

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені В. Н. КАРАЗІНА

Біологічний факультет
Кафедра біотехнології та молекулярної біології

**МЕХАНІЗМ РЕГУЛЯЦІЇ МЕТАНОУТВОРЕННЯ ТА РОЗРОБКА
ПРОГНОСТИЧНОЇ МОДЕЛІ ЦЬОГО ПРОЦЕСУ**

Допущена до захисту
«__»_____2023 р.

Кваліфікаційна робота
студента кафедри біотехнології та
молекулярної біології
Гладкого Олександра Юрійовича

Завідувач кафедри

Науковий керівник:
Божков Анатолій Іванович
доктор біологічних наук, професор

Оцінка «_____»
«__»_____2023 р.

Харків 2023

АНОТАЦІЯ

У роботі було вивчено вплив різних факторів на метаноутворення, механізми інгібування та покращення метаногенезу. Досліджено та відтворено 3 ключові прогностичні моделі анаеробного зброджування – модель Гомпертца, логістичну модель та модель Річарда.

Отримані результати свідчать про те, що найбільш точною є модифікована модель Гомпертца – вона найкраще імітує процес анаеробного зброджування та виробництва біогазу в системі.

Було розроблено прогностичну модель виробітку біогазу для неперервної або напівнеперервної установки на базі модифікованої моделі Гомпертца.

Робота включає 33 сторінки, містить 9 таблиць, 6 рисунків. Список джерел літератури містить 32 джерела, з нього 31 – іноземні.

Ключові слова: біогаз, прогностична модель, модифікована модель Гомпертца.

ANNOTATION

The work studied the influence of various factors on methanogenesis, the mechanisms of inhibition and improvement of anaerobic digestion. Three key prognostic models of anaerobic fermentation were studied and reproduced - the Gompertz model, the logistic model and the Richard model.

The obtained results indicate that the modified Gompertz model is the most accurate – it best simulates the process of anaerobic fermentation and biogas production in the plant.

A predictive model of biogas production for a continuous or semi-continuous plant based on the modified Gompertz model was developed.

The work includes 33 pages, contains 9 tables, 6 figures. The list of literature sources contains 32 sources, 31 of which are foreign.

Key words: biogas, prognostic model, modified Gompertz model

ЗМІСТ

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	5
ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД І АНАЛІЗ НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	7
1.1. Гідроліз органічної сировини	7
1.2. Ацидогенез	8
1.3. Ацетогенез	9
1.4. Метаногенез.....	10
1.5. Вивчення впливу співвідношення C:N (вуглець/азот) на анаеробний процес	13
1.6. Вивчення впливу рН середовища культивування на анаеробний процес	14
1.7. Вивчення впливу температури культивування на анаеробний процес	14
1.8. Вивчення впливу швидкість завантаження органічної речовини (OLR) на анаеробний процес	15
1.9. Вивчення впливу гідравлічного часу утримання (HRT) та часу утримання твердих речовин (SRT) на анаеробний процес.....	16
1.10. Вивчення впливу мікроелементів на анаеробний процес	17
1.11. Вивчення впливу факторів-інгібіторів на анаеробний процес ..	17
1.11.1. Сірководень.....	17
1.11.2. Амміак/аммоній.	18
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ	20
2.1. Проведення батч-тестів сировини.....	20
2.2. Існуючі прогностичні моделі анаеробного зброджування	22
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ	24
3.1. Результати батч-тесту та кореляція обраних моделей.....	24
3.2. Прогнозування неперервного виробництва	27
3.3. Візуалізація моделі	28
ВИСНОВКИ.....	31
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	32

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

FOS (ЛОК) – з нім. Flüchtigen Organischen Säuren – леткі органічні кислоти (вимірюється в мг $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{л}$);

OLR – швидкість органічного завантаження (кількість органічних відходів, що подаються на одиницю об'єму метантенка на день);

SRT – час утримування твердих речовин (час, який тверда фракція стоків проводить у ферментаторі);

TAC – загальний неорганічний вуглець, тобто лужна буферна ємність системи (вимірюється в мг $\text{CaCO}_3/\text{л}$);

TAN – загальна кількість азоту у формах NH_3 і NH_4^+ у воді;

HRT/SRT – гідравлічний/твердих речовин час утримування (середній інтервал часу, протягом якого субстрат зберігається всередині метантенка);

VS – (аббревіатура від англ. volatile solids) – летючі тверді речовини.

ВСТУП

Останніми роками у світі та в Україні, зокрема, домінує тенденція переходу на «зелену енергетику». Важливою частиною цієї промисловості є біогазові установки, які виробляють біогаз та біометан, шляхом анаеробного зброджування органічних відходів – рослинних решток, побічних продуктів ферм, харчової та сільсько-господарської промисловості.

У зв'язку з цим, постає потреба розробити ефективний механізм прогнозування утворення біогазу задля можливості планування роботи установки як на етапі запуску, так і на етапі стабільного виробництва. Оскільки метаноутворення є складним процесом, необхідно вивчити механізми його регуляції та розробити прогностичну модель, яка дозволить дослідникам та фахівцям регулювати процес метаноутворення з метою ефективного контролю.

Мета роботи – розробити прогностичну модель виробництва біогазу для установок неперервного або напівнеперервного типу подачі субстрату.

Завдання:

- проаналізувати основні фактори, що впливають на метаноутворення;
- окреслити існуючі моделі прогнозування анаеробного зброджування та фактори, що на них впливають;
- провести батч-тести сировини, а саме бурякового жому, гною ВРХ та курячого посліду;
- сформулювати теоретичне обґрунтування прогностичної моделі виходу біогазу для біогазових установок неперервного або напівнеперервного типу подачі субстрату.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД І АНАЛІЗ НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

Утворення метану в ферментаторі відбувається за рахунок анаеробного (безкисневого) зброджування. Сам процес заснований на відновлювальних реакціях, які відбуваються в безкисневих умовах. В процесі зброджування виділяють 4 основні етапи: гідроліз, ацидогенез, ацетогенез, метаногенез. Усі етапи тісно взаємопов'язані між собою і відсутність балансу призводить до нестабільності середовища та низького виходу метану [8].

1.1. Гідроліз органічної сировини

Перша стадія анаеробного зброджування – гідролітична – полягає в ферментативному перетворенні органічних матеріалів, які не розчиняються та мають велику молекулярну масу (наприклад, ліпіди, полісахариди, білки, жири, нуклеїнові кислоти), у розчинні органічні сполуки, які можуть бути використані як джерела енергії та клітинного вуглецю. Ці сполуки включають моносахариди, амінокислоти та інші прості органічні сполуки. [19]. Цей етап є надзвичайно важливим, оскільки великі органічні молекули занадто великі для того, щоб мікроорганізми могли поглинути та використати їх як джерело їжі на наступних етапах метаболізму. Деякі бактерії на цій стадії виділяють кілька ферментів, які дозволяють їм розкладати різні типи органічних матеріалів. Інші бактерії спеціалізуються на розкладанні певних типів органічних матеріалів, виділяючи ферменти для розщеплення цукру або білка. Мікроорганізми, які розщеплюють різні цукри, називаються цукролітичними, а ті, що розщеплюють білки, – протеолітичними. Для розкладання цукрів, білків, жирів та інших органічних сполук існує широкий спектр позаклітинних ферментів, приклади деяких з яких наведені в таблиці 1.1. [2].

Приклади типових ферментів, задіяних на стадії гідролізу, субстратів та їх продуктів [2]

Фермент	Субстрат	Продукт розкладу
Протеїназа	Білки	Амінокислоти
Целюлаза	Целюлоза	Целобіоза та глюкоза
Геміцелюлаза	Геміцелюлоза	Глюкоза, ксилоза, маноза, арабіноза
Амілаза	Крохмаль	Глюкоза
Пектиназа	Пектин	Галактоза, арабіноза
Ліпаза	Жири	Леткі жирні кислоти, гліцерол

Швидкість розкладання на стадії гідролізу значною мірою залежить від природи субстрату. Перетворення целюлози та геміцелюлози зазвичай відбувається повільніше, ніж розкладання білків [7].

До гідролітичних мікроорганізмів відносяться анаеробні облигатні бактерії відділів *Firmicutes* та *Bacteroidetes*; родів: *Enterobacteriaceae*, *Clostridiaceae*, *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae* [4; 18].

1.2. Ацидогенез

Під час цієї стадії ацидогенетичні бактерії перетворюють водорозчинні органічні речовини, які утворились на попередній стадії гідролізу, на коротколанцюгові органічні кислоти (мурашину, оцтову, пропіонову, масляну, пентанову), спирти (метанол, етанол), альдегіди, вуглекислий газ і водень. Найбільш розповсюдженими учасниками цього процесу є бактерії родів *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Micrococcus* та *Flavobacterium* [18; 30].

1.3. Ацетогенез

В процесі метанового бродіння, ацетати є важливими та ключовими проміжними продуктами, які утворюються під час фази ацетогенезу. Ацетатні бактерії, такі як *Syntrophomonas* і *Syntrophobacter*, перетворюють продукти ацидогенезу на ацетати та водень, які можуть у подальшому використовуватися метаногенними бактеріями. В результаті ацетогенезу виділяється водень, який виявляє токсичну дію на мікроорганізми, які здійснюють цей процес. Автотрофні метанові бактерії на наступному етапі здатні використовувати водень, що призводить до зниження токсичного навантаження. Утворений симбіоз між ацетогенними та метановими бактеріями, що використовують водень, називають синтрофією. Приблизно 70% метану утворюється під час відновлення ацетатів, що робить фазу ацетогенезу важливою для ефективного виробництва біогазу. Під час цієї фази утворюється близько 25% ацетатів (табл. 1.2) і близько 11% водню, який утворюється в процесі розкладання відходів. Ацетогенна фаза обмежує швидкість деградації субстрату на кінцевій стадії зброджування [18].

Таблиця 1.2

Типові реакції утворення ацетату [18]

Пропіонова кислота	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + \text{CO}_2 + 3\text{H}_2$
Масляна кислота	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$
Валеріанова кислота	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{CH}_3(\text{CH}_2)\text{COOH} + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$
Ізовалеріанова кислота	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + \text{H}_2$
Капронова кислота	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH} + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 5\text{H}_2$
Вуглекислий газ/водень	$2\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2\text{O}$
Гліцерин	$\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + 3\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$
Молочна кислота	$\text{CH}_3\text{CHONCOO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$
Етанол	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)\text{OH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2$

1.4. Метаногенез

Під час метаногенної стадії головними прекурсорами для утворення метану є ацетат, вуглекислий газ та водень, хоча метан може бути утворений також і з інших органічних сполук, окрім ацетату (Рис. 1.1; Табл. 1.3). Інші продукти ферментації повинні бути перетворені на сполуки, які можуть бути використані метаноутворюючими бактеріями. Кислоти, спирти та органічні азотисті сполуки, які не можуть бути розкладені метаноутворюючими бактеріями, накопичуються в надосадовій рідині метантенка. Це призводить до високої органічної міцності або вуглецевої біохімічної потреби в кисні супернатанту. Якщо «робоча швидкість» кислотоутворюючих бактерій і метаноутворюючих бактерій є приблизно однаковою, то метаболічна активність метаногенної стадії залишається стійкою. Якщо метаногенна стадія стабільна, кислоти розкладаються і загальний процес стає трохи лужним завдяки утворенню аміаку (NH_3) з аміногруп ($-\text{NH}_2$), що вивільняються в результаті деградації білків і амінокислот [6].

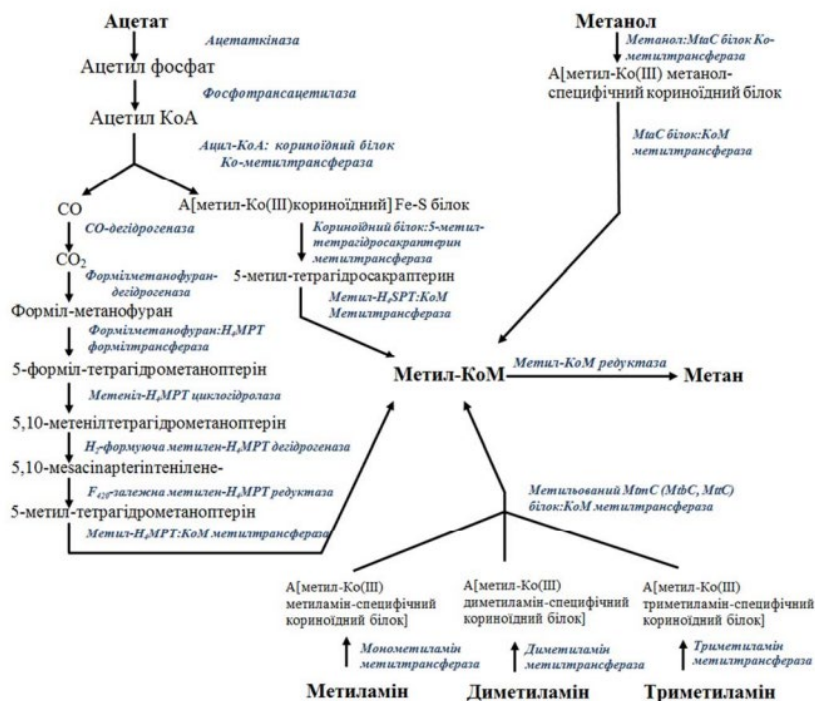


Рис. 1.1. Схема утворення метану [1; 23]

Таблиця 1.3

Типові реакції утворення метану з різних субстратів

Водень	$4\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$
Ацетат	$\text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$
Форміат	$4\text{HCOOH} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$
Метанол	$4\text{CH}_3\text{OH} \rightarrow 3\text{CH}_4 + \text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$
Карбон монооксид	$4\text{CO} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{H}_2\text{CO}_3$
Триметиламін	$4(\text{CH}_3)_3\text{N} + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow 9\text{CH}_4 + 3\text{CO}_2 + 4\text{NH}_3$
Диметиламін	$2(\text{CH}_3)_2\text{NH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{CH}_4 + \text{CO}_2 + 2\text{NH}_3$
Метиламін	$4(\text{CH}_3)\text{NH}_2 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{CH}_4 + \text{CO}_2 + 4\text{NH}_3$
Метилмеркаптан	$2(\text{CH}_3)_2\text{S} + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{CH}_4 + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{S}$
Метали	$4\text{Me}^0 + 8\text{H}^+ + \text{CO}_2 \rightarrow 4\text{Me}^{++} + \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$

Залежно від використовуваних субстратів, більша частина метаногенів може бути розділені на дві групи. Окремо виділяють третю групу – метилотрофні метаногени.

Перша група – гідрогенотрофні метаногени – використовує тільки H_2 і CO_2 . Парціальний тиск водню є важливим параметром для стабільності та ефективності процесу травлення, тому активність гідротрофних метаногенів є важливою. Гідрогенотрофні метаногени є ефективними при переробці простих, розчинних типів субстратів, таких як ацетат, етанол, декстроза, пропіонат, а також різних типів складних відходів, таких як нафта.

Друга група – ацетотрофні метаногени – використовують ацетат як субстрат для свого росту та виробництва метану. Ацетат є одним з найважливіших субстратів для метаногенних бактерій, тому що понад 70% біометану виходить при переробці оцтової кислоти. Активність і ефективність ацетотрофних метаногенів є важливими параметрами в процесі анаеробного перетворення ацетату. Ацетотрофні метаногени є

обов'язковими анаеробами, які переробляють ацетат на метан та вуглекислий газ. Дослідження показали, що гідрогенотрофні метаногени зберігають високу питому метаногенну активність при температурах до 65°C, і можуть брати участь у деградації органічної фракції міських відходів, в термофільних та гіпертермофільних умовах, а також в умовах зброджування осаду [11].

Найбільш типовими метаногенами, які зустрічаються у ферментаторах є представники родів *Methanosarcina*, *Methanospirillum*, *Methanosphaera*, *Methanoculleus*, *Methanobrevibacter*, *Methanobacterium*, та *Methanosaeta* [21].

Взаємодія між ацетогенними організмами, що беруть участь у анаеробному окисненні, та метаногенами є критично важливою і залежить від парціального тиску водню, що присутній в реакторі. У процесі анаеробного окиснення, протони є кінцевими акцепторами електронів, що веде до утворення H_2 . Однак, ці реакції окиснення відбуваються тільки за умови низького парціального тиску водню. Ацетогенні бактерії можуть отримати енергію, необхідну для їх виживання і росту, тільки при дуже низькій концентрації H_2 . Метаногени мають комфортний діапазон при вищих значення парціального тиску водню. Вони постійно видаляють продукти метаболізму ацетогенних бактерій із субстрату і таким чином підтримують низьку концентрацію H_2 , утворюючи середовище придатне для існування ацетогенних бактерій. При цьому близько 30% усього виробництва CH_4 можна віднести до процесів відновлення CO_2 за допомогою H_2 , але лише 5-6% від усього утвореного метану відносять як до отриманого за допомогою розчиненого водню. Це пояснюється «міжвидовим переносом водню», за допомогою якого водень переходить безпосередньо від ацетогенних мікроорганізмів до метаногенних, не розчиняючись у субстраті [12].

1.5. Вивчення впливу співвідношення C:N (вуглець/азот) на анаеробний процес

Співвідношення C:N у субстраті для анаеробного зброджування є показником балансу між енергетичними продуктами (вуглець) та основою для створення бактеріального білку та нуклеїнових кислот (азот). Оптимальне співвідношення 22-35:1 забезпечує найбільш високу мікробну активність. Ця залежність пов'язана з тим, що анаеробні бактерії переробляють вуглець у 25-30 разів швидше ніж азот [17]. Співвідношення нижче 22:1 призводить до підвищення концентрації аміаку у реакторі, який утворюється шляхом розкладання надлишкового білку. Висока концентрація аміаку в реакторі може пригнічувати метаногени, спричиняючи накопичення летких жирних кислот, зниження рН і порушення травлення. Співвідношення вище 35:1 призводить до надлишку вуглецю та накопичення CO₂ у біогазі. Також дефіцит N є лімітуючим фактором для росту культури, призводячи до ситуації, в якій для росту нових бактерій повинна загинути частина старої культури та вивільнити азот [12].

Найбільш популярним методом регуляції співвідношення C:N є співзброджування одного субстрату з декількома іншими. Для компенсації низького співвідношення C:N у тваринних та індустриальних відходах використовують додавання сировини, багатой на вуглець, такої як рослинні залишки. У роботі [13] вказано що поступове підвищення співвідношення C:N з 17 до 26 та 30 призводить до збільшення виходу біогазу, а при співвідношенні 31 отримують біогаз з найвищим вмістом метану на рівні 85%. Також C:N на такому рівні збільшує стабільність процесу та рН, а також збільшує метаногенну активність.

1.6. Вивчення впливу рН середовища культивування на анаеробний процес

рН впливає на хімічну рівновагу NH_3 , H_2S і летких жирних кислот (ЛОК), які можуть пригнічувати активність мікроорганізмів. Повідомляється, що ідеальний діапазон рН для анаеробного розщеплення становить 6,8–7,4 [15]. При рН нижче 6,0 неіонізовані ЛОК інгібують процес метаногенезу, в той час як при рН вище 8,0 вільний аміак стає причиною інгібування [17].

Головним фактором зниження рН у ферментері є накопичення ЛОК, а підвищення рН відбувається за рахунок накопичення аміаку при розкладанні білків. Накопичення ЛОК не завжди призводить до зниження рН у ситуації коли буферна ємність субстрату є достатньо високою. Високу буферність та лужність мають залишки тваринних відходів. Це здатно стабілізувати рН у ферментері, тому інгібуючий ефект ЛОК був набагато вищим у системах з низьким рН [31].

1.7. Вивчення впливу температури культивування на анаеробний процес

Температура безпосередньо впливає на продуктивність бактерій. Біогазові установки можуть працювати в психрофільних ($< 25\text{ }^\circ\text{C}$), мезофільних ($32\text{-}42\text{ }^\circ\text{C}$) або термофільних ($50\text{-}57\text{ }^\circ\text{C}$) умовах, визначених на основі групи мікроорганізмів, що використовуються в процесі [24].

Коливання температури впливатимуть на активність метаноутворюючих мікроорганізмів більшою мірою, ніж робоча температура. Коливання температури під час процесу слід мінімізувати, тобто $<1\text{ }^\circ\text{C}$ на день для термофільного зброджування та $2\text{-}3\text{ }^\circ\text{C}$ на день для мезофільного [27]. Відзначається, що бактеріальна активність зазвичай вища на 25-50% при термофільних умовах, проте концентрація вільного

аміаку також зростає з підвищенням температури, що може призвести до інгібування процесу. При падінні температури нижче 32°C відбувається накопичення ЛОК, але сповільнюється перетворення їх на метан, що також призводить до інгібування [30].

1.8. Вивчення впливу швидкість завантаження органічної речовини (OLR) на анаеробний процес

Швидкість завантаження, також відома як об'ємна швидкість органічного завантаження, – це швидкість подачі органічної речовини в метантенк. OLR визначає кількість субстрату, яку мікроорганізми здатні стабілізувати за певний час на одиницю об'єму реактора (кг СОР/м³-день). Формула для визначення OLR має такий вигляд [24]:

$$\text{OLR} = \frac{m * c}{V_R * 100} \quad (\text{кг оDM м}^{-3} \text{ д}^{-1})$$

де m – кількість субстрату, що подається в одиницю часу (кг/день);

c – концентрація сухої органічної речовини (% оDM);

V_R – об'єм реактора (м³).

Однак можлива максимальна швидкість органічного завантаження залежить від кількості біомаси, що зберігається в біореакторі, типів субстрату (концентрація, здатність до біологічного розкладання), умов навколишнього середовища (температура, рН) і конфігурації реактора, серед іншого. Для стабільної роботи ферментера слід уникати перевантаження. Деякими основними показниками перевантаження реактора є зниження вмісту метану та швидкості утворення біогазу, зниження рН реактора та швидке збільшення ЛОК і співвідношення FOS/ТАС. Оскільки оптимальна швидкість завантаження залежить від

багатьох факторів, швидкість завантаження має бути такою, щоб рН був у нейтральному діапазоні, загальні ЛОК були між 1500 і 4500 мг як еквівалент оцтової кислоти (НАс)/л, а концентрація амонійного азоту була нижче 4500 мг/л. Для твердих відходів з високим вмістом, таких як ТПВ, відходи овочів і фруктів, оптимальна норма органічного завантаження коливається від 0,3 до 2,5 кг СОР/м³-день. [9; 17]

1.9. Вивчення впливу гідравлічного часу утримання (HRT) та часу утримання твердих речовин (SRT) на анаеробний процес

HRT, визначений як співвідношення між об'ємом реактора та швидкістю потоку живлення, являє собою середній час перебування субстрату у реакторі [26]. Формула для визначення HRT має такий вигляд [24]:

$$\text{HRT} = \frac{V_R}{V} \quad (\text{д})$$

де V_R – об'єм реактора (м³);

V – об'ємна швидкість подачі субстрату в реактор за добу (м³/д).

SRT – це середній час, протягом якого бактерії (тверді речовини) знаходяться в ферментаторі [25].

Результати [22] показують, що скорочення SRT (збільшення OLR) призводить до збільшення швидкості видобутку газу та об'ємної продуктивності метану, а також до зниження ефективності руйнування органічної сухої речовини. Короткий час утримання призводить до піноутворення, накопичення ЛОК та підвищення лужності, призводячи до дисбалансу.

1.10. Вивчення впливу мікроелементів на анаеробний процес

В роботі [32] зазначено, що стабільне виробництво метану при високих концентраціях загального аміаку можливе без значного накопичення ЛОК в адаптованих до аміаку ферментаторах. Це відбувається шляхом інгібування ацетокластичних метаногенів і зміщенням метаболічного шляху до синтрофічного окислення ацетату з подальшим гідрогенотрофним виробництвом CH_4 , який є більш стійким до аміачного інгібування. Цей процес підкоряється закону мінімуму Лібіха та протікає нормально тільки при умові достатньої кількості мікроелементів, таких як Se, Co, Mo та W. У синтрофічному окисненні ацетату відіграє важливу роль окисно-відновний фермент, форміатдегідрогеназа, і на його ефективність напряму впливає концентрація мікроелементів [5; 29]. Рекомендовані концентрації мікроелементів наведено в Таблиці 2.1.

Таблиця 2.1.

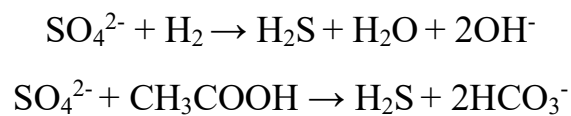
Оптимальні концентрації мікроелементів для анаеробного зброджування [29]

Елемент	Концентрація, мг/л
Co	0,003-20
Se	0,008-0,79
W	0,018-18,3
Mo	0,005-50
Ni	0,005-30
Fe	0,28-200

1.11. Вивчення впливу факторів-інгібіторів на анаеробний процес

1.11.1. Сірководень. Органічний субстрат (особливо курячий послід та свинячий гній) зазвичай багатий на сульфуровмісні сполуки –

білки. Метіонін і цистеїн є звичайними сірковмісними амінокислотами в білках [28]. Утворення сірководню відбувається одночасно з перетворенням органічного карбону на біогаз за допомогою сульфатвідновлюючих бактерій. *Desulfomicrobium*, *Desulfocurvus* і *Lentimicrobium* були ідентифіковані як бактерії, відповідальні за відновлення SO_4^{2-} до H_2S [20]. Сульфати, які утворюються можуть викликати ряд проблем, оскільки H_2S утворюється перед етапом утворенням метану. H_2S може гальмувати процес наступними реакціями:



Сульфатні сполуки також можуть перешкоджати утворенню метану, тому що мікроорганізми, що розкладають сульфат, домінують, оскільки їм потрібно менше енергії для розкладання сульфату необхідна вільна енергія -154 кДж/моль⁻¹ та -43 кДж/моль⁻¹, тоді як для реакції утворення метану з вуглекислого газу та водню або оцтової кислоти потрібно $-135,4$ кДж/моль⁻¹ та $-30,9$ кДж/моль⁻¹ [12].

1.11.2. Амміак/аммоній. Аміак є буферним агентом, який стабілізує рН в системі. NH_3 і NH_4^+ є двома існуючими формами аміачного азоту. Ступінь дисоціації NH_3 до NH_4^+ у субстраті залежить від рН. При постійній концентрації та зміні рН змінюється співвідношення амонію до аміаку. Воно становить 99 : 1 при рН=7 та 70 : 30 при рН=9. Попередні дослідження показали, що NH_3 є набагато більш токсичним для мікроорганізмів, ніж NH_4^+ , особливо для метаногенних архей. Під час амонійного інгібування метаногени втрачають іони кальцію, що призводить до інгібування їх активності. Концентрація NH_3 зростає разом із підвищенням температури, загального аміаку (TAN) або рН. Таким чином, аміачне інгібування може відбутися, коли ці три показники зростають [12; 14].

Враховуючи описані проблеми, анаеробне зброджування є складним та комплексним процесом, прогнозування якого є доволі складною задачею, яку в промислових умовах не завжди реалізують як частину технологічного процесу.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

2.1. Проведення батч-тестів сировини

Для створення прогностичної моделі потрібно отримати дані по виходу біогазу з окремих компонентів субстрату, які використовуються на біогазових установках.

Батч-тести сировини проводили на базі лабораторії ПрАТ «МХП» за допомогою 2х лабораторних ферментаторів MethanTube. Один з лабораторних ферментаторів заповнювали 1 л дигестату, який було відібрано на виході з промислового біогазового ферментатора. Інший лабораторний ферментатор окрім 1 л дигестату містив у собі наважку цільового субстрату. Вага наважки розраховувалась згідно рекомендацій програмного забезпечення (ПЗ) MethanTube. Тиск від виробленого біогазу автоматично перераховувався програмним забезпеченням MethanTube на вихід біогазу, в Нм³/т речовини. Ферментація відбувалася при температурі 37-37,5°C протягом 15-30 днів.

Для дослідження було обрано 3 типи сировини: курячий послід, гній ВРХ, буряковий жом (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Експериментальні види сировини

Назва субстрату	СР, %	СОР, %
Курячий послід	55,63	83,67
Гній ВРХ	15,00	84,22
Буряковий жом	8,68	94,89

Для визначення сухої речовини та сухої органічної речовини використовували наступне обладнання: ваги лабораторні з точністю вимірювання $\pm 0,005$ г; сушильна шафа з регуляцією температури в

діапазоні 50-110°C; муфельна піч з регуляцією температури в діапазоні 100-1100°C; ексикатор заповнений зневодненим кальцієм хлористим; тиглі порцелянові.

Для визначення сухої речовини (СР) застосовували методику ДСТУ ISO 11465-2001 «Якість ґрунту. Визначення сухої речовини та вологості за масою. Гравіметричний метод». Згідно цієї методики тиглі прокалювали у сушильній шафі при 105°C протягом 1 год, після чого прокалені тиглі (а потім і тиглі з наважкою після сушки) зберігали у ексикаторі задля запобігання набирання вологи з навколишнього середовища. Для визначення СР спочатку зважували прокалений пустий тигль, далі відібрану наважку матеріалу близько 5 г разом з тиглем зважували на лабораторних вагах. Три тигля з наважками висушували у сушильній шафі при 105°C протягом 6 годин, після чого діставали і зважували тигль разом з висушеним матеріалом. Далі доводили до сталої маси шляхом досушування при 105°C по 30 хв. Відсоток СР розраховували за формулою:

$$Y = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \times 100\%$$

де m_1 – маса тигля без проби, г;

m_2 – маса тигля з пробою до висушування, г;

m_3 – маса тигля з пробою після висушування, г;

Для визначення сухої органічної речовини (СОР) застосовували методику ДСТУ 8454:2015 «Добрива органічні. Методи визначення органічної речовини». Згідно цієї методики спочатку зважували пустий прокалений тигль, далі зважували тигль з висушеною наважкою з попередньої методики. Три тигля з наважками спалювали у муфельній печі при 550°C протягом 2 годин, після чого діставали і зважували тигль разом

зі спаленим матеріалом. Далі доводили до сталої маси шляхом випалювання при 550°C протягом 1 години. Відсоток СОР розраховували за формулою:

$$Y = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100\%$$

де m_1 – маса тигля без проби, г;

m_2 – маса тигля з пробю після висушування, г;

m_3 – маса тигля з пробю після випалювання, г;

Отримані дані вносилися до ПЗ MethanTube для подальшого перерахунку на вихід біогазу.

2.2. Існуючі прогностичні моделі анаеробного зброджування

Література налічує декілька моделей для прогнозування виробництва біогазу, зокрема такі як модифікована модель Гомпертца, модель Річарда та логістична модель. Логістична модель передбачає, що швидкість утворення газу пропорційна активності мікроорганізмів, яка представлена кількістю вже виробленого газу, та до концентрації субстрату. Модель Гомпертца припускає, що швидкість утворення газу пропорційна активності бактерій, але параметр пропорційності зменшується з часом відповідно до кінетики першого порядку, що можна пояснити втратою ефективності швидкості бродіння з часом. Модель Річарда, яка є узагальненням логістичної моделі, вводить четвертий параметр (d), який надає гнучкості формі кривої. Для значень $d = -1, 0$ та 1 модель Річарда зводиться до експоненціальної, Гомпертца та логістичної моделей відповідно [3; 16].

**Модифіковані моделі, які використовують для прогнозування
виробництва біогазу**

Модель Гомпертца	$y = A \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu_m e}{A} (\lambda - t) + 1 \right] \right\}$
Логістична модель	$y = \frac{A}{\left\{ 1 + \exp \left[\frac{4\mu_m}{A} (\lambda - t) + 2 \right] \right\}}$
Модель Річарда	$y = \frac{A}{\left\{ 1 + d \exp(1 + d) \exp \left[\frac{\mu_m}{A} (1 + d)^{1 + \frac{1}{d}} (\lambda - t) \right] \right\}^{1/d}}$

де y – кумулятивне виробництво метану (мл),

A – потенціал виробництва метану (мл),

μ_m – максимальна питома швидкість виробництва метану (мл год⁻¹),

e – $\exp(1) = 2,7182$,

λ – час лаг-фази (год),

t – час ферментації (год),

d – коефіцієнт форми кривої.

Побудова графіків та математичні обчислення було виконано за допомогою програми MathCad 2015 та Excel 2016.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Результати батч-тесту та кореляція обраних моделей

За результатами проведених батч-тестів бурякового жому, гною ВРХ та курячого посліду було побудовано кумулятивні графіки виходу біогазу та графіки моделей, які імітують вихід біогазу – модифікованої моделі Гомпертца, логістичної моделі та моделі Річарда (Рис. 4.1, 4.1, 4.2). Параметри, обрані для цих моделей наведено в Таблицях 4.1, 4.2, 4.3. Враховуючи те, що дигестат для зброджування було відібрано з працюючого вторинного ферментатора і анаеробна культура не втрачала своєї активності, тривалість лаг-фази мінімальна і становить 0-1,5 години.

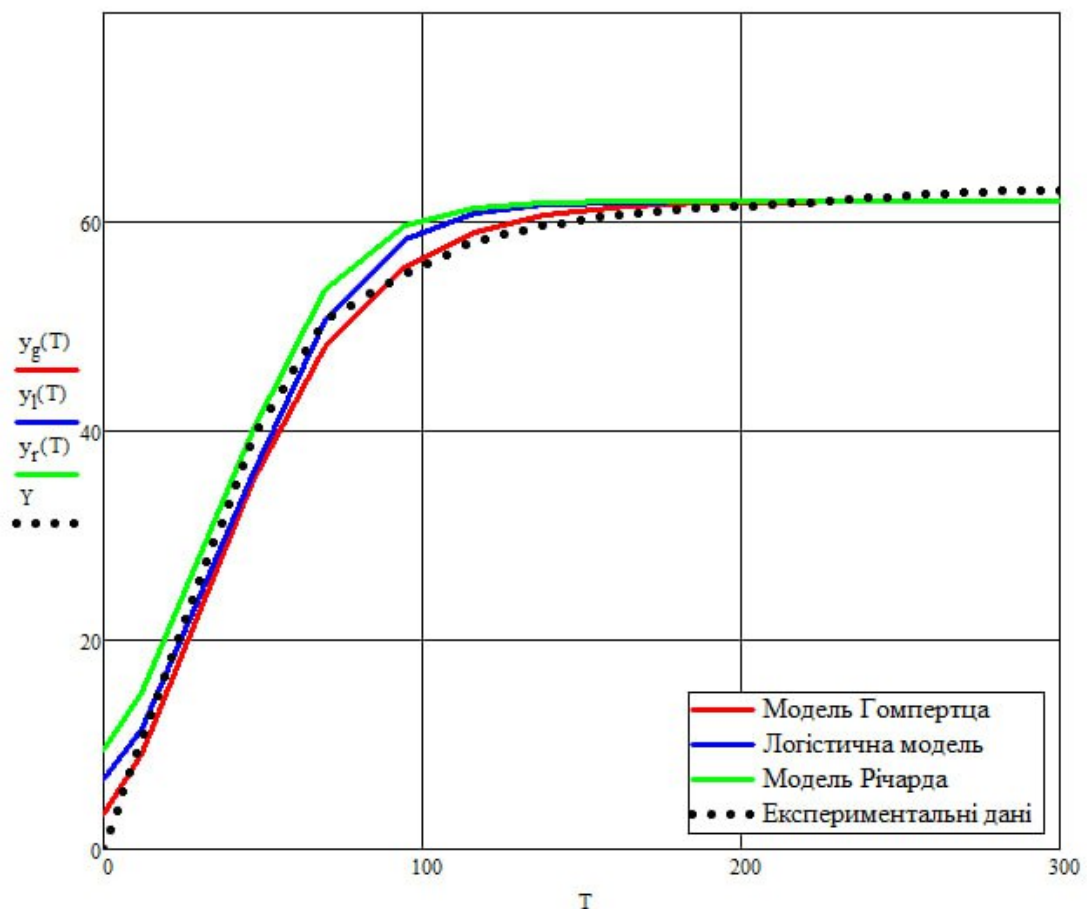


Рис. 4.1. Графік розрахованого та експериментально отриманого виходу біогазу з бурякового жому (вісь абсцис – час зброджування, у добах; вісь ординат – вихід біогазу, м³/т)

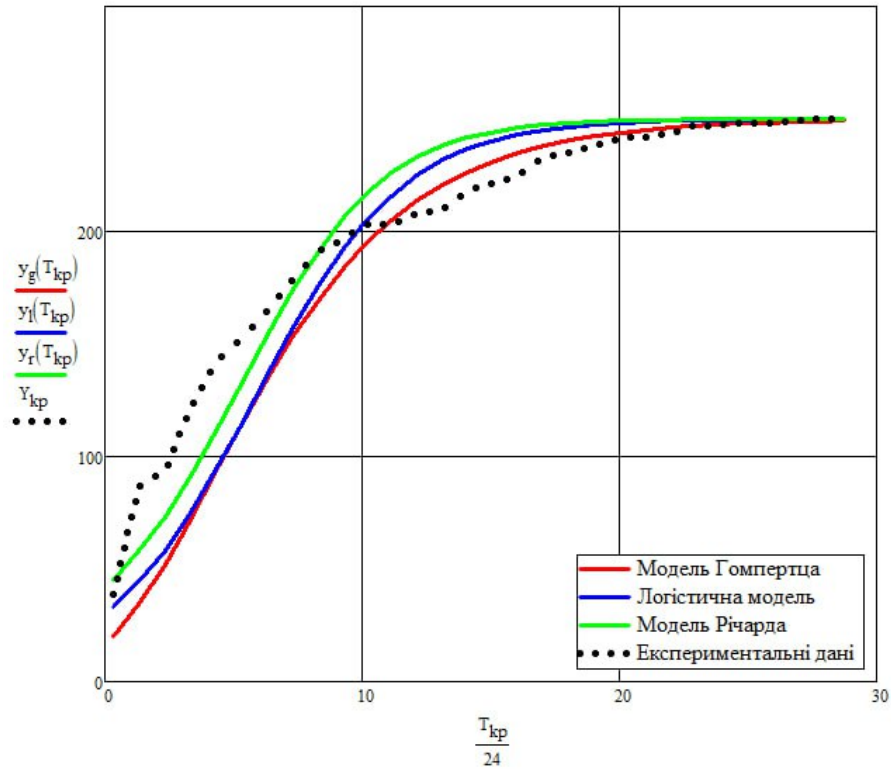


Рис. 4.2. Графік розрахованого та експериментально отриманого виходу біогазу з курячого посліду (вісь абсцис – час зброджування, у добах; вісь ординат – вихід біогазу, m^3/t)

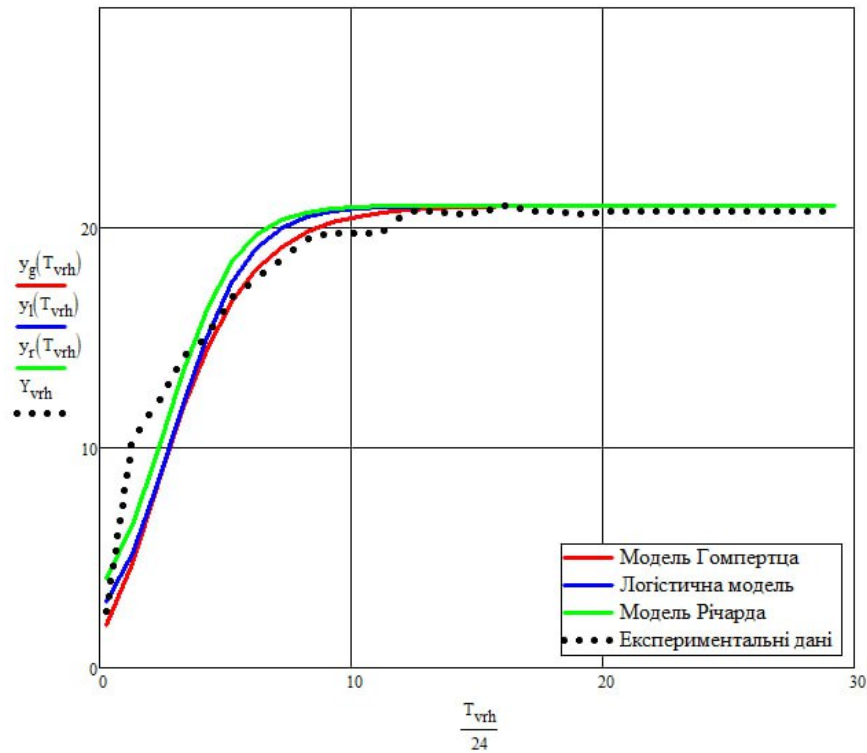


Рис. 4.3. Графік розрахованого та експериментально отриманого виходу біогазу з гною ВРХ (вісь абсцис – час зброджування, у добах; вісь ординат – вихід біогазу, m^3/t)

Таблиця 4.1

Параметри для модифікованої моделі Гомпертца

Сировина	Експ. вихід біогазу, м ³ /т	Потенціал виходу біогазу, А, м ³ /т	Коефіцієнт кореляції, R ²	σ	Лаг-фаза, λ, год	Максимальна питома швидкість, μ _т , м ³ /т/год
Бур. жом	62,63	63	0,998	1,369	1,5	0,9
Кур. послід	255,6	250	0,987	9,274	0	0,9
Гній ВРХ	20,5	21	0,979	0,863	0	0,15

Таблиця 4.2

Параметри для логістичної моделі

Сировина	Експ. вихід біогазу, м ³ /т	Потенціал виходу біогазу, А, м ³ /т	Коефіцієнт кореляції, R ²	σ	Лаг-фаза, λ, год	Максимальна питома швидкість, μ _т , м ³ /т/год
Бур. жом	62,63	63	0,995	2,029	1,5	0,9
Кур. послід	255,6	250	0,978	11,816	0	0,9
Гній ВРХ	20,5	21	0,97	1,017	0	0,15

Таблиця 4.3

Параметри для моделі Річарда

Сировина	Експ. вихід біогазу, м ³ /т	Потенціал виходу біогазу, А, м ³ /т	Коефіцієнт кореляції, R ²	σ	Лаг-фаза, λ, год	Максимальна питома швидкість, μ _т , м ³ /т/год
Бур. жом	62,63	63	0,995	2,002	1,5	1,4
Кур. послід	255,6	250	0,978	11,748	0	0,9
Гній ВРХ	20,5	21	0,97	1,022	0	0,15

Враховуючи отримані результати кореляції та середньоквадратичного відхилення, можна стверджувати, що модифікована модель Гомпертца найкраще імітує процес анаеробного зброджування та виробництва біогазу в системі, а отже її можна використовувати для прогнозування процесу.

3.2. Прогнозування неперервного виробництва

Сучасні біогазові комплекси працюють за принципом CSTR – тобто базуються на реакторах неперервного або напівнеперервного перемішування з регулярною подачею субстрату та відкачуванням такої ж кількості відпрацьованого дигестату.

Відповідно до цього, процес виробництва біогазу відбувається неперервно, що й ускладнює прогнозування сукупного виробітку біогазу звичайними моделями, які орієнтовані на батч-реактори періодичної дії.

Для визначення дельти приросту виробництва біогазу (м³/т/добу) з конкретного субстрату використано наступну формулу на основі модифікованої моделі Гомпертца:

$$\Delta_k = A \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu_m e}{A} (\lambda - t_n) + 1 \right] \right\} - A \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu_m e}{A} (\lambda - t_{n-1}) + 1 \right] \right\}$$

де Δ_k – дельта кумулятивного приросту в цю добу (м³/т/добу),

A – потенціал виробництва метану (м³/т),

μ_m – максимальна питома швидкість виробництва метану (м³/т/добу),

e – $\exp(1) = 2,7182$,

λ – час лаг-фази (діб),

t_n – час ферментації (діб).

Після розрахунку дельти приросту біогазу кожного дня протягом гідравлічного часу утримання речовин (у даному випадку обрано HRT = 30 діб) отримано ряд приросту:

$$\Delta_1, \Delta_2, \dots, \Delta_{30}$$

Для того щоб отримати реальний сукупний виробіток біогазу в конкретний день (S), потрібно урахувати вихід газу за n діб до цього із потенційно різної кількості завантаженої кожного дня сировини. При цьому рахунок діб (d) ведеться у зворотному порядку від цільової дати:

$$S = \sum_{i=1}^{30} \Delta_k * Q_d$$

де Δ_k – кумулятивне виробництво метану, м³/т/добу,

Q_d – кількість сировини завантаженої у певний день d , рахуючи від цільового дня, т.

Вирахуваний показник S демонструє сукупне виробництво біогазу з конкретного субстрату у обраний день, враховуючи усі завантаження цієї сировини за обраний період, який дорівнює гідравлічному часу утримання.

Для повноти прогнозу потрібно обчислити S для усіх типів субстратів, які додаються у ферментатор, а також для суто дегістату. Для обраних у роботі матеріалів формула виглядає наступним чином:

$$S_{\text{сукупне}} = S_{\text{бур.жом}} + S_{\text{гній ВРХ}} + S_{\text{кур.послед}} + S_{\text{дігестат}}$$

3.3. Візуалізація моделі

Задля спрощення представлення даних було створено графік щодобового виходу біогазу за певних теоретичних параметрів у процесі напівнеперервного завантаження сировини до ферментатора (Рис. 4.4, 4.5). Було розраховано ряди Δ_k для чотирьох видів сировини, а також розраховано $S_{\text{сукупне}}$, на основі якого побудовано графік.

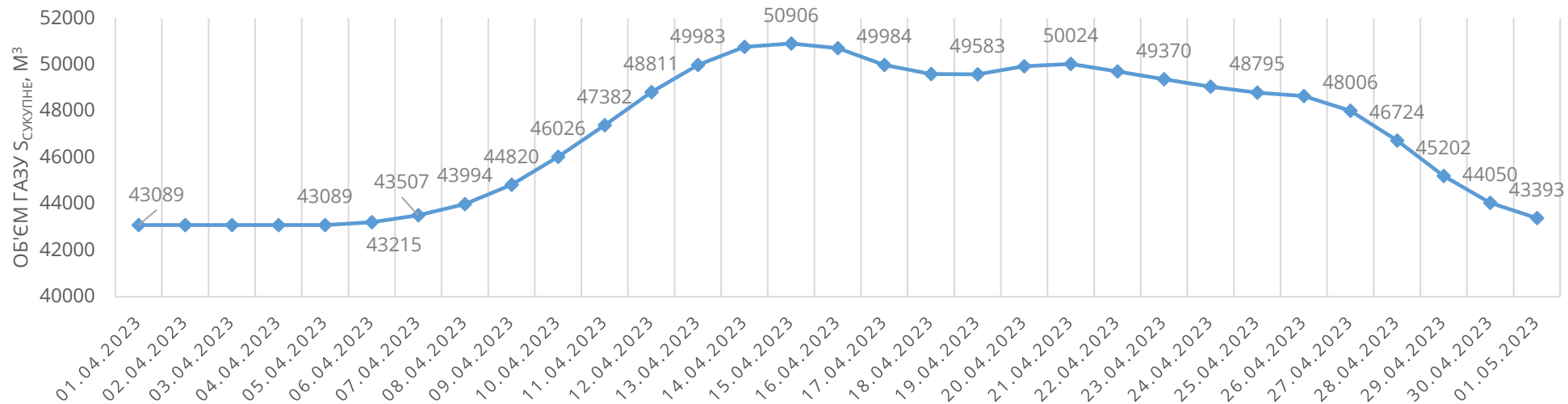


Рис. 4.4. Візуалізація щодобового виходу біогазу за заданих параметрів

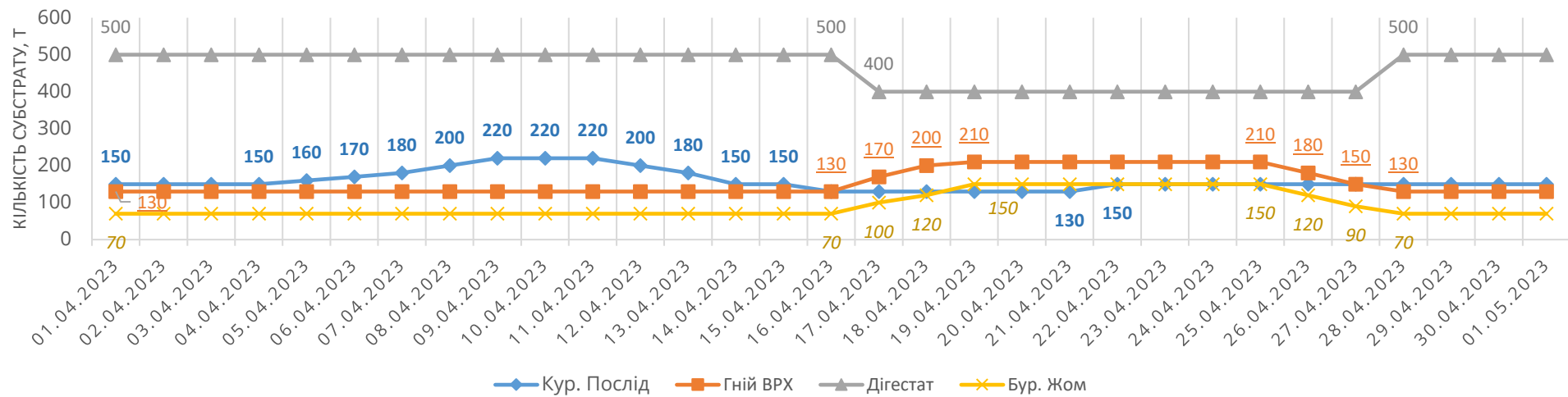


Рис. 4.5. Динаміка зміни кількості сировини для завантаження

Для теоретичного завдання було обрано проміжок з 01.04.23 по 01.05.23. Також було прийнято, що 30 днів до 01.04.23 зберігалась стала модель завантаження сировини: 500 т рециркулюючого дігестату, 150 т курячого посліду, 130 т гною ВРХ, 70 т бурякового жому.

Першою рецептурною зміною стало поступове підвищення кількості курячого посліду з 150 до 220 т та поступове її зниження знову до 150 т у період з 04.04 до 14.04.23. Графік виходу біогазу відреагував збільшенням щодобового об'єму виробленого біогазу до 50906 м³ на піку.

Друга рецептурна зміна є комплексною і демонструє гнучкість моделі до складних варіантів. У період з 16.04 до 28.04.23 було збільшено кількість бурякового жому з 70 до 150 т; зменшено кількість рециркуляту до 400 т; збільшено кількість гною ВРХ з 130 до 210 т та знижено кількість курячого посліду до 130 т. Графік виходу біогазу, враховуючи відносне зменшення органічного навантаження та враховуючи потенціал зброджування надлишкового курячого посліду із першої рецептурної зміни, відреагував утворенням локального піку на відмітці у 50024 м³.

Після відновлення стартового рецептурного режиму можна спостерігати поступовий спад щодобового об'єму виробленого біогазу до початкових значень.

ВИСНОВКИ

Було проаналізовано найбільш впливові існуючі фактори, що інгібують чи покращують метаноутворення, зокрема співвідношення C:N та ко-зброджування, що й обумовило вибір субстратів для батч-тестів.

Проведено батч-тести сировини, а саме бурякового жому, гною ВРХ та курячого посліду; за результатами батч-тестів побудовано графіки кумулятивного накопичення біогазу та накладено три існуючі обрані моделі: модифіковану модель Гомпертца, логістичну та модель Річарда. Показано, що модель Гомпертца найкраще імітує процес анаеробного зброджування та виробництва біогазу в системі.

Сформульовано теоретичне обґрунтування прогностичної моделі виходу біогазу для біогазових установок неперервного або напівнеперервного типу подачі субстрату на основі моделі Гомпертца.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Шинкарчук М. В. Біотехнологія отримання біогазу з жировмісної сировини : дис. ... д-ра філософії в галузі біології : 162. Київ, 2020. 238 с.
2. Altaş L. Inhibitory effect of heavy metals on methane-producing anaerobic granular sludge. *Journal of Hazardous Materials*. 2009. Vol. 162, no. 2-3. P. 1551–1556. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.06.048>.
3. Adekunle K. F., Okolie J. A. A Review of Biochemical Process of Anaerobic Digestion. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 2015. Vol. 06, no. 03. P. 205–212. URL: <https://doi.org/10.4236/abb.2015.63020>.
4. Anaerobic digestion / M. Laiq Ur Rehman et al. *Water Environment Research*. 2019. Vol. 91, no. 10. P. 1253–1271. URL: <https://doi.org/10.1002/wer.1219>.
5. Anaerobic digestion of chicken manure: Influence of trace element supplementation / R. Molaey et al. *Engineering in Life Sciences*. 2018. URL: <https://doi.org/10.1002/elsc.201700201>.
6. Anaerobic Digestion Stages. *Wastewater Microbiology Series*. Hoboken, NJ, USA. P. 51–57. URL: <https://doi.org/10.1002/0471468967.ch7>.
7. A. Schnürer, Ä. Jarvis. *Microbiological Handbook for Biogas Plant*. Malmö : Swedish Waste Management, Swedish Gas Centre, 2010. 142 p.
8. Aslanzadeh S. Pretreatment of cellulosic waste and high rate biogas production : doctoral thesis. 2014. URL: <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:hb:diva-3684>.
9. Braun R. Anaerobic digestion: a multi-faceted process for energy, environmental management and rural development. *Improvement of Crop Plants for Industrial End Uses*. Dordrecht. P. 335–416. URL: https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5486-0_13.
10. Deepanraj B., Sivasubramanian V., Jayaraj S. Experimental and kinetic study on anaerobic digestion of food waste: The effect of total solids and

pH. *Journal of Renewable and Sustainable Energy*. 2015. Vol. 7, no. 6. P. 063104. URL: <https://doi.org/10.1063/1.4935559>.

11. Demirel B., Scherer P. The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*. 2008. Vol. 7, no. 2. P. 173–190. URL: <https://doi.org/10.1007/s11157-008-9131-1>.

12. Deublein D., Steinhauser A. *Biogas from Waste and Renewable Resources*. Weinheim, Germany : Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2010. URL: <https://doi.org/10.1002/9783527632794>.

13. Effect of Carbon to Nitrogen Ratio of Food Waste on Biogas Methane Production in a Batch Mesophilic Anaerobic Digester / I. M. Tanimu et al. *International Journal of Innovation and Technology Management*. 2014. Vol. 5, no. 2. P. 116–119. URL: <https://doi.org/10.7763/IJIMT.2014.V5.497>.

14. Exploring the combined effect of total ammonia nitrogen, pH and temperature on anaerobic digestion of chicken manure using response surface methodology and two kinetic models / Y. Cai et al. *Bioresource Technology*. 2021. Vol. 337. P. 125328. URL: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125328>.

15. Influence of pH and the C/N ratio on the biogas production of wastewater / A. Ceron-Vivas et al. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*. 2019. No. 92. P. 70–79. URL: <https://doi.org/10.17533/udea.redin.20190627>.

16. Khanal S. K., Tirta Nindhia T. G., Nitayavardhana S. Biogas From Wastes. *Sustainable Resource Recovery and Zero Waste Approaches*. 2019. P. 165–174. URL: <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-64200-4.00011-6>.

17. Krzysztof Ziemiński. Methane fermentation process as anaerobic digestion of biomass: Transformations, stages and microorganisms. *African journal of biotechnology*. 2012. Vol. 11, no. 18. URL: <https://doi.org/10.5897/ajbx11.054>.

18. Merlin Christy P., Gopinath L. R., Divya D. A review on anaerobic decomposition and enhancement of biogas production through enzymes and microorganisms. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2014. Vol. 34. P. 167–173. URL: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.03.010>
19. Metagenomic insights into aniline effects on microbial community and biological sulfate reduction pathways during anaerobic treatment of high-sulfate wastewater / J. Li et al. *Science of The Total Environment*. 2020. Vol. 742. P. 140537. URL: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140537>.
20. Methanogenic community during the anaerobic digestion of different substrates and organic loading rates / D. Kong et al. *MicrobiologyOpen*. 2018. Vol. 8, no. 5. P. e00709. URL: <https://doi.org/10.1002/mbo3.709>.
21. Nges I. A., Liu J. Effects of solid retention time on anaerobic digestion of dewatered-sewage sludge in mesophilic and thermophilic conditions. *Renewable Energy*. 2010. Vol. 35, no. 10. P. 2200–2206. URL: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2010.02.022>.
22. Novel molecular markers for the detection of methanogens and phylogenetic analyses of methanogenic communities / L. Dziewit et al. *Frontiers in Microbiology*. 2015. Vol. 6. URL: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00694>.
23. Operational Parameters of Biogas Plants: A Review and Evaluation Study / A. Nsair et al. *Energies*. 2020. Vol. 13, no. 15. P. 3761. URL: <https://doi.org/10.3390/en13153761>.
24. Retention Times. *Wastewater Microbiology Series*. Hoboken, NJ, USA. P. 87–88. URL: <https://doi.org/10.1002/0471468967.ch13>.
25. Roy S., Das D. Biohythane production from organic wastes: present state of art. *Environmental Science and Pollution Research*. 2015. Vol. 23, no. 10. P. 9391–9410. URL: <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5469-4>.
26. Temperature. *Wastewater Microbiology Series*. Hoboken, NJ, USA. P. 89–92. URL: <https://doi.org/10.1002/0471468967.ch14>.

27. The contribution of alliaceous and cruciferous vegetables to dietary sulphur intake / J. F. Doleman et al. *Food Chemistry*. 2017. Vol. 234. P. 38–45. URL: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.098>.
28. Trace element requirements for stable food waste digestion at elevated ammonia concentrations / C. J. Banks et al. *Bioresource Technology*. 2012. Vol. 104. P. 127–135. URL: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.10.068>.
29. Wang B. Factors that Influence the Biochemical Methane Potential (BMP) Test Steps towards the Standardisation of BMP Test : extended abstract of Doctoral Thesis (compilation). Lund University, 2016. 56 p.
30. Weiland P. Biogas production: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2009. Vol. 85, no. 4. P. 849–860. URL: <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2246-7>.
31. Westerholm M., Moestedt J., Schnürer A. Biogas production through syntrophic acetate oxidation and deliberate operating strategies for improved digester performance. *Applied Energy*. 2016. Vol. 179. P. 124–135. URL: <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.06.061>.