapport utplaningsfasen. I många fall ser utplaningsfasen ut som i Figur 3.4, där den avslutas med en vågrät linje.

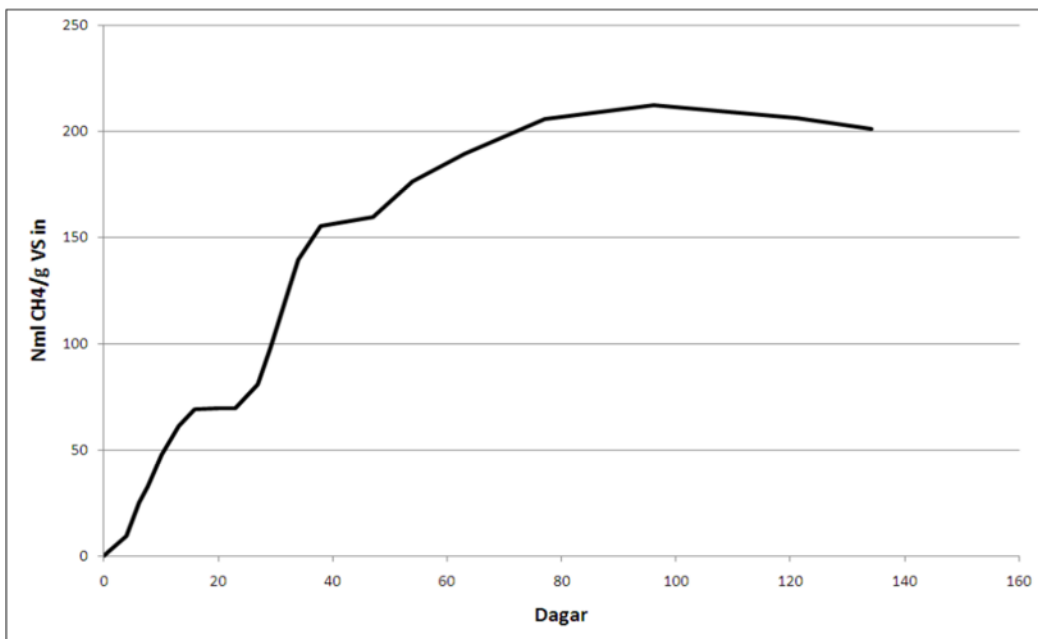


Figur 3.4. Vågrät utplaningsfas (från dag 9). Metanproduktion från blank är bortdragen.

Då metanproduktionen från ympen inte alltid betar sig på samma sätt i substratflaskorna som i blankflaskorna är det dock inte helt ovanligt att utplaningsfasen inte riktigt följer mönstret som beskrivs ovan. Till exempel kan ympens gasproduktion i blankflaskorna öka mot slutet av försöket och bli högre än den som produceras från ympen i substratflaskorna. Detta kan synas på resultaten genom att den ackumulerade, korrigerade, metanproduktionen tycks avta (Figur 3.5). Alternativt kan ympens bidrag komma tidigt i blanken, men sent i testflaskan, vilket resulterar i en ”puckel” på kurvan (Figur 3.6).



Figur 3.5. Minskande utplaningsfas. Metanproduktion från blank är bortdragen.



Figur 3.6. Metanproduktionskurva med pucklar. Metanproduktion från blank är bortdragen.

När kurvan planat ut, d v s när substratet slutar producera gas, kan en metanpotential avläsas. Som illustreras av kurvorna ovan kan tiden innan avläsning kan ske variera mycket mellan olika försök, beroende på substratets och ympen karaktär. Metanproduktionen från blankproverna dras från den totala produktionen från substrat och ymp så att endast substratets bidrag räknas in. Som beskrivits ovan kan det bland vara svårt att identifiera var metanpotentialen egentligen ska avläsas, speciellt om metanproduktionen i utplaningsfasen inte resulterar i en rät linje. Om ingen plan fas erhålls definieras lämpligen ett visst antal gasmätningar under en viss tidsperiod då en maximal avvikelse tillåts.

3.2 HUR AVGÖRS OM YMPENS KVALITET ÄR TILLÄCKLIGT GOD?

Som diskuterades tidigare i avsnittet metodik kan ympens kvalitet utvärderas genom att analysera nedbrytning och metanpotential av en kontrollsubstans (Tabell 3.1). Om uppmätt potential från en kontrollsubstans avviker från teoretisk/tidigare uppmätt potential eller om nedbrytningen går relativt långsamt (jämfört med tidigare analyser) är det troligt att ympen är av dålig kvalitet/inte innehåller alla mikroorganismer som behövs eller är hämmad på något sätt. Den anaeroba nedbrytningen utförs av ett komplext mikrobiologiskt system och valet av kontrollsubstrat avgör vilken information som aktivitetstestet ger (Tabell 3.1).

Vidare är det viktigt att säkerställa att ympen är tillräckligt avgasad. Om ympen producerar för mycket gas i relation till metanproduktionen från substratet blir osäkerheten stor. Enligt erfarenhet från referensgruppen till denna rapport så kan dock ympens bidrag uppgå till så mycket som 50 % av den totala metanproduktionen utan att orsaka problem med avläsningen. Det är emellertid av största vikt att standaravvikelsen mellan parallella flaskor är låg. Om bidraget från ympen är stor/eller standaravvikelsen hög bör försöket sättas om med en mer avgasad ymp alternativt med en antingen större andel substrat (om metanutbytet är väldigt lågt) eller med en annan ymp (om ympen efter avgasning fortfarande producerar väldigt mycket gas).

Tabell 3.1. Substrat som kan användas för kontroll av ympens aktivitet, förväntat utbyte samt för- och nackdelar .

Kontrollsubstrat	Aktivitet som kontrolleras	Förväntat utbyte per g substrat	Fördelar	Nackdelar
Acetat	Acetotrof metanbildning (efter en längre tid i frånvaro av acetoklastiska metanbildare – syntrof acetatoxidation med hydrogenotrof metanbildning)	373 NmL CH ₄ /g	Enkelt, snabbt, specifikt	Begränsad information – endast ett nedbrytningssteg och endast metanbildningen från acetat
Propionat	Oxidation av propionat till acetat och vätgas Metanbildning	530 NmL CH ₄ /g	Enkelt, snabbt, specifikt	Begränsad information – endast två nedbrytningssteg
Glukos	Fermentation Anaerob oxidation Metanbildning	373 NmL CH ₄ /g	Enkelt, snabbt	Begränsad information – endast tre nedbrytningssteg, ingen information om hydrolysakтивitet
Cellulosa	Hydrolys av cellulosa Fermentation Anaerob oxidation Metanbildning	415 NmL CH ₄ /g	Visar alla steg i nedbrytningsförloppet. Hydrolys av cellulosa är ofta hastighetsbestämmande.	För hydrolyssteg visas endast enzymatisk hydrolysakтивitet av cellulosa, ej av övriga komplexa polymerer
Fett	Hydrolys av fett Fermentation Anaerob oxidation Metanbildning	1 014 NmL CH ₄ /g	Visar alla steg i nedbrytningsförloppet.	För hydrolyssteg visas endast enzymatisk hydrolys av fett, ej av övriga komplexa polymerer
Protein	Hydrolys av protein Fermentation Anaerob oxidation Metanbildning	496 NmL CH ₄ /g	Visar alla steg i nedbrytningsförloppet.	För hydrolyssteg visas endast enzymatisk hydrolys av protein, ej av övriga komplexa polymerer
Blandningar	Variande	Beräknas enligt sammansättning	Mycket kollas på en gång, med liten arbetsinsats	Ospecifikt

3.3 HUR AVGÖRS OM ANALYSRESULTATEN ÄR TILLFÖRLITLIGA?

Om metanpotentialen för kontrollsubstanten är rimlig och bakgrundsproduktionen från ympen inte är för hög indikerar detta att BMP-testet har förutsättningar att ge tillförlitligt resultat. Kritiskt för den slutgiltiga utvärderingen är också graden av standardavvikelse mellan de parallella försöksflaskorna. Standardavvikelsen mellan replikaten är ett mått på resultatens osäkerhet. För heterogena substrat är det inte ovanligt att standardavvikelsen uppgår till 5-10 % av metanproduktionen, ibland till och med mer. Om avvikelsen mellan replikaten är stor, pekar detta på att ympen och/eller substratet har fördelats dåligt mellan flaskorna, eller en stor osäkerhet i provuttag och gasvolymmätmetod. I detta fall bör rutiner för ymp- och gasprovtagning och analys ses över. Värt att notera här är att det ibland kan vara mycket svårt att få en jämn fördelning av heterogena substrat, även med en noggrann invägning.

För att underlätta jämförelser och användning av metanpotentialvärden både inom och utanför den egna verksamheten är det lämpligt att med resultaten också redovisa standardavvikelse samt utbyte av en kontrollsubstans. Vid officiell publicering (rapport el dyl) bör också metanbildningskurvan presenteras.

Om en viss andel (enligt tidigare resonemang) av teoretiskt utbyte inte uppnås, eller om det tar för lång tid, bör försöket förkastas och sättas om.

3.4 VAD KAN INTE UTLÄSAS UR RESULTATEN?

Substratet blandas i försöket med en stor mängd ymp, det vill säga rötrest från välfungerande biogasanläggning, röt-kammare eller laboratorieförsök. Ympen bidrar, förutom med mikroorganismer, med näringsämnen, den ger också en utspädning av eventuella toxiska substanser. Av denna anledning är det svårt att från BMP-testet utläsa information om näringsmässiga begränsningar i substratet, samrötningseffekter samt hämningseffekter. Självfallet kommer kraftigt hämmande/begränsande/stimulerande effekter att synas i testet men om ingen begränsning/stimulering kan spåras behöver detta inte innebära att dylika effekter inte skulle erhållas i en kontinuerlig process. I en kontinuerlig biogasprocess tillförs substrat kontinuerligt till en totalomblandad reaktor samtidigt som rötrest tas ut. Medeluppehållstiden för substratet i processen är reaktorvolymen dividerat med utflödet. Ofta syns inte problem med näringsbrist i ett material eller det omvända, positiva effekter genom samrötning av olika material, förrän reaktorvolymen hunnit bytas ut minst en gång (en uppehållstid). Ibland tar det ännu längre tid. Ett riktmärke här är tre uppehållstider (5).

En annan begränsning med metanpotentialanalysen är det faktum att den visar den maximala möjliga nedbrytningen av ett substrat med en viss ymp och inte det metanutbyte som skulle erhållas i en kontinuerlig process, inte ens om ympen inhämtas från just denna process. Anledningen till detta är det faktum att material kontinuerligt tillförs och tas ut ur ett kontinuerligt system. Detta innebär att en del av materialet kommer att uppehålla sig en kortare tid i reaktorn, medan en del kom-

mer att finnas där längre. En del av energin i substratet används också för produktion av ny biomassa (5-10%). Metanutbytet i ett kontinuerligt system blir därför inte 100 % av potentialen, inte ens om substratet endast innehåller lättnedbrytbart material. Skillnaden mellan hur stor del av metanpotentialvärdet som uppnås i olika kontinuerliga system kan vara så stor som mellan 35-90% (erfarenhet från författare och referensgrupp).

4 FELSÖKNING

Det finns olika anledningar till att ett problem kan uppkomma i samband med utförandet av ett satsvist utrotningförsök. Nedan finns en tabell som kan användas för felsökning och några tips på möjliga åtgärder för att lösa eventuella problem.

Symptom	Trolig förklaring	Möjlig åtgärd
<i>Ojämn gasproduktion mellan parallella flaskor</i>	Ojämn fördelning (invägning) av substrat eller ymp i flaskorna	Förbättra noggrannhet på invägningen. Öka graden finfördelning av substrat. Säkerställ god omrörning av ymp/substrat under fördelningen till flaskorna. Homogenisera ympen, t ex genom silning.
	Gasläckage	Kontrollera proppar och anslutningar för läckage. Kontrollera materialets gastätthet.
	Förskjuten start av metanbildningen mellan de olika parallella flaskorna	Produktionen kommer vanligtvis i fas i slutet av försöket och därför behövs ingen åtgärd.

Symptom	Trolig förklaring	Möjlig åtgärd
	Underskattning av metan/biogasproduktion p g a fel i provtagning/analys metodik	<p>Analyskörkort för utförande personal</p> <p>Analys av externstandard, d v s ett prov med känd metanhalt analyseras samtidigt som det okända provet.</p>
<i>Ingen eller låg gasproduktion</i>	Gasläckage	Se ovan
	Dålig aktivitet i ympen	<p>Kontrollera metabildningen från en intern standard. Om låg - starta om försöket med ny/annan ymp.</p> <p>Säkerställ att den nya ympen är färsk och inte har exponerats för syre under en längre tid.</p> <p>Använd buffert eller medium som spädningslösning (om den låga gasproduktionen beror på att ympen eller substratet har lågt/högt pH eller dålig näringsammansättning).</p>
	Substrat med hämmande effekt	Öka graden utspädning av substratet, d v s minska belastningen (mer spädningsmedium).

Symptom	Trolig förklaring	Möjlig åtgärd
		<p>Ändra förhållandet substrat/ymp (mindre substrat i relation till ymp).</p> <p>Använd buffert (bra om hämningen beror på en pH förändring) eller näringsmedium (bra om ymp eller substrat har dålig näringsstatus) som spädningsmedium.</p>
<i>Ingen eller låg gasproduktion</i>	<p>Substrat med lågt innehåll av biologisk nedbrytbart material</p> <p>Överbelastning följt av snabb syrabildning och pH sänkning</p>	<p>Kemisk karaktärisering av olika grupper av organiskt material i substratet.</p> <p>Minska belastningen.</p> <p>Använd buffert som spädningsmedium.</p>
<i>Lång lagfas innan gasbildning startar</i>	<p>Dålig aktivitet i ympen</p> <p>Substrat med hämmande effekt</p> <p>Svårnedbrytbart substrat</p>	<p>Se ovan</p> <p>Se ovan</p> <p>Ingen åtgärd alternativt öka finfördelningen av substratet. En finfördelning kan dock också påverka den slutgiltiga metanpotentialen.</p>

Symptom	Trolig förklaring	Möjlig åtgärd
<i>Inledande snabb gasproduktion som avstannar efter bara några dagar</i>	Överbelastning	Minska belastningen. Öka andelen ymp i förhållande till sub-strat.
	Bildning av hämmande ämnen	Om hämningen beror på bildning av syror kan problemet lösas om en buffert används som spädningsmedium, annars används samma strategi som vid en överbelastning.
<i>Låg gasproduktion från intern standard</i>	Dålig aktivitet i ymp	Se ovan
	Underskattning av metan/biogasproduktion p g a fel i provtagning/analys metodik	Analyskörkort för utförande personal. Analys av externstandard, dvs ett prov med känd metanhalt analyseras samtidigt som det okända provet.
<i>Oväntat låg/hög metanhalt vid enstaka provtagningstillfälle</i>	Ökad/minskad löslighet av koldioxid p g a förändring av pH i samband med nedbrytningen.	Ingen åtgärd nödvändig.
	Underskattning av metan/biogasproduktion p g a fel i provtagning/analys metodik	Se ovan

Symptom	Trolig förklaring	Möjlig åtgärd
<i>Hög gasproduktion från blank</i>	För kort avgasningsperiod	Öka tiden för avgasning med några dagar. Byt till annan ymp med lägre gasprodukt- ion.
<i>Låg gasproduktion från blank</i>	Väl avgasad ymp	Inga problem om gasproduktionen från substratet startar snabbt. Om lagfasen däremot blir lång (>vecka) bör ny ymp hämtas och denna sedan avgasas under en kortare tid.
<i>Gasproduktionen från ympen överstiger gas- produktionen från flaska med substrat</i>	Substratet innehåller hämmande ämnen Gasproduktionen från ympen har olika förlopp i frånvaro och närvaro av substratet	Se ovan Svårt att åtgärda. Ev kan en ny ymp användas. Om konsekvensen är en ”puckel” i gasproduktionskurvan (Figur 3.5) kan en ungefärlig metanpotential avläsas som ”toppvärdet.

5 SNABBGUIDE

Som nämnts ovan finns det flera sätt att genomföra ett satsvist utvärtningsförsök som kan ge likvärdiga resultat. Nedan finns dock en övergripande beskrivning i punktform som kan användas som snabbguide till hur ett BMP-test ska genomföras

1. Hämta in ymp och substrat i en mängd som tydligt överstiger den mängd som behövs för försöket. Undvik i möjligaste mån att exponera ympen för luft/syrgas.
2. Om nödvändigt homogeniseras substratet, lämpligtvis till en partikelstorlek som motsvarar den som är intressant för den specifika anläggning som skall använda substratet. Om anläggningen är okänd är <12 mm en relevant partikelstorlek.
3. Om ympen är heterogen och t ex innehåller hög andel partikulärt material bör också denna homogeniseras, t ex genom silning
4. Analysera substratet och ympen. Som ett minimum ska % VS (i relation till våtvikt) eller COD analyseras.
5. Förvara substratet på lämplig plats. Torra material förvaras bäst i rumstemperatur och våta bör förvaras kallt, i kylrum eller, om den måste förvaras längre än några veckor, i frys.
6. Avgasa ympen genom att inkubera den vid den temperatur vid vilken försöket senare ska genomföras. Anslut förvaringskärlet till en gaspåse, till ett vattenlås eller släpp dagligen ut bildad gas för att säkerställa att inte ett för stort övertryck bildas. Avgasningen ska ske i 3-7 dagar.
7. Fördela substrat, ymp och spädningsmedium i de flaskor (0,1-2L) som används för försöket. De olika komponenterna vägs in, ett riktmärke för ymp/substrat-förhållande är ca 2 (på VS-basis). Beroende på karaktären av substrat och ymp används antingen kranvatten, buffert eller en näringslösning som spädningsmedium. För att undvika kontakt med luft spolask flaskorna under invägningen med en blandning av kvävgas och koldioxid (alternativt bara kvävgas). Varje substrat testas i minst tre replikat. Som kontroll startas också tre flaskor med enbart ymp och spädningsmedium samt tre flaskor med en positiv kontroll istället för substratet. Flaskorna försluts med en gastät propp.
8. Flaskorna inkuberas vid den temperatur som är intressant för försöket, helst under konstant omrörning. Alternativt kan flaskorna skakas manuellt någon/några gånger per dag.
9. Provtag och analysera mängd producerad biogas samt metaninnehåll i gasen regelbundet. Provtagningsfrekvensen varierar med substratet men vanligtvis behövs tätare provtagning i början av experimentet (varje-varannan dag) för att glesas ut under försökets gång.
10. Plotta ackumulerad metanmängd per tillförd mängd substrat (Nml metan/g VS) över tid (dagar) och avläs metanpotentialen när kurvan planat ut.

När försöket är klart och metanpotentialen bestämd är det viktigt att göra en bedömning av resultatens rimlighet och kvalitet. För att ge information om försökets kvalitet redovisas lämpligen metanpotentialen med standardavvikelse för parallella flaskor och med en angivelse om utbytet från kontrollen (positiv kontroll).

För att göra en bedömning av resultatets rimlighet är det t ex möjligt att beräkna det teoretiska utbytet för ett visst material. Om materialets sammansättning är känd kan det teoretiska utbytet bestämmas. Enligt Buswells formula eller genom att utgå från referensvärden för kolhydrater, protein och fett (3, 24, 25). Som nämnts tidigare (avsnitt 2.2.2) finns det ibland risk för att potentialen överskattas i samband med en felaktig VS analys. Genom en teoretisk bedömning av resultatens rimlighet kan ett dylikt misstag upptäckas och risken för spridning av felaktiga resultat minimeras.

6 REFERENSER

1. Produktion och användning av biogas år 2009. Energimyndigheten. Rapport ES2010:05
2. Linné, M., Ekstrand, A., Engellsson, R., Persson, E., Björnsson, L. och Lantz, M (2008). Den svenska biogaspotentialen från inhemska restprodukter. Rapport Energigas Sverige, Avfall Sverige, Svensk Vatten, Svenska Biogasföreningen.
3. Nordberg, U. (2006). Biogas- nuläge och framtida potential. Rapport Värmeforsk T5-503.
4. Carlsson, M och Uldal, M (2009). Substrathandbok för biogasproduktion. SGC Rapport 200.
5. Jarvis, Å och Schnürer, A (2009). Mikrobiologisk handbok för biogasanläggningar. SGC Rapport 207.
6. Berglund, M och Börjesson, P (2003). Energianalys av biogassystem. Rapport 44. Inst för teknik och samhälle, Lunds Universitet.
7. Rapsoso, F., Fernández-Cegri, V., De la Rubia, M.A., Borja, R., Béline, F., Cavinato, C., Demirer, G., Fernández, B., Fdz-Polanco, M., Fringo, J.C., Ganesh, R., Kaparaju, P., Koubova, J., Méndez, R., Menin, G., Peene, A., Scherer, P., Torrijos, M., Uellendahl, H., Wierinck, I., och Wilde de, V. (2011). Biochemical methane potential of solid organic substrates: evaluation of anaerobic biodegradability using data from an international interlaboratory study. *Journal of Chemical Technology Biotechnology*. 86:1088-1098.
8. Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, L., Guwy, A., Kalyuzhnyi, S. V., Jeníček, P och van Lier, J. (2009). Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Sciences and Technology*. 59(5):927-934.
9. Guwy, A.J. (2004). Equipment used for testing anaerobic biodegradability and activity. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 3(2): 131-139.
10. Hansen L.T., Schmidt J.E., Angelidaki I., Marca E., la Cour Hansen J., Mosbæk H., Christensen T.H. (2004) Method for determination of methane potentials of solid organic waste, *Waste Management*. 24:393-400
11. Müller W-R., Frommert I., Jörg R. (2004). Standardized methods for anaerobic biodegradability testing, *Environmental Science and Bio/Technology*. 3:141-158
12. Lin J-G., Ying-Shih M., Chao A. C., Huang C-L. (1999). BMP test on chemically pretreated sludge, *Biorescourse Technology*. 68:187-192
13. Symons G. E., Buswell A. M. (1933). The methane fermentation of carbohydrates, *Journal of the American Chemical Society*. 55: 2028-2036
14. Owen W. F., Stuckey D. C., Healy J. B. Jr., Young L. Y., McCarthy P. L. (1979). Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity, *Water research*. 13:485-492

15. Hashimoto A. G. (1989). Effect of Inoculum/Substrate Ratio on Methane Yield and Production Rate from Straw, *Biological Wastes*. 28:247-255
16. Neves L., Olivera R., Alves M. M. (2004). Influence of inoculum activity on the bio-methanization of a kitchen waste under different waste/inoculum ratios. *Process Biochemistry*. 39:2019-2024.
17. Raposo F., Banks C. J., 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
18. Mshandete A., Björnsson L., Kivaisi A., Rubindamayugi M. S. T., Mattiasson B. (2005). Effect of particle size on biogas yield from sisal fibre waste, *Renewable energy*. 31: 2385-2392
19. Rozzi, A., och Remigi, E. (2004). Methods assessing microbial activity and inhibition under anaerobic conditions: a literature review. *Reviews in Environmental Science and Bio/technology* 3(2): 93-115.
20. Batstone, D.J., Tait, S., och Starrenburg, D. (2009). Estimation of hydrolysis parameters in full scale anaerobic digesters. *Biotechnology and Bioengineering* 102(5): 1513-1520.
21. Jensen, P.D. Hardin, M.T., och Clarke, W.P. (2009). Effect of biomass concentration and inoculum source on the rate of anaerobic cellulose solubilization. *Bioresource Technology*. 100(21): 5219-5225.
22. Jensen, P.D., Ge, H. och Batstone, D.J. Assessing the role of biochemical methane potential tests in determining anaerobic degradability rate and extent. Abstrakt från konferensen Anaerobic Degradation (AD)12 I Guadalajara, Mexico, Oct 31- Nov 4.
23. APHA – American Public Health Association, AWWA – American Water Works Association, WEF – Water Environment Federation, 1995, Standard methods for the Examination of Water and Wastewater, United Book Press Inc., Maryland, USA, 2540 B – Total Solids Dried at 103-105°C, 2540 E – Fixed and Volatile Solids Ignited at 550°C
24. Westerholm, M, Roos, S och Schnürer, A. *Syntroacetikus schinkii* gen. nov., sp. Nov., an anerobic syntrophic acetate-oxidizing bacterium isolated from two a mesophilic anaerobic filter. *FEMS Microbiology Letters*. 309:100.104.
25. Angelidaki, I., Sanders, W. (2004). Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants, *Reviews in Environmental Science and BioTechnology*. 3: 117-129.
26. Buswell, A.M. och Boruff, C.S. (1932). The relation between the chemical composition of organic matter and the quality and quantity of gas produced during sludge digestion. *Sewage Works Journal*. 4(3), 454-460.



Scheelegatan 3, 212 28 Malmö • Tel 040-680 07 60 • Fax 040-680 07 69
www.sgc.se • info@sgc.se
