

RĪGAS TEHNISKĀ UNIVERSITĀTE

Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultāte

Vispārējās ķīmijas tehnoloģijas katedra

Kristīne RUGELE

Doktora studiju programmas „Ķīmijas tehnoloģija” doktorante

PIENRŪPNIECĪBAS ATLIKUMU ANAEROBĀ PĀRSTRĀDE UN RAŽOŠANAS ATKRITUMU KOMPOZĪTMATERIĀLU IZMANTOŠANA PROCESA UZLABOŠANAI

Promocijas darbs

Zinātniskais vadītājs

Assoc. Prof., Dr.sc.ing.

JURIS VANAGS

Konsultants

Prof., Dr.sc.ing.

TĀLIS JUHNA

Rīga – 2015

Promocijas darbs izstrādāts: Rīgas Tehniskās universitātes, Vispārīgās ķīmijas tehnoloģijas
institūtā un Ūdens Inženierijas un tehnoloģijas katedrā

Darba zinātniskais vadītājs:

Asoc. prof., Dr. Sc. ing. Juris Vanags

Darba konsultants:

Prof., Dr. Sc. ing. Tālis Juhna

2015.gadā iesniegts aizstāvēšanai Rīgas Tehniskās universitātes
Ķīmijas inženierzinātnes apakšnozares Promocijas padomē P-02



EIROPAS SAVIENĪBA

IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ

Šis darbs izstrādāts ar Eiropas Sociālā fonda atbalstu projektā «Cilvēkresursu piesaiste integrētas atjaunojamo energoresursu enerģijas ražošanas sistēmas izstrāde». Projekta Nr. Nr.2013/0014/1DP/1.1.1.2.0/13/APIA/VIAA/026.

This work has been supported by the European Social Fund within the project «Involvement of Human Resources for Development of Integrated Renewable Energy Resources Energy Production System». Project No.2013/0014/1DP/1.1.1.2.0/13/APIA/VIAA/026.

PATEICĪBAS

Izsaku sirsnīgu pateicību promocijas darba vadītājam – Dr.sc.ing. Jurim Vanagam un konsultantiem – Dr.sc.ing. Tālis Juhna un Ph.D. Peep Pitk.

Vēlos pateikties Dr.sc.ing. Līgai Bērziņai-Cimdiņai par sniegto atbalstu un padomiem un ievirzīšanu biotehnoloģiju jomā.

Paldies „materiālu komandai” – Dr.sc.ing Diānai Bajārei un Ģirtam Būmanim par ilgstošo sadarbību un nodrošināšanu ar materiāliem.

Paldies Ūdens pētījumu laboratorijas kolēģiem par atbalstu un palīdzību, īpaši, Lindai Mežulei par nenovērtējamo palīdzību mikrobioloģijā un FISH analīzēs, Kristīnai Tihomirovai par palīdzību ķīmijas jautājumos, Viktorijai Deņisovai, Alīnai Neščereckai, Brigitai Daļeckai, Jānim Rubulim un Jānim Neilandam.

Paldies Vispārējās Ķīmijas tehnoloģijas institūtam par atbalstu, īpaši Jānim un Dagnijai Ločiem, Dainai Vemperei, Lāsmai Mālniecei, Jānim Gintautam, Ingai Dušenkovai, Kristīnei Šalmai-Ancānei un Agnesei Pūrai.

Milzīgs paldies Vides Aizsardzības un Siltuma Sistēmu institūta vadībai par iespēju pilnvērtīgi pabeigt šo darbu projekta ietvaros un sadarbību.

Paldies studentu komandai – Laurai, Madarai, Pāvelam un Oskaram, par asistēšanu laboratorijas eksperimentos.

Paldies uzņēmumiem SIA Smiltenes piens, SIA Vecsiljāņi, SIA Rīgas Ūdens par izpalīdzēšanu ar izejvielām.

Izsaku pateicību Ērikam Skripstam par vienmēr esošo padomu.

Un vislielākais paldies manai ģimenei par atbalstu un pacietību!

SATURS

SATURS	5
ANOTĀCIJA	9
ANNOTATION	10
DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI	11
TERMINU SKAIDROJUMI	12
IEVADS	13
1. LITERATŪRAS APSKATS	16
1.1 Anaerobās pārstrādes procesi.....	16
1.1.1 Procesa mikrobioloģija	16
1.1.2 Hidrolītiskās baktērijas	17
1.1.3 Fermentatīvās acidogēnās baktērijas	18
1.1.4 Acetogēnās baktērijas	18
1.1.5 Metanogēni	19
1.2 Anaerobo fermentāciju ietekmējošie faktori.....	21
1.2.1 Temperatūra.....	21
1.2.2 Uzturēšanās laiks	23
1.2.3 Organiskā slodze	23
1.2.4 pH	24
1.2.5 Reducēšanās - oksidēšanās potenciāls	27
1.2.6 Elementi un ķīmiskais sastāvs	27
1.3 Dažādi savienojumi un to inhibējošās īpašības.....	29
1.3.1 Gaistošās skābes	29
1.3.2 Sulfīdi	29
1.3.3 Amonjaks.....	29
1.4 Anaerobo reaktoru tipi	31
1.4.1 Suspendētas biomasas reaktori	31
1.4.2 Bioplēves reaktori.....	32
1.5 Sūkalu raksturojošie parametri un to izmantošana biogāzes ieguvē.....	32
1.5.1 Sūkalu anaerobā pārstrāde	34
1.5.2 Galveno sūkalu savienojumu anaerobā pārstrāde.....	35
1.6 Problēmas un iespējamie risinājumi sūkalu anaerobajā pārstrādē.....	36
1.7 Specifiski sūkalu anaerobajā fermentācijā izmantojamie reaktori un to sistēmas.....	37

1.8	Situācija Latvijā	41
1.9	Izmantojamās metodes anaerobā procesa raksturošanai	41
1.9.1	Bioķīmiskais metāna potenciāla tests	41
1.9.2	Specifiskais metanogēnu aktivitātes tests	42
1.10	Teorētiskie aspekti biogāzes potenciāla aprēķināšanā	42
1.10.1	Teorētiskais biogāzes potenciāls	42
1.10.2	Praktiskais metāna potenciāls	43
1.11	Analīžu izvēle anaerobo procesu raksturošanai	43
1.11.1	ĶSP izmantošana	43
1.11.2	Sausnas analīze	44
1.11.3	Gaistošo taukskābju analīze	45
1.11.4	FOS/TAC analīze	45
1.11.5	pH kontrole	46
1.12	Gāzes tilpuma mērīšanas metodes	47
1.12.1	Volumetriskā metode	47
1.12.2	CO ₂ ietekme uz mērījuma rezultātiem	48
1.12.3	Manometriskās metodes	50
1.13	Ieteikumi laboratorijas eksperimentiem	50
1.13.1	Ierauga izvēle un sagatavošana	50
1.13.2	Minerālvielu un sāļu vide	52
LITERATŪRAS APSKATA KOPSAVILKUMS		54
2.	EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA	56
2.1	Izmantotās iekārtas	56
2.1.1	Lauku emisijas skenējošā elektronu mikroskopija (SEM)	56
2.1.2	FOS/TAC	56
2.1.3	Slāpekļa sorbtometrija	56
2.1.4	Rentgendifraktometrija	57
2.1.5	DAPI metode	57
2.1.6	FISH metode	57
2.1.7	FTIR metodes	57
2.1.8	ĶSP analīze	57
2.1.9	Sausnas analīze	58
2.2	Trauku eksperiments	59

2.2.1	Testa sagatavošana	59
2.2.2	Mērījumu veikšana	60
2.3	Sārmainā materiāla raksturošana	60
2.3.1	Materiāla raksturojums eksperimentam ar suspendēto ieraugu un titrēšanai	60
2.3.2	Eksperiments ar dažādām materiāla modifikācijām	60
2.3.3	Eksperiments ar diviem materiāla sastāviem.....	61
2.4	Nepārtraukta tipa eksperiments	61
2.4.1	Nepārtraukta tipa eksperiments ar automātisko pH regulēšanu	61
2.4.2	Nepārtraukta tipa eksperiments ar modificētu sistēmu pH regulēšanai ar sārmaino materiālu	61
2.4.3	Sārmainā materiāla sārma izdalīšanas spēju novērtējums	62
3.	REZULTĀTU DAĻA.....	64
3.1	Skābo sūkalu nepārtrauktās fermentācijas novērtējums ar automātisko pH kontroli	64
3.2	FTIR metodes izmantošana anaerobajā pārstrādē.....	67
3.3	Organiskās slodzes novērtēšana attiecībā pret metanogēnu īpatsvaru.....	71
3.3.1	Ierauga un substrāta analīzes	72
3.3.2	Eksperimenta analīze	73
3.3.3	FISH analīzes.....	74
3.4	Bioaugmentācijas pielietojums skābo sūkalu procesa uzlabošanai	75
3.4.1	Eksperimenta norise	76
3.4.2	Eksperimenta rezultātu analīze.....	76
3.5	Sārmainā kompozītmateriāla raksturošana	79
3.5.1	Titrēšanas eksperiments.....	80
3.5.2	XRD dati.....	81
3.6	Eksperimenti ar suspendēto ieraugu	82
3.6.1	Ierauga un substrāta analīze.....	82
3.6.2	Eksperimenta rezultātu analīze.....	82
3.7	Eksperimenti ar granulēto ieraugu	88
3.7.1	Ierauga analīzes	89
3.7.2	Anaerobo granulu SEM analīze.....	89
3.7.3	Anaerobās pārstrādes vizuāla efektivitātes novērtēšana.....	90
3.7.4	Eksperiments ar dažādām SM modifikācijām.....	91
3.7.5	Optimālās SM koncentrācijas novērtēšana.....	93

3.7.6	Mikroorganismu imobilizācija uz virsmas	95
3.7.7	SM virsmas izpēte ar SEM un EDS pēc fermentācijas	96
3.7.8	Eksperiments ar dažādiem materiāla sastāviem	99
3.8	Nepārtraukta tipa reaktora ar sārmainā materiāla izmantošanu tehnoloģijas izstrāde	102
3.8.1	Izskalošanas tests ar ūdeni	102
3.8.2	Nepārtrauktas darbības eksperiments	104
DISKUSIJAS DAĻA		107
SECINĀJUMI.....		110
CONCLUSIONS.....		111
DARBA APROBĀCIJA.....		112
IZMANTOTĀ LITERATŪRA		115

ANOTĀCIJA

ANAEROBĀ FERMENTĀCIJA, BIOGĀZE, SKĀBĀS SŪKALAS, pH REGULĒŠANA, SĀRMAINI KOMPOZĪTMATERIĀLI

Promocijas darbs veltīts piena pārstrādes atlikumu – biezpiena sūkalu, anaerobās fermentācijas izpētei un jaunas tehnoloģijas izstrādei, izmantojot sārma izdalošu kompozītmateriālu.

Literatūras apskatā raksturots biogāzes iegūšanas process, aprakstot procesa mikrobioloģiju un tehnoloģisko parametru ietekmi. Raksturota piensaimniecības nozare, sniegts skābo sūkalu raksturojums un to ieguves īpatsvars, kā arī potenciāls pielietojums biogāzes ražošanā un esošās problēmas. Apskatītas anaerobo fermentāciju procesu raksturošanā izmantojamās metodes un to izvēles principi.

Eksperimentālajā daļā veikti nepārtrauktās skābo sūkalu anaerobās fermentācijas eksperimenti, izmantojot automātisko pH regulēšanas sistēmu un noskaidrojot sistēmas efektivitāti. Izanalizēti dažādi ieraugi kā pēc aktivitātes, tā veicot to mikrobioloģisko analīzi. Pētīta bioaugmentācijas ietekme, izmantojot *Methanosarcina barkeri* kultūru, un secināts, ka pareiza mikrobioloģiskā sastāva izvēle ir būtisks parametrs efektīvai procesa norisei.

Noskaidrota dažādu sārmaino materiālu modifikāciju un koncentrāciju ietekme uz metāna ražību un bioķīmisko metāna potenciālu. Veikts nepārtrauktas fermentācijas eksperiments, izmantojot adaptētu sistēmu ar sārma izdalošu materiālu pH regulēšanai.

Eksperimentālie rezultāti pierāda, ka izmantojot inovatīvu sistēmu ar sārma izdalošu materiālu pH regulēšanai, ir iespējams sasniegt augstu biogāzes ražošanas procesa efektivitāti un aizsākt jaunu virzienu anaerobajā fermentācijā.

Promocijas darbs uzrakstīts latviešu valodā, tā apjoms 120 lpp. Darbs satur 60 attēlus, 26 tabulas un tajā izmantoti 110 literatūras avoti.

ANNOTATION

ANAEROBIC DIGESTION, BIOGAS, ACID WHEY, pH REGULATION, ALKALINE COMPOSTITE MATERIALS

In this work, anaerobic digestion of dairy waste (whey) was researched, optimal process parameters and methods were selected for the development of biogas production technology using alkali-releasing composite materials.

Biogas production process and its dependence on microbiological and technological parameters were described in literature review. Characterization of milk processing industry, acid whey, production amounts, possible applications for whey in biogas production, and problems related to anaerobic digestion were described. Literature review also includes characterization and selection principles of available anaerobic digestion technologies for treatment of whey.

Development of optimal continuous anaerobic process for treatment of acid whey, equipped with an automatic pH regulation system, was described in the experimental section. Various microbiological inocula were analyzed. Using culture *Methanosarcina barkeri*, effect of bioaugmentation was researched. It was found that by selecting optimal microbiological inoculum it is possible to obtain higher efficiency of the anaerobic treatment process.

Using various alkaline material modifications and concentrations in the anaerobic digestion process, influence on methane yield and biochemical methane potential was found. A continuous digestion experiment was performed, using an adapted system with an alkali-releasing material for pH regulation.

Experimental results prove it is possible to reach high biogas production yields, using an innovative system with alkali-releasing materials for pH regulation, and to start a new direction in development of anaerobic digestion processes.

This work is written in Latvian. It contains 120 pages, 60 images and 26 tables. 110 literature sources were used.

Darbā lietotie saīsinājumi

AF	- anaerobais filtrs
AMS0 un AMS1	– sārmainā materiāla modifikācijas bez (0) un ar (1) stiklu
AP	- anaerobā pārstrāde
ASBR	- anaerobie sekvencējošie vienreizējās ielādes tipa reaktori (anaerobic sequencing batch reactors – angļu val.)
BA	- bioaugmentācija
BET	- slāpekļa sorbtometrijas metode
BMP	- bioķīmiskais metāna potenciāls
CMA un CMN	– sārmainā materiāla modifikācijas, kas atšķirās pēc vecināšanas laika
C:N:P	- oglekļa:slāpekļa:fosfora attiecība
CMA	- novecināta sārmainā materiāla modifikācija
CMN	- svaigi pagatavota sārmainā materiāla modifikācija
CSTR	- nepārtrauktas darbības reaktors ar maisīšanu (continuous flow stirred-tank reactor – angļu val.)
DAPI	- 4'6-diamidino-2-fenilindols
EDS	- disperģētās enerģijas rentgenstaru spektroskopija
FISH	- fluorescentā <i>in situ</i> hibridizācija
FOS	- kopējās viegli gaistošās organiskās skābes
FTIR	- Infrasarkanā Furjē transmisiju spektroskopija
GS	- gaistošā sausna
GSS	- gaistošā suspendētā sausna
GTS	- viegli gaistošās taukskābes
HAc	- etiķskābe
HPr	- propānskābe
HUT	- hidrauliskās uzturēšanās laiks
KS	- kopējā sausna

ĶSP	- ķīmiskais skābekļa patēriņš
kWh	- kilovatstunda (elektroenerģijas vienība)
OS	- organiskā slodze
PAR	- pretplūsmas anaerobais reaktors
ROP	- reducēšanās – oksidēšanās potenciāls
RNS	- ribonukleīnskābe
SAO	- sintrofie oksidētāji
SEM	- skenējošais elektronu mikroskops
SM	- sārmais materiāls ar pH paaugstināšanas spējām
SMA	- specifiskā metanogēnu aktivitāte
TAC	- kopējais neorganiskais ogleklis
UASB	- granulārais pretplūsmas dūņu reaktors (granular up-flow anaerobic sludge blanket – angļu val.)
XRD	- rentgenstaru difrakcija
V	- tilpums

Terminu skaidrojumi

Metanogēnēze – metāna veidošana vai rūgšana ir process, kura laikā anaerobos apstākļos specifiski mikroorganismi jeb metanogēni veido metānu;

Inhibīcija – kavēšana, kādas funkcijas nomākšana;

Arheji - arhebaktērijas (latīņu: *Archaea, Archaeobacteria*) ir īpašs domēns (pēc Karla Vouza trīs domēnu sistēmas), pie kura pieder arī metānu veidojošie mikroorganismi;

Digestāts – materiāls ar augstu minerālvielu saturu (šķidrums kopā ar cietajām, nepārstrādātajām daļiņām), kas paliek pāri pēc organisku savienojumu anaerobās pārstrādes;

Ieraugs – dažādu mikroorganismu populācija (konsorcijs), ko izmanto anaerobās pārstrādes nodrošināšanai.

Acetoklastiskie metanogēni – metanogēni, kas acetātus pārveido metānā.

Hidrogenotrofie metanogēni - metanogēni, kas ūdeņradi pārveido metānā.

Ievads

Pēdējās desmitgadēs ir pieaugusi interese par atjaunojamiem energoresursiem, jo enerģijas patēriņš pieaug un neatjaunojamo resursu krājumi samazinās, bet to cenas palielinās. Pieaugot iedzīvotāju skaitam un industrializācijas pakāpei, pieaug atkritumu radītā negatīvā ietekme uz vidi, tāpēc pienācīga industriālo atkritumu plūsmu apstrāde pirms to novadīšanas, nodrošinot zemu vides piesārņojumu, un enerģijas iegūšana no tām, ir īpaši aktuāla. Šķidrās atkritumu plūsmas no piensaimniecībām un siera ražotnēm (pārsvarā sūkalas) ir vienas no svarīgākajām vidi piesārņojošām plūsmām, kas rodas pārtikas pārstrādes sektorā [1]. Pie tam piena pārstrādes uzņēmumi bieži neinvestē sūkalu vērtīgo sastāvdaļu atgūšanas tehnoloģiju iegādē, tāpēc bieži tās tiek izgāztas uz lauka, radot kaitējumu videi [2]. Šobrīd Latvijā tiek izmantots tikai neliels sūkalu daudzums, jo trūkst attiecīgo tehnoloģiju un finansējuma tirgum perspektīvo produktu ražošanai.

Pārstrādājot sūkalas biogāzē, ir iespējams iegūt sekojošus labumus: atrisināt sūkalu likvidēšanas problēmas, samazināt potenciālu vides piesārņojumu un iegūt siltumu un/vai enerģiju kā galveno produktu.

Biogāze ir anaerobās pārstrādes produkts, kurš pārsvarā sastāv no metāna un oglekļa dioksīda. Anaerobā pārstrāde vai rūgšana ir bioloģisks pārstrādes veids bez ārēju elektronu akceptoru klātbūtnes, kā tas notiek, piemēram, aerobos procesos, kur izmanto skābekli. Anaerobajā pārstrādē organiskais ogleklis tiek pārvērsts, izmantojot secīgas oksidējošas un reducējošas reakcijas, rezultātā iegūstot visoksidētāko un visreducētāko formu – attiecīgi CO_2 un CH_4 , kas ir galvenie procesa produkti, taču parasti biogāze satur līdz 1% citus iemaisījumus [3]. Plašs spektrs mikroorganismu nodrošina procesa norisi [4].

Biogāzi tiešā veidā, veicot nelielu priekšapstrādi (piemēram, samazinot mitruma un sērūdeņraža saturu), var pārveidot siltuma un elektroenerģijā, bet attīrot vismaz līdz 95 % metāna, to var izmantot kā transportlīdzekļu degvielu. Pie tam veiksmīgi var tikt izmantots arī šķidrās blakusprodukts – digestāts, kas, pateicoties augstajam vērtīgo vielu, piemēram, slāpekļa savienojumu un fosfātu saturam, var tikt izmantots kā mēslošanas līdzeklis.

Izmantojot anaerobajā pārstrādē kā substrātu skābus šķidrums, piemēram, sūkalas, lielākā problēma ir vides uzturēšana, veicinot sekmīgu metāna ražojošo baktēriju darbību. Lai to veiksmīgi izdarītu, nepieciešams veikt kompleksu pasākumu kopu, kas, pirmkārt, ietvertu pH regulēšanu, dažādu potenciāli toksisku elementu un inhibējošu vielu koncentrāciju kontroli. Taču svarīgā pH kontrole bieži saistās ar dārga aprīkojuma iegādi, kas regulāri

jāpārbauda. Kā arī nepareiza ķīmisko vielu izvēle un ievadīšanas daudzums un ātrums var atstāt negatīvas sekas sekmīgam metanoģenēzes procesam.

Darbā tiek pētīts jauns kompozītmateriāls, kurš spēj izdalīt sārmu, kas sūkalu fermentācijā spēj nodrošināt optimālus pārstrādes parametrus. Sārmaini aktivētais materiāls izvēlēts pētījumiem, jo tas ir ražots no dažādu ražošanas procesu atkritumproduktiem, līdz ar to šāda materiāla iegūšana un tālāka izmantošana mazina vides piesārņojumu un palīdz nodrošināt efektīvu resursu izmantošanu.

Apkopojot literatūrā sastopamos teorētiskos un eksperimentālos datus, ir izvirzīta **darba tēze**: Izmantojot sārma izdalošu kompozītmateriālu, ir iespējams efektīgi veikt skābo sūkalu anaerobo pārstrādi, neizmantojot automatizētas pH koriģēšanas sistēmas, un iegūt augstu biogāzes ražību un kvalitāti, kā arī zemu hidrauliskā uzturēšanas laika vērtību.

Mērķis -

sūkalu anaerobās pārstrādes tehnoloģijas izstrāde, izmantojot sārma izdalošus kompozītmateriālus un tehnoloģisko parametru ietekmes izvērtējums uz biogāzes ražību un ātrumu, izmantojot alternatīvu pH regulēšanas sistēmu.

Uzdevumi

- Izpētīt sūkalu anaerobās pārstrādes procesu ar automātiskām pH koriģēšanas metodi un izvērtēt optimālākos darbības parametrus;
- Novērtēt kompozītmateriālu efektivitāti sūkalu anaerobajā pārstrādē un to ietekmi uz biogāzes ražību;
- Izvērtēt dažādu materiāla sastāvu un kompozīciju ietekmi uz sūkalu anaerobo pārstrādi;
- Izveidot tehnoloģisko shēmu sārmainā materiāla praktiskam pielietojumam skābo sūkalu nepārtrauktā fermentācijā, izmantojot pretplūsmas reaktoru ar adaptētu sistēmu pH korekcijai.

Zinātniskā nozīme:

- Pirmo reizi pētītas un apkopotas sakarības starp sārmainu kompozītmateriālu spēju paaugstināt vides pH stacionārās un dinamiskās sistēmās biogāzes ieguvei no piena sūkalām;
- Pirmo reizi pētītas alternatīvas pH koriģēšanas iespējas bez tiešas reaģentu ievades reaktorā, izmantojot sārmainas kompozītmatrixas.

Praktiskā nozīme:

Izstrādāta sūkalu anaerobās pārstrādes metode ar sārmaino kompozītmateriālu izmantošanas iespēju pH kontrolei nepārtrauktas darbības reaktorā.

Promocijas darba novitāte

Pirmo reizi izpētīta sārmainu kompozītmateriālu pH koriģēšanas iespējas skābo sūkalu anaerobajā fermentācijā un to ietekme uz biogāzes ražību un kvalitāti, kā rezultātā izstrādāta tehnoloģija uzlabotam anaerobās darbības reaktoram.

Darba aprobācija:

Par promocijas darba zinātniskajiem sasniegumiem un galvenajiem rezultātiem ziņots 8 starptautiskās zinātniskajās konferencēs, ir publicētas 9 pilna teksta zinātniskās publikācijas un 2 recenzētas zinātniskās konferenču tēzes, saņemti divi pozitīvi Eiropas patenta apstiprinājumi un gatavots Latvijas Republikas patents.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1 Anaerobās pārstrādes procesi

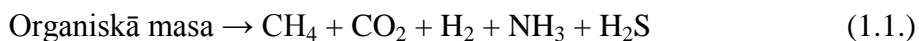
Biogāze ir organisko substrātu anaerobās fermentācijas produkts. Biogāzes ražošana ir viens no vecākajiem industriālo atkritumu pārstrādes procesiem [5]. Tā kā procesa realizāciju nodrošina mikroorganismu konsorcijs un tas ir atkarīgs no daudziem dažādiem faktoriem, piemēram, pH, temperatūras, HUT (hidrauliskās uzturēšanās laiks), u.t.t., process ir salīdzinoši lēns. Ar biogāzes ražošanu ir saistītas daudzas problēmas – darbības nestabilitāte, augstu organisko slodžu pielietojšanas iespējas, atkritumu sastāva specifiskās prasības un citi limitējoši faktori [6]. Līdz ar to, lai nodrošinātu biogāzes reaktoru sekmīgu darbību, ir jāveic plaša spektra procesa pētījumi, iekļaujot kā mikrobioloģiskus, tā tehnoloģiskus un ķīmiskus pētījumus.

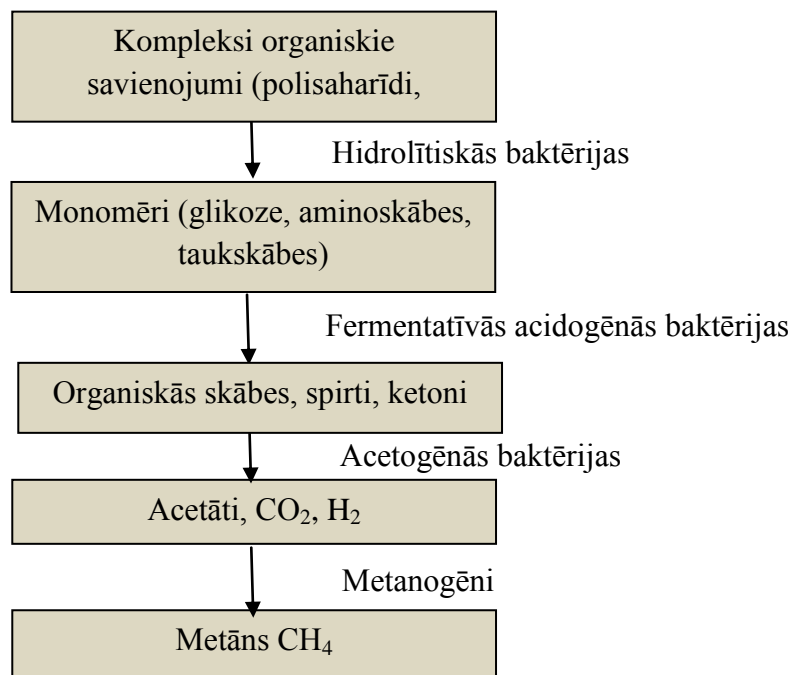
1.1.1 *Procesa mikrobioloģija*

Substrātu patērējošā mikroorganismu populācija jeb konsorcijs ir viens no svarīgākajiem faktoriem, kas ietekmē anaerobo atkritumu pārstrādi. Uzsākot reaktora darbību, pārstrādājamajam materiālam tiek pievienots ieraugs no jau strādājoša reaktora ar augstu bioloģisko aktivitāti, kam ir būtiska ietekme uz biogāzes ražošanas procesu. Piemērotākā ierauga izvēle ir ļoti svarīga un atkarīga no substrāta sastāva un tā īpašībām, piemēram, C:N:P attiecībām, sārmainības u.t.t. Piemēram, Gannoun u.c. [2] ieteica, ka sūkalu anaerobajai pārstrādei ar vidēju sastāvu, var tikt izvēlēts ieraugs no aktīva biogāzes reaktora, kurā pārstrādā augļu un dārzeņu atlikumus.

Metanogēnie mikroorganismi spēj pārstrādāt tikai vienkāršus savienojumus. Līdz ar to, lai sāktos metanogēneses process, jābūt iekļautām vismaz trīs savā starpā sadarbojošām anaerobo mikroorganismu grupām (skat. 1.1. att.), kas pārsvarā satur baktērijas un metanogēnus, un ietver sarežģītu lielmolekulāru organisko savienojumu pārstrādi par metānu. Turklāt atkritumu anaerobajā pārstrādē ir ietverta sinerģētiska mijiedarbība starp dažādām mikroorganismu grupām [7].

Vispārēja reakcija ir parādīta vienādojumā [8]:





1.1 att. Metabolītiskās mikroorganismu grupas, iesaistītas anaerobajā pārstrādē, un to radītie produkti

Lai arī anaerobajos reaktoros ir atrodamas arī sēņu un protozoju sugas, baktērijas un metanogēni ir dominējošie mikroorganismi. Liels skaits strikti fakultatīvu anaerobo baktēriju (*Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*) ir iesaistīts organisko savienojumu hidrolīzē un fermentācijā.

1.1.2 Hidrolītiskās baktērijas

Hidrolītiskās baktērijas ir anaerobo baktēriju grupa, kas pārvērš sarežģītus organiskus savienojumus (proteīni, polisaharīdi, celuloze, tauki) par šķīstošiem monomēriem, kā aminoskābes, glikoze, taukskābes un glicerīns. Šie monomēri ir tieši pieejami nākošajai baktēriju grupai. Lai noteiktu hidrolīze, noteikti mikroorganismi izdala dažāda tipa enzīmus, sauktus par ekstracelulāriem enzīmiem, kas sadala polimērus monomēros. Katram savienojumam ir savs enzīms, kas to sadala. 1.1. tabulā ir parādīti daži enzīmu piemēri un to funkcijas. Daži mikroorganismi spēj vienlaicīgi izdalīt vairākus enzīmus. Mikroorganismus, kas šķeļ cukurus, sauc par saharolītiskiem, bet tos, kas šķeļ proteīnus – par proteolītiskiem.

Dažādi ekstracelulārie enzīmi, to izmantotais substrāts un produkts [9]

Enzīms	Substrāts	Produkts
Proteāze	Proteīns	Aminoskābes
Celulāze	Celuloze	Celobioze un glikoze
Amilāze	Ciete	Glikoze
Lipāze	Tauki	Taukskābes un glicerīns
Pektināze	Pektīns	Cukuri, piemēram, galaktoze un arabinoze

Citkārt hidrolītiskā fāze ir diezgan lēna un var būt limitējoša sarežģītu savienojumu pārstrādē, piemēram, celulozi saturošo. Anaerobo procesu polisaharīdu hidrolīzē var būt iekļautas dažādas bakteriālās grupas, piemēram, *Bacteriodes*, *Clostridium*, un *Acetovibrio* [10].

1.1.3 Fermentatīvās acidogēnās baktērijas

Acidogēnās (t.i., skābes veidojošās) baktērijas, piemēram, *Clostridium*, pārvērš cukurus, aminoskābes un taukskābes par organiskām skābēm – etiķskābi, propānskābi, skudrskābi, pienskābi, sviestskābi u.c., spirtiem (etanolu, metanolu) un ketoniem (acetonu), acetātiem, CO₂ un H₂. Acetāti ir galvenais ogļūdeņražu fermentācijas produkts. Produktu veidošanās ir atkarīgā kā no galvenajiem baktēriju tipiem, tā no vides apstākļiem (temperatūras, pH, reducēšanās-oksidēšanās potenciāla u.tml.).

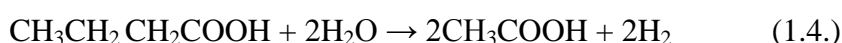
1.1.4 Acetogēnās baktērijas

Acetogēnās baktērijas (acetātus un H₂ veidojošās), piemēram, *Syntrobacter wolinii* un *Syntrophomonas wolfei* [4], pārstrādā taukskābes (piemēram, propānskābi, sviestskābi) un spirtus par acetātiem, ūdeņradi un oglekļa dioksīdu, kurus tālāk patērē metanogēni. Šai grupai taukskābju pārstrādē ir svarīga zema H₂ koncentrācija, līdz ar to nepieciešama tā kontrole. Zem relatīvi augsta H₂ parciālā spiediena, acetātu veidošanās tiek samazināta, un substrāts tiek pārstrādāts drīzāk par propānskābi, sviestskābi un etanolu nekā metānu. Enerģētiski šis ir negatīvs process, tādēļ acetogēnajiem mikroorganismiem ir paralēli jāsadarbojas ar metānu

veidojošajām baktērijām, lai padarītu šo procesu enerģētiski izdevīgāku. Metanogēnās baktērijas palīdz uzturēt zemu H₂ līmeni, kas netraucē acetogēnajām baktērijām.

Acetogēnus var viegli inhibēt dažādi vides faktori, kā piemēram, pH, NH₃ u.c., kas var radīt vispārēju procesa nestabilitāti. GTS akumulācija ir indikators procesa neefektivitātei.

Etilspirts, propānskābe, sviestskābe tiek pārstrādāta par etiķskābi pēc sekojošām reakcijām:



Acetogēnās baktērijas aug daudz ātrāk nekā metanogēni. Pirmo īpatnējais augšanas ātrums ir aptuveni 1 h⁻¹, kamēr otro tikai 0.04 h⁻¹ [11].

1.1.5 Metanogēni

Pēdējā anaerobās pārstrādes posmā notiek CO₂ un CH₄ veidošanās, ko veic metānu veidojošie mikroorganismi jeb metanogēni, kas ir lēni augoši organismi. To dubultošanās laiks vidēji ir no 1 līdz 20 dienām. Metanogēni var pārstrādāt limitējošu daudzumu substrātu - acetātus, H₂, CO₂, formiātus, metanolu u.tml. Visi šie substrāti tiek reducēti ar speciāla enzīma - metilCoM reduktāzes palīdzību [12].

Metanogēni ietver divus galvenos ģēnus, kas ietver sekojošus metanogēnus: *Methanosarcina* [13], *Methanotherix* [14] un *Methanosaeta* [12]. Metanogēni tiek iedalīti divās apakškategorijs – hidrogenotrofie un acetotrofie metanogēni.

Hidrogenotrofie metanogēni (t.i. ūdeņradi patērējošie hemolitotrofi) pārvērš H₂ un CO₂ metānā:

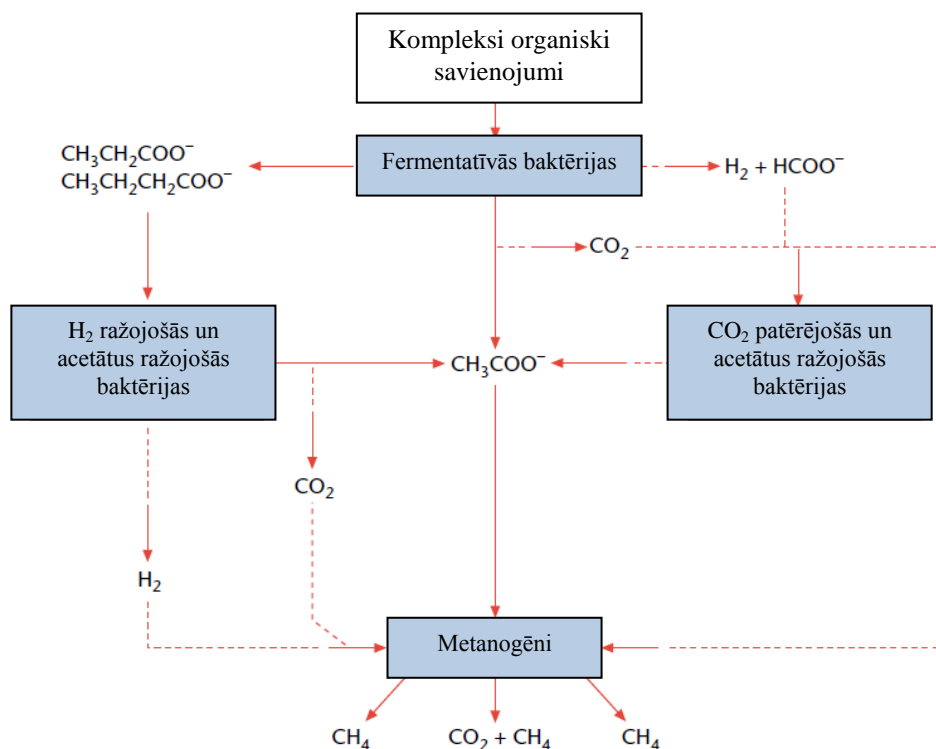


Vairums no *methanococcales* un *methanobacterales* izmanto CO₂ + 4H₂.

Acetotrofie metanogēni, arī saukti par acetoklastiskajiem vai acetātus šķelošajiem metanogēniem, pārvērš acetātus par metānu un CO₂:



Aptuveni 70% metāna rodas no acetāta pārstrādes acetotrofo organismu klātbūtnē. Pārējie 30% rodas no CO₂ reducēšanās H₂ klātbūtnē [15]. 1.2. attēlā ir parādītas galvenās oglekļa plūsmas un metabolisma ceļi metanogēnajiem mikroorganismiem.



1.2.att. Barības ķēde anaerobā vidē, kas sastāv no trīs tipu mikroorganismiem. Starpprodukti un galvenās oglekļa plūsmas norādītas ar sarkanu līniju [16].

Metanogēni pieder pie atsevišķa domēna (mikroorganismu grupa) – *Archaea*, un no baktērijām atšķiras sekojoši:

1. Metanogēniem ir atšķirīga šūnas apvalka uzbūve – tai pietrūkst peptidoglīns.
2. Tiem ir atšķirīga uzbūve šūnas membrānā, kura ir izveidota no ogļūdeņražu ķēdēm pievienotām pie glicerīna ar ētera saitēm.
3. Metanogēniem ir specifisks koenzīms F420, kas metabolisma procesu laikā darbojas kā elektronu pārnēsētājs. Šis zili-zaļais fluorescentais koenzīms tiek izmantots metanogēnu saskaitīšanai jauktās kultūrās [17].
4. Metanogēniem ir ribosomālās RNS sekvenču, kas atšķiras no baktērijām un eikariotiem.

1.2 Anaerobo fermentāciju ietekmējošie faktori

Anaerobo pārstrādi ietekmē sekojoši parametri: temperatūra, pH, uzturēšanās laiks, atkritumu ķīmiskais sastāvs, metanogēnu un sulfātveidojošo mikroorganismu konkurence, toksīnu (inhibējošu savienojumu) klātbūtne.

Ātrumu limitējošs faktors anaerobajā pārstrādē visbiežāk ir gaistošo skābju pārstrāde metānā. Metānu veidojošās baktērijas iegūst ļoti mazu enerģiju no gaistošo skābju degradācijas. Lielākā daļa enerģijas tiek novadīta metāna sintēzei, tāpēc izmantojamais substrāta daudzums uz organisma vienību ir augsts, kas nosaka lēno baktēriju augšanu.

Tabulā 1.2. parādīti metāna veidošanu ietekmējošie parametri un to optimālās un kritiskās vērtības.

1.2. tabula

Optimālās parametru vērtības metāna veidošanai

Parametrs	Optimālās vērtības	Kritiskās vērtības
Sārmainība, mg/L kā CaCO ₃	1500-3000	1000-1500/3000-5000
Gāzu saturs		
Metāns, % saturs	65-70	
Oglekļa dioksīds, % saturs	30-35	
Hidrauliskās uzturēšanās laiks, d	10-15	7-10/15-30
pH	6.8-7.2	6.6-6.8
Temperatūra, mezofīls režīms, °C	30-35	
Temperatūra, termofīls režīms, °C	50-56	
Gaistošās skābes, mg/L kā etiķskābes ekvivalents	50-500	500-2000

1.2.1 Temperatūra

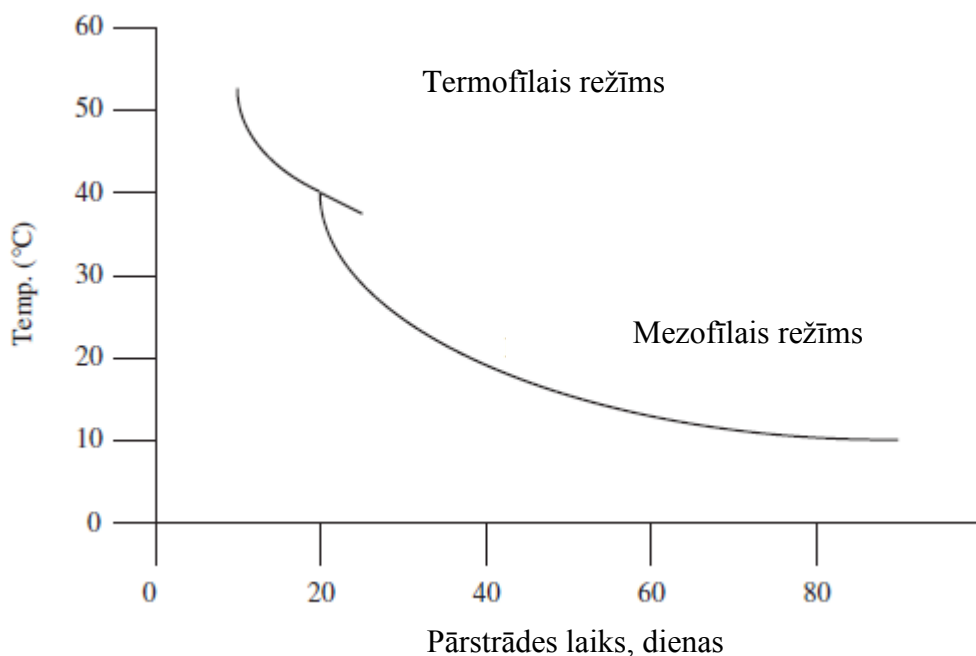
Anaerobajā pārstrādē var tikt izmantoti trīs temperatūras režīmi:

- psihrofīlais 0-20 °C;
- mezofīlais 20-42 °C;
- termofīlais 42-75 °C.

Jo augstāka temperatūra tiek izmantota, jo īsāks apstrādes laiks ir nepieciešams, lai sasniegtu specifisko biogāzes ražošanas ātrumu. Hidrolītiskās un acidogēnās fāzes nav ļoti jutīgas pret temperatūras svārstībām, taču acetogēnā un metanogēnā fāze ir daudz jutīgāka [18].

Sūkalu anaerobajā pārstrādē visbiežāk tiek izmantots un rekomendēts temperatūras diapazons no 20-42 °C [18–20].

Parasti anaerobās pārstrādes stacijās reaktoros tiek uzturēts mezofīls temperatūras režīms no 25-40 °C, taču visbiežāk tā ir 35-37 °C temperatūra. Temperatūras uzturēšana termofīlā režīmā 50-65 °C ļauj pielietot lielākas organiskās slodzes un atļauj kontrolēt patogēno organismu klātbūtni. Grafikā (skatīt 1.3. att.) ir parādīti ieteicamie temperatūras režīmi, atkarībā no pārstrādes laika.



1.2.att. Procesa režīms atkarībā no temperatūras un pārstrādes laika

Tā kā metanogēni ir daudz lēnāk augoši nekā acidogēnās baktērijas, tad tie ir ļoti jutīgi pat pret nelielām temperatūras izmaiņām. Propionātu oksidētāji pret temperatūras izmaiņām ir visjutīgākie [21]. Temperatūras paaugstināšana virs standarta darbības režīma var novest pie metāna veidošanās inhibīcijas un pH pazemināšanās [18].

1.2.2 Uzturēšanās laiks

Anaerobajā pārstrādē ir divi svarīgi uzturēšanās laiki. Pirmais ir mikroorganismu vidējais uzturēšanās laiks, otrs ir substrāta uzturēšanās laiks reaktorā. Suspendēto daļiņu reaktorā bez recirkulācijas šie laiki sakrīt.

HUT var tikt aprēķināts pēc formulas 1.7.

$$\text{HUT} = \frac{V_{\text{reaktors}}}{V_{\text{substrāts}}} \quad (1.7.)$$

kur V_{reaktors} – reaktora tilpums;

$V_{\text{substrāts}}$ – ikdienas pievienotā substrāta tilpums.

Tā kā metāna veidojošie mikroorganismi ir ar relatīvi ilgu vairošanās laiku, ja salīdzina ar aerobajām un fakultatīvajām baktērijām, tad ieteicamais uzturēšanās laiks ir >12 dienas [22].

Hidrauliskais uzturēšanās laiks atkarīgs no substrāta īpašībām un sastāva, kā arī no vides, bet tam jābūt pietiekami garam, lai reaktorā nodrošinātu anaerobo organismu metabolismu. Parasti, izmantojot reaktorus ar imobilizācijas iespējām, HUT ir 1-10 dienas, taču suspendētos reaktorus HUT ir 10-60, līdz pat 120 dienām. HUT vērtība ietekmē metāna ražošanas ātrumu un daudzumu.

1.2.3 Organiskā slodze

Anaerobās pārstrādes raksturošanai izmanto organiskās slodzes (OS) jēdzienu. Tas ir mērs, pēc kura var noteikt piebarošanas režīmu un regulēt pārstrādes ātrumu.

Organiskās slodzes lielums ir atkarīgs no reaktora tipa un substrāta veida. Imobilizētas biomasas gadījumā šo slodzi var būtiski palielināt, ja salīdzina ar suspendētas biomasas tipa reaktoriem. Pārāk augsta organiskā slodze var novest pie mikroorganismu izskalošanas problēmas [18].

Organiskā slodze ir svarīgs darbības parametrs, kas parāda, cik daudz organiskās sausas var ievadīt bioreaktorā uz tilpuma m^3 un laika vienību [1]. OS rēķina pēc 1.8. formulas.

$$\text{OS} = m * c / V_R * 100, \quad (1.8.)$$

kur OS = organiskā slodze, kg ŪSP vai KS/ m^3/d ;

m = substrāta masa, kas ievadīta laika vienībā, kg/dn

c = organiskās sausas koncentrācija, %

V_R = bioreaktora tilpums, m^3 .

Ja reaktorā uzkrājas gaistošās skābes, tas ir pirmais indikators, ka jāsamazina organiskā slodze.

1.2.4 pH

Vairums metanogēnu optimāli funkcionē pH robežās 6.7-7.4, taču parasti to cenšas uzturēt robežās 7.0-7.2. Process var apstāties pilnīgi, ja pH nokrītot zem 6.5. Acidogēnās baktērijas ražo organiskās skābes, kas pazemina reaktora pH. Normālos apstākļos šis pazeminātais pH tiek kompensēts ar bikarbonātiem, ko saražo metanogēni. Nelabvēlīgu apstākļu rezultātā sistēmas buferkapacitāte var tikt izjaukta, apturot metāna veidošanos. Skāba vide ir bīstamāka metanogēniem, nekā acidogēnajām baktērijām. Ja reaktorā paaugstinās gaistošo taukskābju koncentrācija, tas ir indikators sistēmas iespējamām problēmām. Kopējo taukskābju koncentrācijas monitorings (kā etiķskābes ekvivalents) pret kopējo buferkapacitāti (kā kalcija karbonāta ekvivalents) jeb plašāk pielietotais apzīmējums - FOS/TAC, tiek ieteikts uzturēt zem 0.1 [23]. Lai paaugstinātu sārmainību, ir iespējams pievienot ķīmiskus reaģentus, piemēram, amonjaku, nātrija hidroksīdu, kalcija hidroksīdu vai nātrija bikarbonātu.

Jebkurš ķīmisks savienojums, kuru izvēlas pievienot reaktoram, jāskā pievienot pakāpeniski, lai izvairītos no sārmainības, pH, jonu spēka un reducēšanās-oksidēšanas potenciāla vērtības straujas izmaiņas, kas var ietekmēt mikroorganismu darbību. Pievienotais katjons, pirms ievades reaktorā, ir jāizpēta. Piemēram, $CaCO_3$ var radīt nevajadzīgas nogulsnes, bet Na^+ var radīt sārmezemju metālu toksicitāti. Turklāt ir ieteicams lietot katjonu maisījumus ar Ca^{2+} , Na^+ un K^+ , piemēram, izmantojot $Ca(OH)_2$, $NaOH$ un KOH [22].

Sārmainība tiek definēta kā ūdens kapacitātes spēja skābju neitralizēšanā. Kad karbonātsistēma dominē sistēmas buferkapacitātes nodrošināšanā (un tā notiek vairumā anaerobo procesu), sārmainība var tikt noteikta no protonu stāvokļa (viss ir izteikts mol/L):

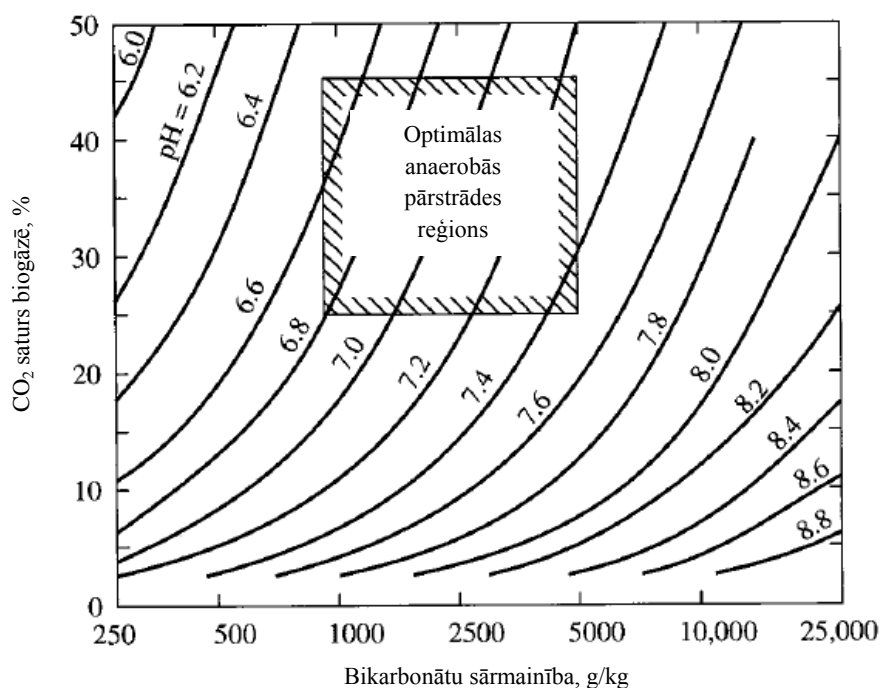


Ņemot vērā pH vērtību un anaerobās pārstrādes apstākļus, H^+ , CO_2^{-3} un OH^- koncentrācijas ir salīdzinoši zemas, salīdzinot ar HCO_3^- . Sārmainība var tikt izteikta kā $CaCO_3$ ekvivalents mg/L (skat. vienād. 1.10.):

$$\frac{\text{Sārmainība}}{50\,000} = HCO_3^- \quad (1.10.)$$

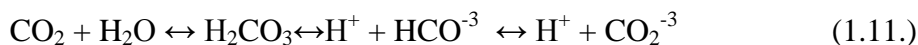
Vienādojums 1.10. parāda, ka kopējā sārmainība anaerobā procesā ir pielīdzināma bikarbonātu koncentrācijai jeb sārmainībai.

Tik ilgi, kamēr skābju veidojošo baktēriju un metanogēnu „darbības ātrums” ir līdzīgs, metanogēnu metaboliskā aktivitāte ir stabila, jo skābes tiek pārstrādātas un tiek iegūta viegli sārmaina vide, ko veido kā CO_2 , tā amonjaks no aminogrupām ($-NH_2$), kas izdalās aminoskābju un proteīnu noārdīšanas laikā.



1.4.. att. Attiecība starp bikarbonātu sārmainību, CO_2 procentuālo attiecību gāzes fāzē (pie 1 atm kopējā spiediena) un reaktora pH anaerobos apstākļos [24]

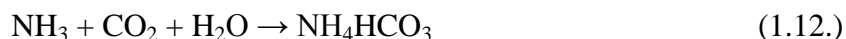
Kā redzams vienādojumā 1.11., CO_2 ietekmē pH, jo tā ražošana ietekmē ogļskābes veidošanos un bikarbonātu sārmainību:



Attēlā 1.4. ir redzams, ka bikarbonātu cietība kā CaCO_3 robežās 500-600 mg/L ir nepieciešama, lai nodrošinātu pH virs 6.5. Ar lielāku CO_2 parciālo spiedienu, sārmainības piedevai jābūt lielākai. Attēlā parādītas vēl divas citas svarīgas tendences:

1. Diezgan augsta sārmainība virs 5000 mg/L ar normālu CO_2 saturu nespēj uzturēt pārlietu augstu pH.
2. pH vērtība vairs netiek ietekmēta virs pH 7.4 un pie sārmainības, kas izteikta kā CaCO_3 5000 mg/L.

Vienādojumā 1.12. un 1.13. var redzēt, ka procesa laikā izdalītais amonjaks reaģē ar CO_2 un ūdeni, veidojot amonija karbonātu, kas arī nodrošina sistēmas bāziskumu.

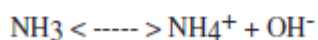
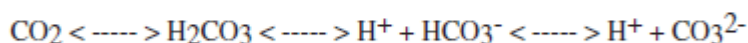


Veidojošais amonija karbonāts ir pieejams vidē, lai reaģētu ar gaistošajām skābēm un veidotu sāļus, neitralizējot vidi [22].

Līdzsvars starp ogļskābi, bikarbonātu sārmainību un karbonātu sārmainību, kā arī starp amonija un amonjaka joniem, ir reaktora pH funkcija (skat. att. 1.5.).

Substrāta noārdīšana (C,N,O,N,S) ----- >

(CH_4 , RCOOH , H_2S)

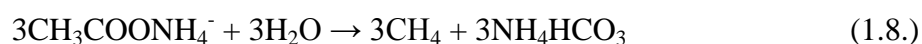
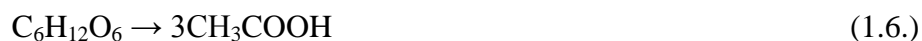


1.5. att. Reaktora pH funkcijas shematisks attēlojums

Organisko savienojumu degradācijas rezultātā notiek organisko skābju ražošana, kas izjauc sārmainību. Sārmainības pazemināšanās zem normāliem rādītājiem var būt saistīts ar vairākiem parametriem:

1. Notiek organisko skābju akumulēšanās, kas inhibē metanogēnus;
2. Reaktorā tiek pārāk strauji ievadītas skābes;
3. Reaktora tilpumā atrodas savienojumi, kas inhibē metanogēnus.

Piemēram, glikozes degradācijas rezultātā veidojas etiķskābe, kas reaģē ar amonija bikarbonātu. Pēc vienādojumiem 1.6., 1.7. un 1.8. var redzēt, ka vides sārmainība atjaunojas metāna veidošanās laikā.



1.2.5 Reducēšanās - oksidēšanās potenciāls

Vēl viens svarīgs faktors, kas nosaka substrāta pārstrādi, ir elektronu pieejamība un to raksturs. No termodinamiskā viedokļa, skābeklis ir vispiemērotākais elektronu akceptors. Anaerobos apstākļos trūkst neorganisku elektronu akceptoru. Parasti pieejams tikai CO₂, tāpēc neliels enerģijas daudzums tiek iegūts notiekošo oksidācijas/reducēšanās procesu laikā, pārstrādājot organisko substrātu. Reducēšanās oksidēšanās (ROP) reakciju un elektronu pārejas laikā atbrīvojas enerģija, kas tiek izmantota mikrobioloģiskās populācijas uzturēšanā [3].

Ir jāņem vērā, ka katrā reaktorā ir cits ROP, kas ir īpaši jākontrolē, ja pH tiek regulēts, piemēram, ar Na nitrātu, jo nitrāta joni var ievērojami paaugstināt ROP. Lai reaktors veiksmīgi darbotos, ROP nedrīkst pārsniegt -300 mV, jo tā ir robeža, pie kuras var apstāties metanogēnēze [22].

1.2.6 Elementi un ķīmiskais sastāvs

Lai uzturētu pareizu anaerobo rūgšanas procesu, ir jānodrošina sabalansēts barības vielu, piemēram, slāpekļa, fosfora un sēra sastāvs. Fosfora nepietiekamība neatgriezeniski samazina metanogēnu aktivitāti. Ieteicamā C:N:P attiecība anaerobajā reaktorā ir 700:5:1 [25]. Metanogēni izmanto amonjaku un sulfīdu kā slāpekļa un sēra avotu. Lai arī nejonizēts sulfīds ir toksisks robežās 150-200 mg/L, tas ir nepieciešams metanogēniem kā galvenais sēra avots [26]. Tomēr mikroelementi kā dzelzs, kobalts, molibdēns un niķelis ir nepieciešami, jo tie ir svarīgi enzīmi anaerobajiem mikroorganismiem. Niķelis koncentrācijā vismaz 10 μM, ievērojami paaugstina metāna ražību laboratorijas apstākļos [27], jo tas ir ietverts ko-faktora F430 sastāvā. Kā daļa no dažādām hidroģenēzēm, dzelzs ir būtiska H₂ uzņemšanā. Kobaltam ir būtiska loma metil-grupu pārveidāšanā ar enzīma kolbamīns palīdzību [28]. Tabulā 1.3. apkopoti svarīgākie elementi un izmantojamo savienojumu koncentrācijas.

Barības vielu nepieciešamība anaerobo procesu norisei [22]

Elements	Nepieciešamais daudzums, mg/g ĶSP	Bīstamās koncentrācijas, mg/L	Tipiskā izmantojamā forma
Makroelementi			
Slāpeklis	5-15	50	NH ₃ , NH ₄ Cl
Fosfors	0.8-2.5	10	NaH ₂ PO ₄
Sērs	1-3	5	MgSO ₄ *7H ₂ O
Mikroelementi			
Dzelzs	0.03	10	FeCl ₂ *4H ₂ O
Kobalts	0.003	0.02	CoCl ₂ *2H ₂ O
Niķelis	0.004	0.02	NiCl ₂ *6H ₂ O
Cinks	0.02	0.02	ZnCl ₂
Varš	0.004	0.02	CuCl ₂ *2H ₂ O
Mangāns	0.004	0.02	MnCl ₂ *4H ₂ O
Molibdēns	0.004	0.05	NaMoO ₄ *2H ₂ O
Selēns	0.004	0.08	Na ₂ SeO ₃
Tungstens	0.004	0.02	NaWO ₄ *2H ₂ O
Bors	0.004	0.02	H ₃ BO ₃
Pārējie katjoni			
Nātrijs		100-200	NaCl, NaHCO ₃
Kālijs		200-400	KCl
Kalcijs		100-200	CaCl ₂ *2H ₂ O
Magnijs		75-250	MgCl ₂

Dažādās publikācijās parādās mikroelementu un barības vielu piedevas nozīmība sūkalu anaerobajā pārstrādē [29]. Nordbergs [30] pierādīja, ka kobalta pievienošana reaktorā sūkalu pārstrādes reaktorā, veicina būtisku biogāzes ražības palielinājumu.

Tabulā 1.3. ir apkopoti mikroelementi un to ieteicamās koncentrācijas anaerobajā reaktorā, kas stimulē procesa norisi [31].

1.3 Dažādi savienojumi un to inhibējošās īpašības

1.3.1 Gaistošās skābes

Gaistošās skābes tiek ražotas reaktorā un patērētas metāna sintēzei. Tās ir svarīgs starpprodukts, un lielākā daļa tiek izmantota metāna ražošanai. Šīs skābes var atšķirties pēc garuma, taču lielākā daļa ir mazmolekulāri savienojumi jeb „īsās” taukskābes, piemēram, skudrskābe (1 oglekļa atoms), etiķskābe (2 oglekļa atomi), propānskābe (3 oglekļa atomi) un sviestskābe (4 oglekļa atomi). Šīs īsās skābes tiek sauktas par gaistošajām skābēm, jo atmosfēras spiedienā tās iztvaiko. No visām iepriekšminētajām skābēm etiķskābe ir dominējoša anaerobajā reaktorā, jo tā veido līdz 85% no skābju satura.

Jo vairāk gaistošās sausas tiek ievadīts reaktorā, jo lielāks daudzums gaistošo skābju veidojas. Ja pH tiek uzturēts tuvu neitrālajām robežām, gaistošās skābes kā etiķskābe vai sviestskābe īpaši neietekmē metanogēnus, taču propānskābe uzrāda toksisku ietekmi kā uz skābju veidojošām baktērijām, tā uz metanogēniem [32].

Marchaim un Krause [33] apgalvo, ka propānskābes (HPr) un etiķskābes (HAc) attiecība ir indikators reaktora nestabilitātei. Hill u.c. [34] iesaka, ka HPr un HAc attiecība nevar būt lielāka par 1.4. Wang u.c. [35] ziņoja, ka, ja HPr un gaistošo skābju koncentrācijas sasniedz 2850 mg/L un 10 g/L, metanogēnu aktivitāte tiek inhibēta, bet, ja kopējā skābju koncentrācija nokrīt līdz 6.2-8.5 g/L, inhibējošais efekts tiek mazināts.

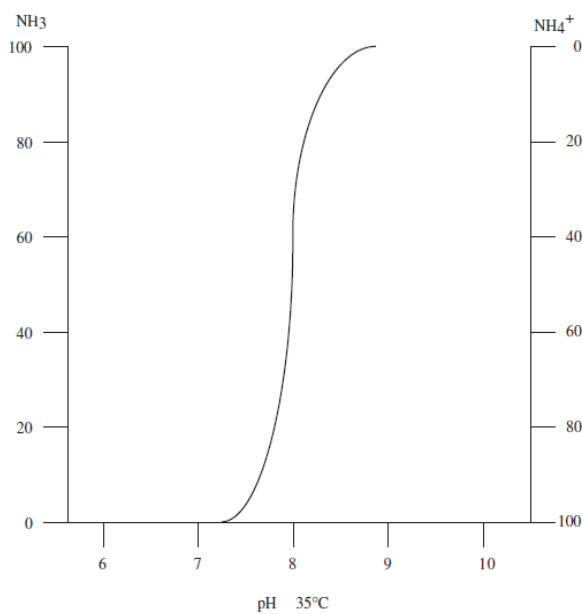
1.3.2 Sulfīdi

Sulfīdi ir vieni no iedarbīgākajiem anaerobās pārstrādes inhibitoriem [32], [36]. Tā kā nejonizēts ūdeņraža sulfīds var difundēt caur šūnu membrānu straujāk kā jonizētas formas, sulfīdu toksicitāte ir atkarīga no pH [37]. Piemēram, ja pH ir tuvu neitrālajām, 20-50 % no izšķīdušā sulfīda ir H₂S formā. Sulfīdi ir toksiski metanogēniem, ja to koncentrācija pārsniedz 150-200 mg/L, pie tam skābju veidojošās baktērijas ir mazāk jutīgas pret H₂S. Salīdzinot metanogēnu attieksmi pret sulfīdiem, ūdeņradi oksidējošie metanogēni ir vairāk jutīgi kā acetoklastiskie metanogēni [38].

1.3.3 Amonjaks

Kā amonija joni (NH₄⁺ - jonizēts amonjaks), tā izšķīdusi NH₃ gāze var būt dabīgi sastopami anaerobajos reaktoros. Abas formas ir līdzsvarā, un to relatīvās koncentrācijas ir atkarīgas no pH. Ja pH ir zem 7.3, veidojas pārsvarā NH₄⁺. Ja pH ir virs 7.2, NH₃ ir pārsvarā pār amonija formu (skat. 1.6. att.). Izšķīdusi amonjaka gāze ir toksiska baktērijām, īpaši

metanogēniem, jo tā var izkļūt cauri membrānai šūnas iekšienē, izraisot proteīnu disbalansu un kālija nepietiekamību [39]. Īpaši pret amoniju ir jutīgi acetoklastiskie metanogēni, jo tie satur mazāk kālija kā hidrogenotrofie metanogēni. Pārstrādājot proteīniem bagātus atkritumus, pieaug amonija karbonāta koncentrācija, kas veidojas no amonija, līdz ar to, palielinot procesa buferkapacitāti, var nodrošināt rezistenci pret organisko pārslodzi.



1.6. att. Slāpekļa formu – amonjaka un amonija daudzums anaerobajā reaktorā, atkarībā no pH. Paaugstināts pH palielina amonjaka daudzumu, kamēr pH samazināšana – palielina amonija jonu daudzumu [22].

Amonija toksicitāte var būt novērsta, ja reaktora pH uztur 6.8-7.2 robežās un amonija-slāpekļa koncentrācija nepārsniedz 1500-3000 mg/L. Ja šī koncentrācija pieaug, var rasties arī putošanās problēmas [22]. Taču amonija formu inhibējošās koncentrācijas var mainīties atkarībā no pārstrādes sistēmas un kopumā to robežas var variēt no 1700 līdz pat 14 000 mg/L [39–41].

Saskaņā ar Schnürer u.c. [42] metāna sintēze no acetāta var tik pārtraukta pie lielām amonija koncentrācijām. Tā vietā, lai metāna ražošana notiktu ar acetoklastiskajiem metanogēniem, tas tiek ražots ar hidrogenotrofo metanogēnu palīdzību, izmantojot sintrofos acetāta oksidētājus (SAO), kuriem reģenerācijas laiks ir aptuveni 28 dienas, turpretī acetoklastiskajiem metanogēniem šis laiks ir 2-12 dienas. Tas nozīmē, ka augstas amonija koncentrācijas noved pie garākiem HUT, lai neizskalotu SAO. Acetoklastiskie metanogēni ir jutīgāki pret amoniju un to aktivitāte samazinās, ja amonija koncentrācija palielinās, tādējādi

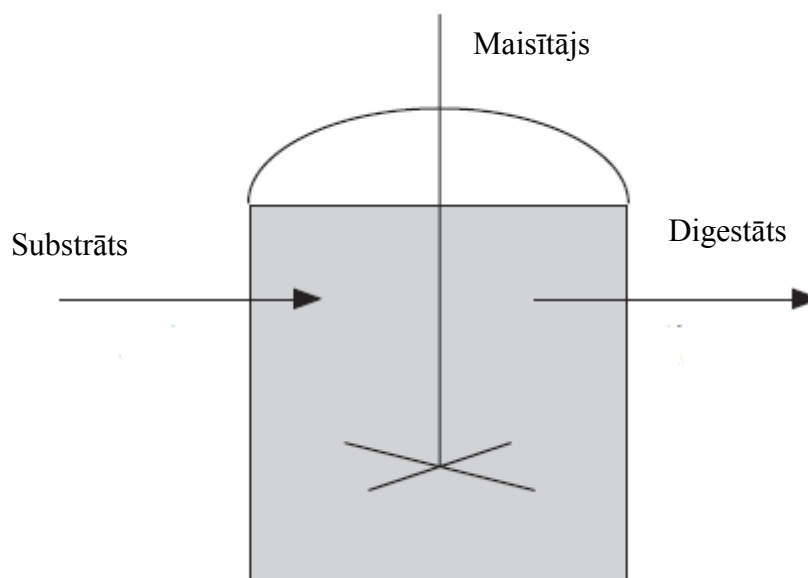
ļaujot acetātam tikt pārstrādātam ūdeņradī un oglekļa oksīdā, izmantojot SAO, pirms metāna sintēzi ir nodrošinājuši hidroģenotrofie metanogēni [43], [44].

1.4 Anaerobo reaktoru tipi

Anaerobie reaktori spēj pārstrādāt kā cietus atkritumus, tā šķidrus notekūdeņus. Reaktoru HUT, pārstrādājot grūti pārstrādājamus atkritumus, parasti ir 20-60 dienas. Augstas efektivitātes reaktori pārstrādā šķīstošus notekūdeņus. Tā kā šīs plūsmas parasti neprasa hidrolīzi un atkritumu sašķidrināšanu, var tikt pielietoti daudz īsāki pārstrādes laiki. Bieži šo reaktoru HUT ir mazāks par 8 stundām. Grūti pārstrādājami atkritumi parasti tiek apstrādāti suspendētās sistēmās, kamēr šķīstoši notekūdeņi tiek pārstrādāti bioplēves reaktoros.

1.4.1 Suspendētas biomasas reaktori

Suspendētas biomasas reaktoros (skat. 1.7. att.) baktērijas tiek pārvietotas, izmantojot periodisku vai nepārtrauktu maisīšanu. Šāda tipa reaktoros hidrauliskās uzturēšanās laiks ir vienāds ar organiskās daļas (substrāta) uzturēšanās laiku.



1.7. att. Suspendēta tipa reaktora shematiska ilustrācija

Pilnībā apmaisīti suspendētie reaktori parasti ir paredzēti lieliem HUT. Šāda tipa reaktoru galvenie plusi:

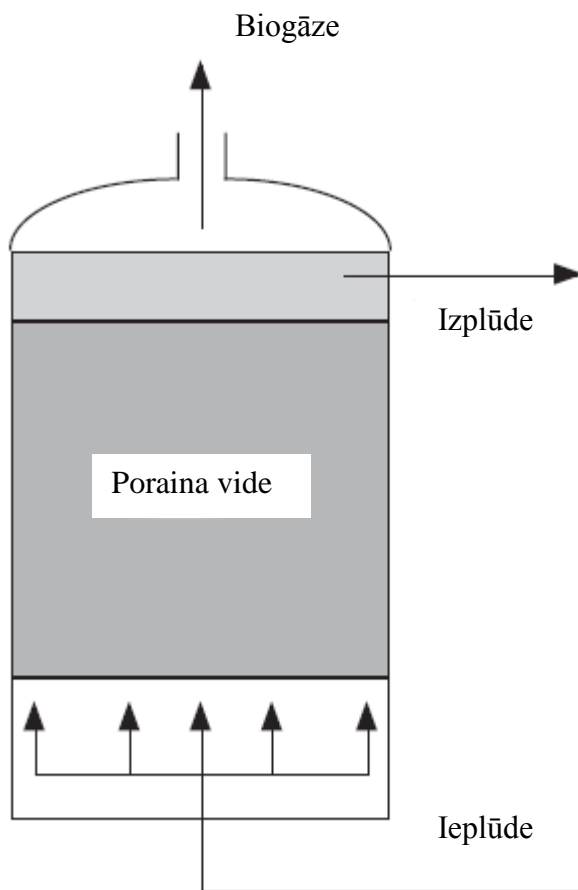
1. Piemērots koloidālu un daļiņu saturošu atkritumu pārstrādē;
2. Var pārstrādāt atšķaidītus, toksiskus atkritumus;

3. Viendabīga barības vielu, pH, substrāta un temperatūras izkliede.

Kā lielākais mīnuss tiek minēts lielais reaktora tilpums.

1.4.2 Bioplēves reaktori

Anaerobie bioplēves reaktori (vai sludže blankets, angļu val.) nodrošina nekustīgu vidi baktēriju augšanai (att. 1.8.). Baktēriju uzaugšanai uz cietās virsmas ir nepieciešams relatīvi liels laika posms, nodrošinot ilgu daļiņu uzturēšanās laiku reaktorā, bet īsu HUT.



1.8. att. Bioplēves reaktors

Dažāda tipa bioplēves reaktori ir pieejami notekūdeņu pārstrādē: pretplūsmas, hibrīdās plūsmas un modulārie reaktori u.t.t.

1.5 Sūkalu raksturojošie parametri un to izmantošana biogāzes ieguvē

Sūkalas ir šķidrums piensaimniecības atkritumprodukts, kas pārsvarā satur ūdeni un ūdenī šķīstošas sastāvdaļas. Par sūkalām sauc šķidrumu pēc kazeīna atdalīšanas no piena, izmantojot proteīna koagulāciju ar neorganiskajām vai organiskajām skābēm [1], [45], [46].

Sūkalu ražošanas apjomi pasaulē sastāda 100 miljardu kg gadā, no tām 50% tiek saražots Eiropā. Tikai 8% no saražotā tālāk tiek izmantots kā izejviela citu produktu pagatavošanā. Vidēji tiek pieņemts, ka radušos sūkalu apjoms ir vienāds ar izmantotā piena apjomu, kas tika izmantots siera vai biezpiena ražošanā. Taču sūkalas satur līdz pat 50% pienā esošo vērtīgo vielu, ieskaitot laktozi, olbaltumvielas, minerālvielas, nelielu daudzumu tauku, lielāko daļu ūdenī šķīstošo vitamīnu [47], [48].

Atkarībā no izstrādājamā produkta izšķir divu veidu sūkalas. Saldās sūkalas, ar pH vismaz 5.6 līdz 6.3, rodas siera ražošanas procesā, pienam sarecot fermentu darbības rezultātā, pievienojot pienskābes baktēriju kultūru un kalcija hlorīdu. No katra saražotā siera kilograma rodas aptuveni 9 L sūkalu [49]. Skābās sūkalas, ar pH 4,4 – 4,6, rodas ar skābi koagulēta siera ražošanā, notiekot piena skābās sarecēšanas procesam, kad pienskābe uzkrājas lielā daudzumā. Abu veidu sūkalu salīdzinājums atrodas tabulā 1.3.

1.3. tabula

Saldo un skābo sūkalu tipiskais sastāvs [1], [50], [51]

Sastāvdaļa	Saldās sūkalas (g/L)	Skābās sūkalas (g/L)
Kopējā sausna	63-70	63-70
Laktoze	46-52	44-46
Olbaltumvielas	6-10	6-8
Kalcijs	0.4-0.6	1.2-1.6
Fosfāti	1-3	2-4.5
Laktāti	2	6.4
Hlorīdi	1.1	1.1

Sūkalas ir viens no galvenajiem piensaimniecību notekūdeņu piesārņotājiem ne tikai dēļ augstā organiskā satura, bet arī dēļ lielā kopējā saražotā tilpuma. Protams, saražotais sūkalu apjoms ir atkarīgs no siera vai biezpiena ražošanas apjoma [52].

Laktoze ir galvenā organiskās slodzes veidotāja; pārstrādājot sūkalas par biogāzi [53], [54], lielākā daļa no mikroorganismiem to tieši kā oglekļa avotu izmantot nevar [49]. Pie tam mikroorganismiem laktozes pārstrādei ir nepieciešami stingri noteikti apstākļi un dažādu papildus elementu piedevas [55], [56]. Skābo sūkalu zemā buferkapacitāte ir atbildīga par ātro bioloģiskā procesa paskābināšanās reakciju [57], bet zema pH veicina filamentu mikroorganismu augšanu [19]. Tāpēc tieši anaerobā pārstrāde ir vispiemērotākā metode

piensaimniecību notekūdeņiem ar augstu organisko saturu [29]. Tomēr par spīti atkritumu apjomu samazināšanai un enerģijas potenciālam, anaerobā pārstrāde nav pārāk izplatīta metode piensaimniecībās dēļ lēnajiem reakcijas ātrumiem, kas noved pie ilga hidrauliskā uzturēšanās laika un zemas procesa stabilitātes [2].

1.5.1 Sūkalu anaerobā pārstrāde

Tā kā sūkalām ir zema bikarbonātu sārmainība un piemīt tieksme ļoti ātri paskābināties dēļ ātrās biopārstrādājamības, to anaerobā pārstrāde ir problemātiska [58]. Papildus sārmainības nodrošināšana ir ļoti būtiska, lai izvairītos no anaerobā pārstrādes procesa apstāšanās [59]. Pie tam sūkalām ir zems slāpekļa un fosfora saturs attiecībā pret augsto ĶSP vērtību, tāpēc obligāts nosacījums ir papildus elementu piedevas pārstrādes procesa laikā [60].

Pārstrādes process ietver organiskās daļas degradēšanos ar mikroorganismu palīdzību anaerobos apstākļos, kas noved pie biogāzes veidošanās, kas sastāv pārsvarā no oglekļa dioksīda un metāna maisījuma, un biomasas veidošanās [61], [62]. Skābo sūkalu pārstrāde ir sarežģīts process, kas sastāv no sekojošiem soļiem:

1. Laktozes un proteīnu hidrolīzes;
2. Acetoģenēzes;
3. Acidoģenēzes;
4. Un metanoģenēzes [63].

Hidrolīzes procesa laikā rodas vienkāršāki, šķīstoši organiski savienojumi – gaistošās skābes un spirti. Procesā otrais posms acetoģenēze, ietver gaistošo savienojumu pārvēršanu galvenokārt par tādiem substrātiem, kā etiķskābe vai acetāti un ūdeņradis, ko patērē metānu veidojošie mikroorganismi [22]. Saskaņā ar Audic u.c. [63], apmēram 90% no sūkalu hidrolizētās organiskās vielas tiek pārstrādātas biogāzē metanoģenēzes procesa laikā. Ir aprēķināts, ka no viena litra sūkalu ir iespējams iegūt 45 litrus biogāzes, kas satur 55% metāna un paredzamais ĶSP samazinājums ir līdz 80%. No katra litra ir iespējams iegūt 20 litrus CH₄, un ar šo daudzumu ir iespējams saražot 0.2 kWh enerģijas [64].

Misso pagasta govju fermā Zviedrijā gadā rodas apmēram 1 800 tonnas sūkalu, ko izmanto biogāzes ražošanai. Pārvēršot šīs sūkalās biogāzē, to enerģētiskais potenciāls ir 83 MWh [30].

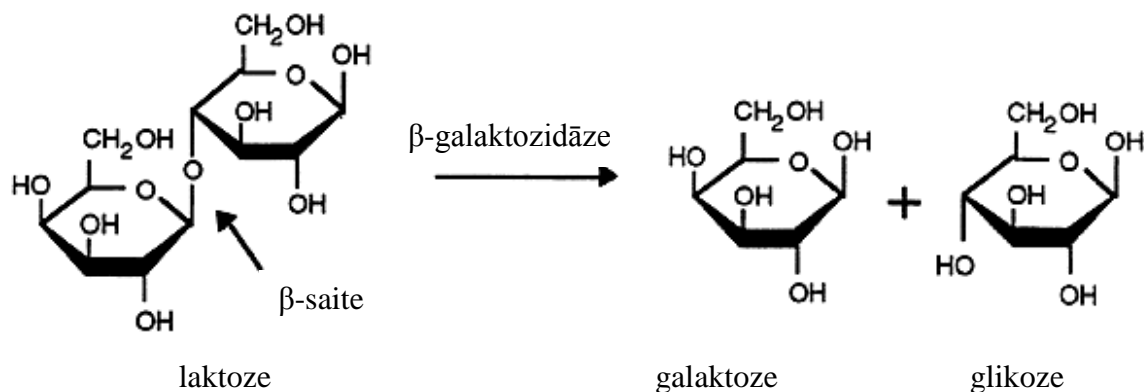
Malaspina u.c. [58] apgalvo, ka sūkalas ir sarežģīts anaerobās pārstrādes substrāts, īpaši reaktoros ar augstām pārstrādes iespējām, jo tām ir augsta organiskā slodze, zema bikarbonātu sārmainība (50 meq/L), tendence ļoti strauji paskābināties, ierauga granulācijas problēmas un

to tendence ražot pārāk lielu daudzumu viskozu polimērveidīgu materiālu, kas ievērojami samazina nogulšņu nosēšanās spēju un var būt iemesls biomasas izskalošani no reaktora. Tomēr attīstot tehnoloģijas un anaerobās pārstrādes sistēmas sūkalu pārstrādē, ir pierādīts, ka tās ir ļoti vērtīga izejviela enerģijas ieguvei. Tā kā anaerobā pārstrāde ir bioķīmisks process, kas tiek nodrošināts ar dažādu mikroorganismu konsorciju, kas ir ietvertas kompleksu lielmolekulāru organisku savienojumu pārstrādē par metānu, jebkāds stress vai traucējums var izraisīt pārmaiņas sugu tipos un to relatīvajos populācijas daudzumos, kas tūlītēji var atspoguļoties reaktora darbībā.

1.5.2 Galveno sūkalu savienojumu anaerobā pārstrāde

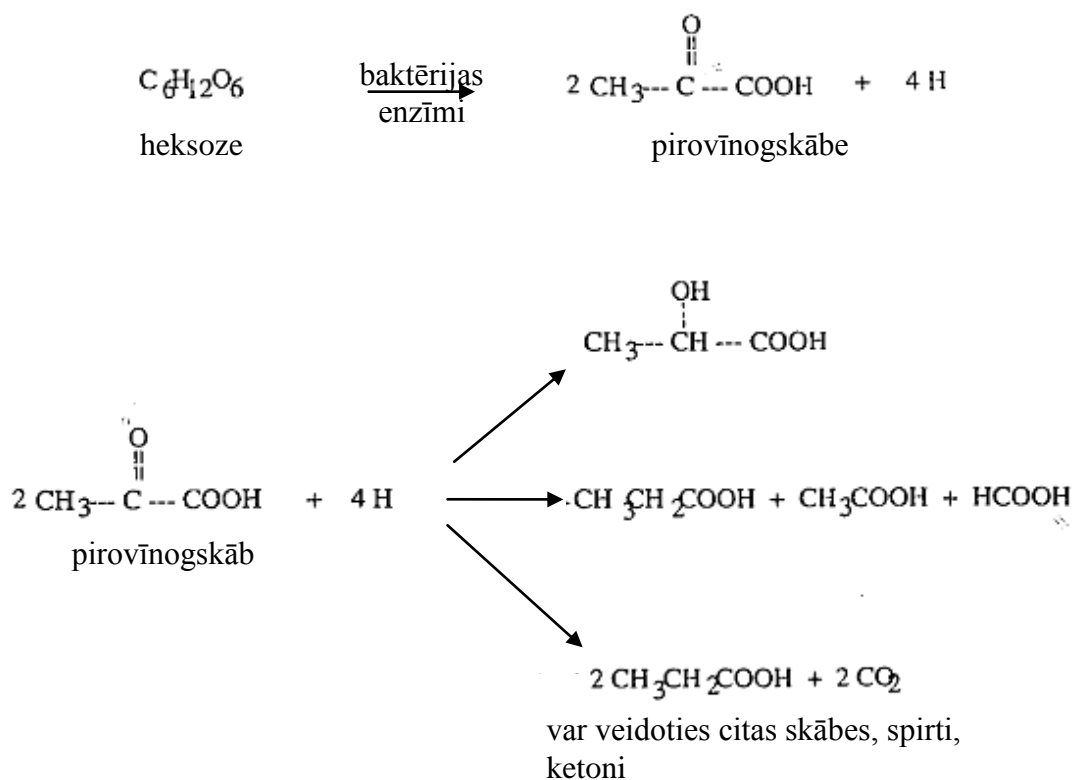
Lielāko daļu no sūkalu organiskās slodzes rada piena cukurs - laktoze un olbaltumvielas, kā arī neliels daudzums tauku.

1.9. attēlā ir redzams, ka laktoze ir disaharīds, kas sākumā tiek hidrolizēta šūnu ārpusē ar eksoenzīma β -galaktozidāzes palīdzību, iegūstos heksozes - divus monomērus – glikozi un galaktozi, kas satur sešus oglekļa atomus.



1.9. att. Laktozes struktūra un hidrolīzes produkti

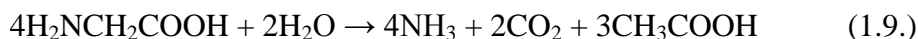
Taču predominantais monosaharīds ir glikoze un tipiskais vielapmaiņas cikls monosaharīdu pārstrādē ir Embden-Meyerhof-Parnas glikolīzes cikls (skat. 1.10. att.).



1.10. att. Glikolīzes un skābju veidošanās shēma [65]

Tālāk glikoze tiek pārstrādāta fakultatīvi anaerobo baktēriju šūnu iekšienē.

Pēc laktozes, sūkalas satur palielu saturu proteīnu, galvenokārt, kazeīnu (līdz 5 masas %). Proteīni ir kompleksi, lielmolekulāri savienojumi ar lielu virsmas laukumu. Proteīni sastāv no aminoskābēm. Saskaņā ar to struktūru, tās satur aminogrupas (-NH₂) un karboksilgrupas (-COOH). Izmantojot eksoenzīmus - proteāzes vai peptidāzes, tiek pāršķeltas ķēdes un atbrīvotas aminoskābes, kas var iekļūt šūnu iekšienē. Tālāk degradācijas rezultātā veidojas organiskās skābes un amonjaks [22]:



1.6 Problēmas un iespējamie risinājumi sūkalu anaerobajā pārstrādē

Norrmejerier [66] veica piena atkritumu biogāzes staciju atsekošanu un ieguva sekojošus secinājumus efektīvai sūkalu pārstrādei:

1. Tauki pirms anaerobās apstrādes ir jāaizvāc ar flotācijas palīdzību un jāapstrādā atsevišķi.

2. Pildījuma materiāli biomasas imobilizācijai reaktoros nav piemēroti dēļ aizsērējumu problēmām.
3. Ir ieteicami nepārtraukta tipa reaktori ar maisīšanu.
4. pH regulācija ar NaOH ir obligāta.
5. Nepieciešamība pēc sārmainības uzturēšanas NaHCO_3 formā ir neliela.

Uzsākot darbināt reaktoru ar piena atkritumiem, ir nepieciešams uzsākt pakāpenisku ierauga adaptāciju un sākumā uzturēt nelielu slodzi. Lai novērstu iespējamo nestabilitāti procesa sākumā, ir dažādi ieteikumi: NaHCO_3 pievienošana vai zema sākotnējā organiskā slodze [67]

Daudzi autori rekomendē izvēlēties divu fāžu reaktorus, kur hidrolīzes/acidogēnā un metanogēnā fāze ir nodalīta [18], [58], jo tad process ir mazāk jutīgs pret izmaiņām, tam ir vieglāk regulēt pH un šāds process ir visērtākais viegli pārstrādājamu piensaimniecības atkritumu pārstrādē.

1.7 Specifiski sūkalu anaerobajā fermentācijā izmantojamie reaktori un to sistēmas

Sūkalu pārstrādē var tikt izmantoti dažāda tipa reaktori, taču vieni no visbiežāk izmantotajiem ir anaerobie filtri (AF) un pretplūsmas anaerobie reaktori (PAR). Šādu tipu reaktoriem optimālās ieejas plūsmas ĶSP vērtība ir robežās no 12-60 g ĶSP/L . ĶSP samazināšanas pakāpe ir robežās no 85-99% pie HUT vidēji 6 dienas un OLR 2-7.3 g ĶSP/L/d . Papildus sūkalu pārstrādē vēl tiek izmantoti hibrīdie reaktori un anaerobie sekvencējošie vienreizējās ielādes tipa reaktori (ASBR) [2].

ASBR sistēmas spēj samazināt ĶSP par 62 līdz 75% pie HUT sešas dienas [68]. Viens no visbiežāk izmantotajiem veidiem anaerobās pārstādes darbības uzlabošanai augstās slodzes reaktoros ir pietiekama un piemērota priekšapstrādes metožu izmantošana [2]. Sūkalu atšķaidīšana un divu apstrādes metožu izmantošana – bioloģiskās un ķīmiskās, ir vēl viena iespēja samazināt procesa nestabilitāti un zemās efektivitātes problēmas, kas rodas dēļ augstās organiskās slodzes. Fizikālķīmiskās apstrādes metodes ļauj daļēji samazināt organisko slodzi, nogulsnējot proteīnus un taukus ar dažādu ķīmisku savienojumu palīdzību, piemēram, ar alumīnija sulfātu, dzelzs hlorīdu vai sulfīdu [69], [70]. Tomēr, tā kā reaģentu izmaksas ir dārgas un ĶSP samazinājums ir neliels, izmantojot fizikālķīmiskās metodes, bioloģiskā apstrāde ir ieteicamāka [71].

Dažādu pētījumi rezultāti par sūkalu anaerobo pārstrādi ir apkopoti tabulā 1.4. Var redzēt, ka vislielāko metāna potenciālu ir iespējams iegūt no divpakāpju procesiem, kuros apvienoti divi dažādi reaktori CSTR un UASB. Šajā gadījumā ir iespējams sasniegt metāna ražību $7 \text{ Nm}^3\text{CH}_4\text{m}^{-3}\text{d}^{-1}$ ar ļoti īsu uzturēšanās laiku. Šī sistēma pierādījusi savu spēju efektīgi darboties ar augstām organiskām slodzēm sūkalu pārstrādes gadījumā. Īpaša acidogēnās fāzes atdalīšana spēj optimizēt notekūdeņu pārstrādi ar augstu oglekļa saturu, kas nodrošina augstu substrāta degradējamības pakāpi metāna ražošanas laikā.

Dažādi sūkalu pārstrādes veidi un raksturojošie parametri

Notekūdeņu raksturojums	Reaktora tips	pH	T (°C)	HUT (d)	OS (kg ĶSP/m ³ /d)	Ieejas ĶSP (kg/m ³)	Izejas ĶSP (kg/m ³)	ĶSP samazinājums (%)	Biogāzes ražība	% CH ₄ biogāzē	Reference
Nepaskābināti notekūdeņi (vienpakāpes UASB reaktori)											
Mazgājamo ūdeņu	UASB	7.8	35	0.5	4.6	2.34	0.065	97	0.32 m ³ CH ₄ kg ⁻¹ ĶSP	80-88	[72]
Sintētiskās sūkalas	UASB	6.99	35	0.8	12.97	10.4	NU	92	4.24 m ³ biogāzes m ³ d ⁻¹	63	[73]
Neatšķaidītas sūkalas	UASB	7.0	35	2.3-11.6	1-28.5	5-77	Līdz 5	>85	NU	NU	[20]
Atšķaidītas sūkalas	UASB	7.0-7.3	35	6	2.0-7.3	12-44	<1	85-99	NU	68-74	[74]
Neatšķaidītas sūkalas	UASB kaskāde	7.8-8.1	35	2.06-4.95	10.4-24.6	42.7-58.4	1.67-4.44	91.9-97.0	NU	NU	[29]
	UASB kaskāde	7.9-8.0	35	1.76-3.50	0.82-2.52	1.98-4.44	1.43-1.98	27.2-59.6	0.5 m ³ biogāzes kg ⁻¹ ĶSP	NU	

Piena un krējuma pārstrādes uzņēmuma notekūdeņi	CSTR + pretplūsmas filtrs	7.0-7.5	33-36	1.5	7	2-6	NU	95	10 m ³ biogāzes kg ⁻¹ d ⁻¹	75-80	[75]
Sintētiskas sūkalas	CSTR + pretplūsmas filtrs	7.4-7.7	35	4	2.75	11	NU	90	7.06 m ³ biogāzes kg ⁻¹ d ⁻¹	NU	[76]
Neatšķaidītas sūkalas	CSTR + AnMBR	7.29 - 8.51	37	4	3-19.78	11-80	1.03	98.5	0.15 m ³ CH ₄ kg ⁻¹ ĶSP	>70	[77]
Neatšķaidītas sūkalas	CSTR + PABR	8.01	35	4.4	13.2	58	3	94.2	12 m ³ biogāze m ³ /d	71.4	[78]
Sūkalas atšķaidītas ar izejas plūsmu	CSTR + 2 UASB	6.3-7.8	32-33	4	3.1-4.9	12.5-19.4	<3.5	80-92		NU	[79]
Atšķaidītas sūkalas	CSTR + UASB	6.4	30	0.49	19.1	9.34	<1.5	80-90		58.4	

1.8 Situācija Latvijā

Sūkalu atlikumi pašlaik ir būtiska nepilnība piena pārstrādes tehnoloģiskajā procesā. Latvijā gada laikā tiek pārstrādātas ap 460 000 t piena, no tām veidojas aptuveni 90 000 t skābo siera sūkalas. Pašlaik tās tiek bez maksas atdotas biogāzes stacijām, kā papildus barības vielas arī uz lopu fermām, vai izlietas uz lauksaimniecības zemēm. Bez tam piena pārstrādes uzņēmumos veidojas arī liels daudzums notekūdeņu ar zemu organisko vielu sastāvu, bet summāri augstu ŪSP, kas nosaka papildus izmaksas, pirms to novadīšanas kanalizācijas sistēmā. Ja piena pārstrādes uzņēmums organizē skābo siera suliņu un notekūdeņu izmantošanu biogāzes ražošanai, tas var iegūt divējādu labumu, proti, gan atgūt daļu no ražošanas procesā patērētās enerģijas, gan samazināt savus izdevumus par notekūdeņos paaugstināto ŪSP saturu.

1.9 Izmantojamās metodes anaerobā procesa raksturošanai

Metodes, kas balstās uz substrāta noārdīšanās noteikšanu, parasti ir kompleks metožu apkopojums. Substrāta noārdīšanās var tikt noteikta ar vairāku parametru palīdzību: gaistošā sausna (GS), ķīmiskais skābekļa patēriņš (ŪSP), izšķīdušais organiskais ogleklis u.c.

Anaerobās biodegradācijas testi tiek izmantoti, lai noteiktu vielu anaerobo biodegradējamību un metāna potenciālu, ko var iegūt no atkritumiem, kā arī lai novērtētu biodegradējamības ātrumu. Ir divi galvenie anaerobos procesus raksturojošie testi: bioķīmiskais metāna potenciāla tests un specifiskais metanogēnu aktivitātes tests.

1.9.1 Bioķīmiskais metāna potenciāla tests

Metāna potenciāls vai bioķīmiskais metāna potenciāls (BMP) tiek analizēts dažādiem organiskiem atkritumiem un tiek noteikts ar specifisko metāna ražošanu nenoteiktā laika vienībā. Tomēr praksē pārstrādes laiks ir noteikts un metāna potenciāls tiek noteikts ar ekstrapolācijas metodi, izmantojot metāna ražošanu laikā un izteikts, attiecinot uz atkritumu masas ($L \text{ CH}_4/\text{kg}_{\text{atkritumu}}$), tilpuma ($L \text{ CH}_4/L_{\text{atkritumu}}$), gaistošo savienojumu ($L \text{ CH}_4/\text{kg}_{\text{GS}}$) vai ŪSP ($L \text{ CH}_4/\text{kg}_{\text{ŪSP}}$) vienību [3]. BMP testu izmanto vienreizējās ielādes reaktoru eksperimentos, parasti tas ir neilga laika tests, kura ilgums nepārsniedz 1-2 mēnešus [80].

1.9.2 Specifiskais metanogēnu aktivitātes tests

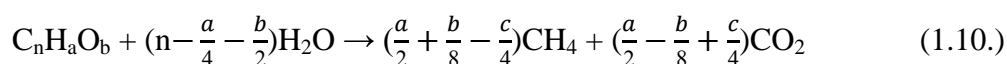
Anaerobās aktivitātes noteikšanai izmanto biodegradācijas testā iegūtos rezultātus. Aktivitātes tests fokusējas uz metāna produkciju un tāpēc tas ir piemērots substrāta analizēšanai, kas tieši ir pārvērsts metānā, acetātā, H₂, metanolā un formiātā. Vairums substrātu ir pārvērsti vairākos soļos, tādā veidā sekošana metāna ražošanai ir tikai netiešs rādītājs substrāta pārvēršanas aktivitātei, tāpēc aktivitātes testā izmanto tikai sākuma biogāzes ražošanas periodu [55]. Lai pareizi noteiktu perioda ilgumu, izmanto metāna kumulatīvās līknes. Izmantojamais periods ir pirmais stāvais vertikālā virzienā vērstais nogrieznis. Tālākajiem aprēķiniem izmanto tikai šajā periodā saražoto metāna tilpumu [58].

1.10 Teorētiskie aspekti biogāzes potenciāla aprēķināšanā

1.10.1 Teorētiskais biogāzes potenciāls

Kad organiskā masa tiek degradēta anaerobi, beigu produkti ir CO₂ un CH₄. Attiecība starp abām gāzēm ir atkarīga no materiālā esošā oglekļa oksidācijas pakāpes, t.i., jo vairāk ogleklis ir reducētā formā, jo vairāk metāna radīsies.

Ja materiāla sastāvs ir zināms un viss materiāls tiek pārvērsts biogāzē, teorētiskā metāna ražība var tik aprēķināta pēc Bušvela formulas:



1.7. tabulā ir parādīti tipisku anaerobai pārstrādei pieejamu organisku savienojumu raksturojošie parametri.

1.5. Tabula

Dažu organisko savienojumu anaerobās pārstrādes raksturojošie parametri [81]

Substrāta tips	Sastāvs	ĶSP/GS g/g	CH ₄ ražība L/g _{GS}	CH ₄ ražība L/g _{ĶSP}	CH ₄ saturs, %
Ogļūdeņraži	(C ₆ H ₁₀ O ₅) _n	1.19	0.415	0.35	50
Proteīni*	C ₅ H ₇ NO ₂	1.42	0.496	0.35	50
Lipīdi	C ₅₇ H ₁₀₄ O ₆	2.90	1.014	0.35	70
Etanols	C ₂ H ₆ O	2.09	0.730	0.35	75
Acetāti	C ₂ H ₄ O ₂	1.07	0.373	0.35	50
Propionāti	C ₃ H ₆ O ₂	1.51	0.530	0.35	58

*Slāpekļis ir pārveidots par NH_3

1.10.2 Praktiskais metāna potenciāls

Lai arī teorētiskais biogāzes potenciāla aprēķins dod vispārīgu ideju par atkritumu kvalitāti un potenciālo biogāzes ražību, praktiskā ražība, kas iegūta biogāzes reaktorā, vienmēr būs zemāka. Un to ietekmē vairāki faktori:

1. Daļa substrāta, parasti 5-10%, tiek izmantota jaunas biomasas sintēzei.
2. Samazinot HUT, daļa organiskās masas tiks aizvadīta ar izejošo plūsmu, parasti 10% (inertā masa).
3. Bieži daļa no organiskās masas ir nepārstrādājama sarežģītāku savienojumu dēļ.
4. Barības vielu un svarīgu elementu trūkums kavē pilnvērtību substrāta pārstrādi.

Pie labvēlīgiem apstākļiem var sasniegt substrāta degradācijas pakāpi līdz 90-95%. Ja organiskais materiāls ir ar augstu daļiņu vai struktūras pakāpi (kā, piemēram, celulozes gadījumā), normāla degradācijas pakāpe ir robežās no 30-60%.

1.11 Analīžu izvēle anaerobo procesu raksturošanai

1.11.1 KSP izmantošana

Bieži vien atkritumi, kurus vēlas pārstrādāt, satur kompleksu sastāvu, kas apgrūtina to pilnīgu raksturošanu. Visbiežāk izmantotais parametrs atkritumu raksturošanai ir KSP , kas izteikts kā $\text{g O}_2/\text{L}$ vai gaistošā sausna, kas izteikta kā g GS/L vai %.

Ķīmiskais skābekļa patēriņš ir skābekļa masas koncentrācija (mg/L), kas nepieciešama, lai oksidētu organiskās vielas vienā litrā parauga, pārstrādājot atkritumus aerobos apstākļos. KSP analīzes izmanto, lai noskaidrotu organisko vielu daudzumu paraugā. Lai to eksperimentāli noteiktu, ir jānosaka pilnīgai atkritumu oksidēšanai nepieciešamais ķīmiskais oksidējošas vielas daudzums. KSP tiek lietots kā skābekļa ekvivalenta mērs, kas vienāds ar parauga organiskās daļas saturu, kas pieejama spēcīgam ķīmiskam oksidētājam. Oksidēšanas laikā 90-95% no organiskās daļas tiek oksidēts.

Lai noteiktu KSP , izmanto spēcīgus oksidētājus, tādus kā kālija permanganātu (KMnO_4), cēzija (IV) sulfātu ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$), kālija jodātu (KIO_3) un kālija dihromātu ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Visbiežāk lietotais ķīmiskais reaģents ir kālija dihromāts. Mūsdienās KSP nosaka, izmantojot Hach Lange kivetes, kuras satur visas nepieciešamās komponentes. Rezultātus iegūst ar kolorimetrisko metodi, izmantojot fotometru.

1.11.2 Sausnas analīze

Sausna ir viens no nozīmīgākajiem rādītājiem biogāzes ražošanā. Biogāzes ieguves apjomu izšķiroši nosaka organiskās sausnas saturs kopējā sausnā, t.i., biogāzes ieguve litros no katra kilograma organiskās sausnas. Savukārt sausnas saturs dažādu izejvielu svaigajā masā ir visai atšķirīgs: no 5-10 % līdz 80-90%. Konkrētos apstākļos salīdzināšanai nepieciešamas arī laboratorijas analīzes par sausnas un organiskās sausnas saturu vienā vai otrā izejvielā [61]. Tāpēc arī pirms eksperimentu sākuma nepieciešams pārbaudīt sūkalu un ierauga sausnas saturu. Savukārt pēc fermentācijas paraugiem arī nosaka sausnas saturu, lai zinātu izmantoto sausnas daudzumu, nosakot procesa efektivitāti. Kopējā sausna tiek izteikta kā parauga masa, kas paliek pāri, paraugu izkarsējot 105° C.

Gaistošā sausna apraksta organiskās daļas saturu atkritumos, un tas tiek definēts kā vielas saturs, kas tiek pazaudēts pēc 1 stundas parauga izturēšanas 550 °C. Metode pamatojas uz faktu, ka lielākā daļa organikas sadegs šajā temperatūrā, kamēr lielākā daļa neorganisko savienojumu paliks. Abas metodes ir labi pielietojamas atkritumu raksturošanā. Biežāk ŪSP tiek izmantots notekūdeņu raksturošanā, bet GS – biezāku atkritumu, t.sk., sauso, raksturošanā.

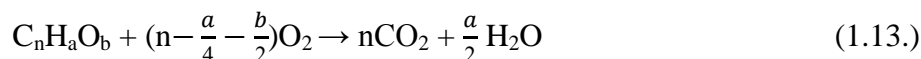
Ja organiskā materiāla sastāvs ir zināms, attiecību starp ŪSP un GS var aprēķināt, ņemot vērā pilnīgas oksidācijas attiecību. Kā piemērs tiek izmantota glikozes oksidācija (skat. vienād. 1.14), un ar vienādojumu 1.15 parādīts ŪSP/GS aprēķināšanas piemērs.



$$\text{ŪSP/GS} \rightarrow 6 \cdot 32 / 180 = 1.067 \text{g} - \text{ŪSP/g vs} \quad (1.12.)$$

Daudziem organisko atkritumu tipiem oglekļa oksidācijas pakāpe ir tuva nullei (kā, piemēram, glikozei) un šajā gadījumā ŪSP/GS attiecība būs tuva vienam.

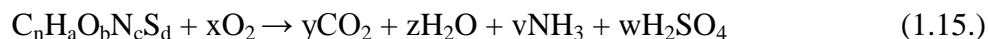
Vispārīgākā formā, organiskās masas oksidācija var tik aprakstīta sekojoši:



Un līdz ar to ŪSP/GS attiecība kļūst sekojoša:

$$\text{ŪSP/GS} = \frac{\left(n + \frac{a}{4} - \frac{b}{2}\right)32}{12n + a + 16b} \quad (1.14.)$$

Ja organiskā masa sastāv tikai no C, H un O, tad tā teorētiski pilnībā oksidējas par CO₂ un H₂O. Taču ja masa satur arī S un N, tad šie savienojumi paliek reducētā formā – H₂S un NH₃. Atkarībā no izvēlētās analīzes metodes un sāļu satura paraugā, S un N var tikt oksidēti dažādā pakāpē, tādējādi izmainot ŪSP vērtību. Līdz ar to savienojumam ir sekojoša formula – C_nH_aO_bN_cS_d, kas tiek oksidēts ar skābekli pēc sekojoša vienādojuma:



Atkarībā no vides apstākļiem, amonjaka vietā var tikt saražota HNO₃.

1.11.3 Gaistošo taukskābju analīze

Lielākā daļa no saražotajām gaistošajām taukskābēm ir: etiķskābe, propānskābe un sviestskābe, kā arī neliels daudzums skudrskābe, pienskābe, izobutirāti un valerāti. GTS var būt gan kā metāna veidošanās veicinātājs pie zemām koncentrācijām, tā inhibitors pie augstākām. Taču rezultāti rāda, ka atsevišķi metāna ražība, pH vai propionātu:acetātu attiecība nevar tikt uzskatīta par vienīgo ticamo parametru, lai noteiktu procesa nesabalansētību biogāzes reaktorā, kurā kā substrātu izmanto arī industriālos atkritumus [82].

1.11.4 FOS/TAC analīze

FOS/TAC attiecība var tikt izmantota kā efektīvs parametrs procesa stabilitātes novērtēšanai, un metode ir viegli pielietojama. Kā analīzes rezultāts tiek izmantoti divi parametri – kopējais organisko skābju (FOS) saturs un buferkapacitāte (TAC). TAC ir saīsinājums no kopējā neorganiskā oglekļa un parasti tiek izmantota mērvienība kā mg CaCO₃/L [83].

Anaerobās pārstrādes procesa stabilitāte var tikt novērtēta kā izmantojot atsevišķus parametrus (FOS un TAC), tā šo parametru attiecību. Piemēram, ja organisko skābju līmenis ir ļoti augsts (>10 g/L), tas liecina par nepilnīgiem metabolisma procesiem, kas var novērst pie inhibējošu procesu sākšanās. Taču, ja sistēmā ir pietiekama buferkapacitāte, tad inhibējošie procesi var tikt novērsti. Titrēšanas metode, ko mūsdienās pārsvarā izmanto FOS un TAC analīzei biogāzes stacijās, tika ieviesta 1968. gadā [84]. Saskaņā ar analītiskiem parametriem, mūsdienās analīzes tiek veiktas saskaņā ar Nordmana protokolu [85]. Nordmann (1977) izveidoja organisko skābju titrēšanas metodi, izmantojot pH reģionu 5.0-4.4 un titrējot ar 0.1 N sērskābes šķīdumu 20 ml filtrēta parauga. Lai novērtētu skābju koncentrāciju reaktora tilpumā, McGhee ieviesa testa sēriju, lai izveidotu metodi, ar kuru skābes patēriņš

tiek noteikts mērot pH izmaiņas konkrētā titrēšanas posmā. Kopējais skābju daudzums tiek aprēķināts sekojoši:

$$\text{FOS} = ((B * 1.66) - 0.15) * 500, [\text{mg}/\text{L}_{\text{HAc}}], \quad (1.16.)$$

kur B – skābes patēriņš, mL.

Bufertkapacitāte tiek noteikta, titrējot paraugu no sākotnējās vērtības līdz pH 5. Tā tiek aprēķināta pēc vienādojuma

$$\text{TAC} = A * 250 [\text{mg CaCO}_3/\text{L}], \quad (1.27.)$$

kur A - skābes patēriņš, mL.

Abu parametru attiecība FOS/TAC ir kļuvusi ļoti populāra biogāzes staciju procesa stabilitātes raksturošanai. Pēc tabulas datiem un FOS/TAC attiecības var secināt par biogāzes procesu norisi (skat. 1.6. tab.).

1.6. tabula

FOS/TAC iespējamās attiecības un ieteikumi

FOS/TAC attiecība	Secinājumi	Ieteikumi
>0.6	Ļoti pārmērīga substrāta ievade	Beigt piebarošanu
0.5-0.6	Pārmērīga substrāta ievade	Pievienot mazāk substrāta
0.4-0.5	Reaktors ir pārslogots	Uzmanīt reaktoru
0.3-0.4	Maksimāla biogāzes ražošana	Saglabāt nemainīgu biomasas ievadi
0.2-0.3	Substrāta ievade ir pārāk zema	Lēnām palielināt substrāta ievadi
<0.2	Substrāta ievade ir ļoti zema	Strauji palielināt substrāta ievadi

1.11.5 pH kontrole

Tā kā pH optimālajai vērtībai ir ļoti liela nozīme anaerobajā fermentācijā, tad pH mērīšana paraugos ir viena svarīgākajām pārbaudēm. Vienmēr pH pārbauda eksperimenta beigās, tā var izvērtēt vai eksperiments nav beidzies pH izmaiņu dēļ. Lai redzētu procesa gaitu, ieteicams pH mērīt arī eksperimenta laikā.

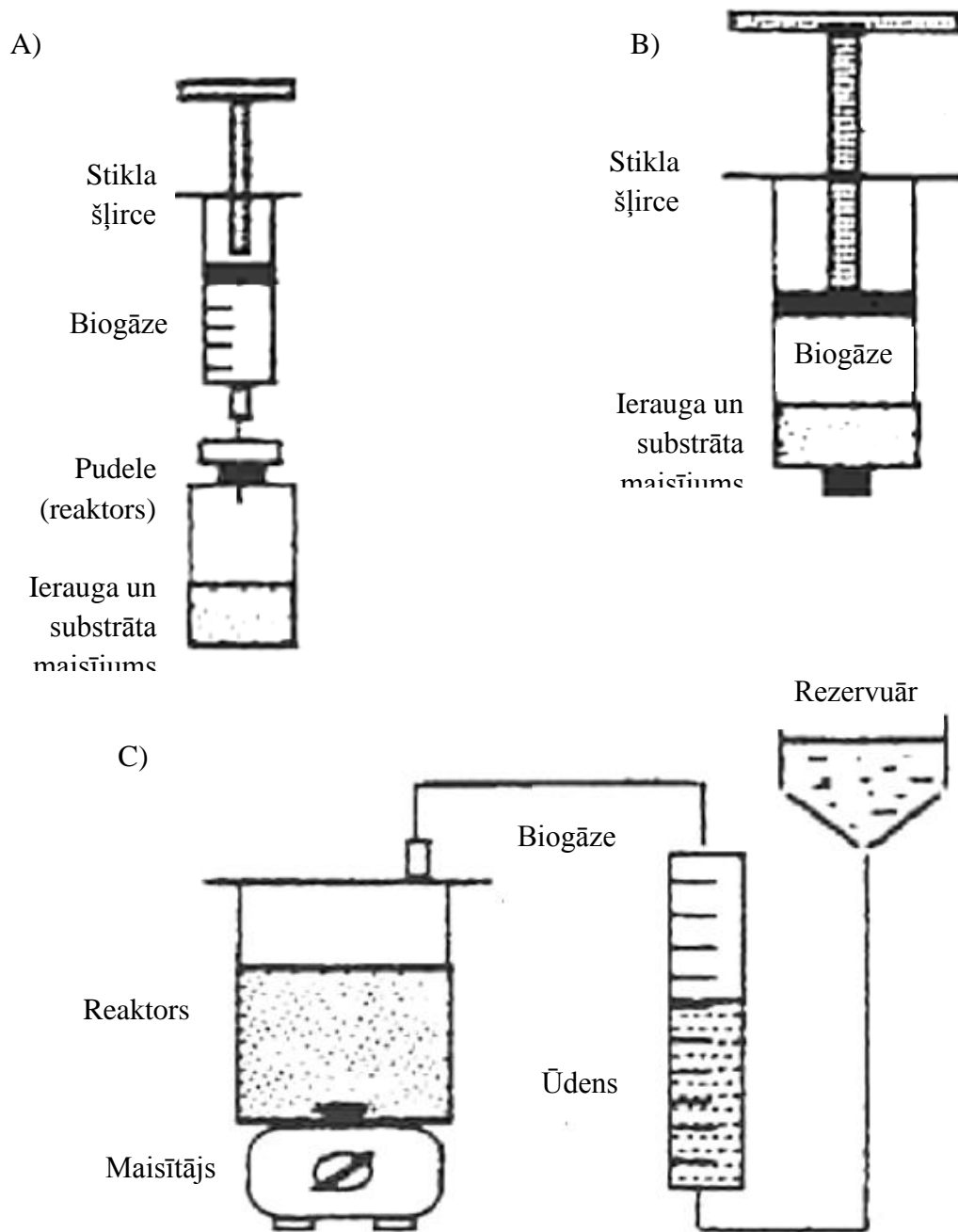
1.12 Gāzes tilpuma mērīšanas metodes

Biodegradācijas pārbaudes tiek izmantotas, lai izmērītu kāda produkta un produktu veidošanos bioloģiska procesa veidā, nosakot substrāta samazināšanās daudzumu. Metodes, kas tiek izmantotas, nosakot produkta veidošanos, var būt balstītas kā uz gala produkta (biogāzes), tā uz starpproduktu veidošanos (gaistošās taukskābes) daudzumu. Lielākā daļa no metodēm, pielietotām anaerobās pārstrādes gadījumā, balstās uz biogāzes ražošanas produktivitātes novērtēšanu. Biogāzes produktivitāte var tikt mērīta kā volumetriski, nosakot tilpuma izmaiņas pie konstanta spiediena, vai manometriski – nosakot spiediena izmaiņas konstantā tilpumā.

1.12.1 Volumetriskā metode

Volumetriskā metode tiek balstīta uz substrāta anaerobās pārstrādes laikā saražotās gāzes tilpuma noteikšanu. Var tikt mērīts kā kopējais saražotās biogāzes tilpums, tā tikai metāna tilpums, aizvācot oglekļa dioksīdu, parasti, izmantojot sārma šķīdumu. Tilpums tiek mērīts kā nosakot šļirces virzuļa pārvietoto attālumu (tilpumu), tā ar gāzes izspiestā ūdens tilpuma daudzumu (skat. 1.11. att.).

Ūdens izspiešanas metode ir viena no populārākajām biogāzes mērīšanas metodēm laboratorijās. Taču šai metodei ir jāņem vērā CO_2 šķīšanas īpašības ūdenī, līdz ar to tieša biogāzes mērīšana ar šo metodi var ienest sistemātisku kļūdu. Lai no tās izvairītos, iesaka pirms ūdens izspiešanas rezervuāra gāzi izlaist caur trauku, kas satur sārma šķīdumu, izšķīdinot tajā CO_2 , līdz ar to līdz ūdens traukam nonāks tikai CH_4 , kura šķīšana ūdenī ir ļoti ierobežota.

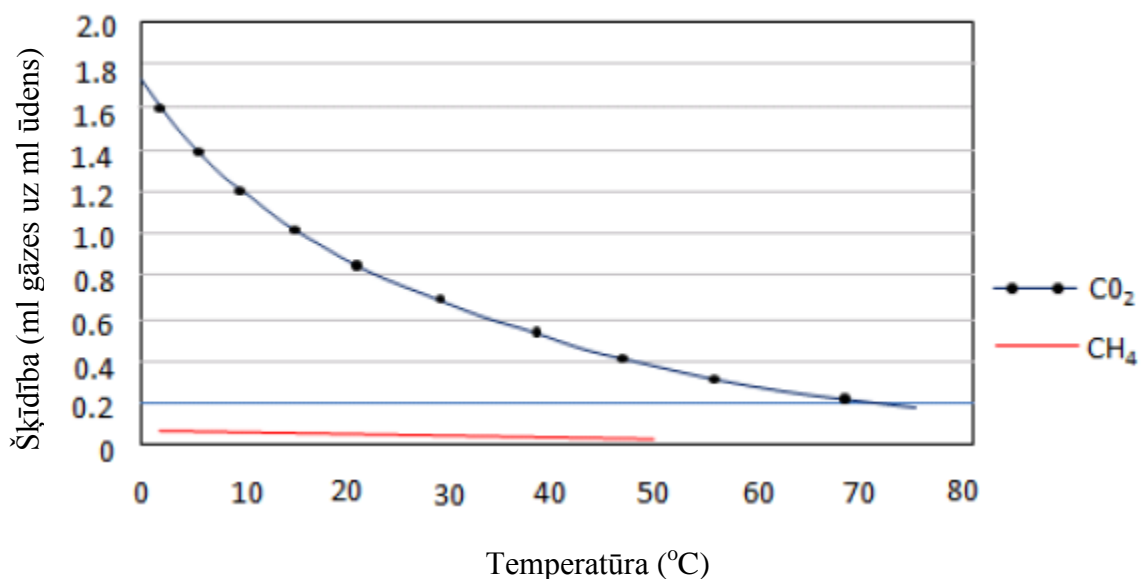


1.11. att. Dažādas biogāzes tilpuma mērīšanas metodes ar šļirci a) un b) un ūdens izspiešanas metodi c).

1.12.2 CO_2 ietekme uz mērījuma rezultātiem

Gāzu šķīdība pieaug, pieaugot spiedienam, bet samazinās, pieaugot temperatūrai. Metāns ir ūdenī maz šķīstošs oglekļa dioksīds, un principā tiek pieņemts, ka tā šķīdība ūdenī ir

nulle. CO₂ molekula ir ļoti polāra un tai ir augsta šķīdība ūdenī. Abu gāzu šķīdība ūdenī, atkarībā no dažādām temperatūrām, ir parādīta attēlā 1.12.

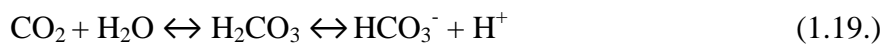


1.12. att. CO₂ un CH₄ šķīdība pie 1 atm un dažādām temperatūrām

Gāzes parciālais spiediens uzkrājējietelpā var tikt noturēts vienā līmenī. Bet CO₂ var hidratēties un disociēt šķīdumā, izmainot pH un citus faktoros. Reakcijas tiek aprakstīta vienādojumā:



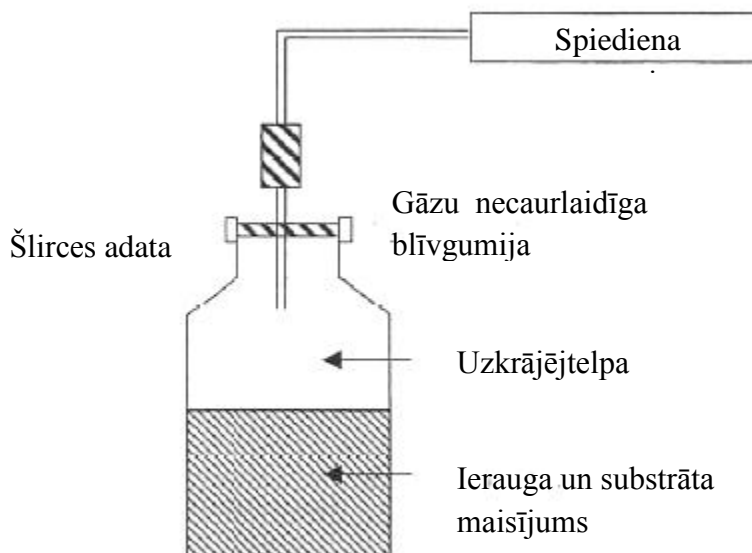
Ja pH vērtība ir < 8, karbonātionu koncentrācija ir neievērojama un hidratācijas reakcija var tikt izteikta kā:



Ja sārmainība nokrītas zem 1000 mg/L, pH sāk pieaugt ļoti strauji. Divas svarīgas komponentes ietekmē sistēmas pH – ogļskābe un gaistošās skābes. CO₂ koncentrācija gāzes fāzē tieši ietekmē ogļskābes koncentrāciju šķīdumā, kad CO₂ līdzsvars tiek veidots starp gāzi un šķīdumu. Tā kā CO₂ ir reizes 40-60 vairāk šķīstošs par CH₄ ūdenī anaerobos apstākļos, tad pat nelielas spiediena izmaiņas palielina CO₂ šķīdību un līdz ar to izmaina pH, kas pie zināma daudzuma var stimulēt CH₄ ražošanu, izmainot brīvā amonija koncentrāciju.

1.12.3 Manometriskās metodes

Manometriskās metodes ir veidojušās, izmantojot Varburga respirometru, ar kura palīdzību saražotā gāze konstantā tilpumā tiek mērīta uz spiediena palielināšanās rēķina. Manometra mērījumu princips ir parādīts attēlā 1.13.



1

1.13. att. Manometriskās gāzu mērīšanas metodes shematiska ilustrācija

Izmantojot spiediena metodi, gāzes tilpums tiek aprēķināts, izmantojot starpību starp spiedienu eksperimenta traukos un kontroles traukos. Šīs metodes galvenais trūkums ir šķīdumā izšķīdušais oglekļa dioksīds, tāpēc, lai iegūtu objektīvus biogāzes iznākuma rezultātus, eksperimenta beigās ir jānosaka šķīdumā izšķīdušais neorganiskais ogleklis.

1.13 Ieteikumi laboratorijas eksperimentiem

1.13.1 Ierauga izvēle un sagatavošana

1.13.1.1 Ierauga tipa izvēle

Ieraugam jābūt svaigam, uzglabātam ne vairāk par pāris dienām un iegūtam no aktīva anaerobā reaktora, piemēram, no aktīvo dūņu reaktora vai lauksaimniecības reaktora.

Ieraugam jāsaturs plašs mikrobioloģiskā sastāva klāsts, lai nodrošinātu dažādu substrātu nelimitējošu pārstrādi. Ja, piemēram, ieraugs, kurš tika izvēlēts, iegūts no reaktora, kur izmanto viena tipa substrātu, būtu vēlams piejaukt klāt ieraugu no cita reaktora. Taču ieraugu

vajadzētu izvēlēties pēc līdzīga substrāta pārstrādes principa, lai novērstu iespējamu inhibīcijas risku.

Lai arī aktīvo dūņu reaktora ieraugs tiek izmantots ļoti bieži, tomēr jāņem vērā, ka saturošais hidrolītisko/fermentatīvo baktēriju kopums nevar pārstrādāt visa spektra organiskos savienojumus. Esošās populācijas aklimatizācija noteikta substrāta pārstrādei var prasīt ilgstošu laika periodu, lai spētu saražot nepieciešamo enzīmu dotā materiāla degradēšanai un arī populācijas pieaugumam. Pie tam var paiet ilgs laika periods (dienas, mēneši), kamēr sākas kāda specifiskāka organiska savienojuma patērēšana. Piemēram, Battersby un Wilson [86] ziņoja, ka fenolu degradācija tika sākta pēc sešu dienu lag-fāzes, izmantojot aktīvo dūņu ieraugu. Taču citā pētījumā Colleran ziņoja [87], ka fenola degradācija, izmantojot aktīvo dūņu ieraugu, sākās tikai 50 dienas pēc eksperimenta sākuma.

Ierauga kvalitātes raksturošana ir svarīgs aspekts anaerobā reaktora darbības stratēģijas izveidošanā, jo atkarībā no aktivitātes testa rādījumiem, organiskās slodzes daudzums var tikt palielināts vai arī samazināts, lai uzlabotu sistēmas darbību un iegūtu stabilus apstākļus. Ierauga aktivitāte arī ir svarīga, lai paredzētu specifisku atkritumu metanizācijas raksturlielumus. Augstāka metanogēnu aktivitāte sekmē paskābināšanas novēršanu, jo tāds ieraugs spēj pārstrādāt lielāku metabolītu – ūdeņraža, acetātu un gaistošo taukskābju daudzumu, novēršot to akumulēšanos.

1.13.1.2 Ierauga daudzuma izvēle

Ierauga daudzums var sastādīt 10-80% no kopējā eksperimenta tilpuma, bet izvēle ir atkarīga no ierauga aktivitātes un biomasas koncentrācijas. Piemēram, ieraugs, kurš ņemts no kūtsmēslu pārstrādes reaktora, tipiski satur 2-3% gaistošās sausas, savukārt granulētais ieraugs – vismaz 10% gaistošās sausas. Pie tam granulārajā ieraugā lielākā daļa no gaistošās sausas veido mikrobioloģiskā biomasa, kamēr lauksaimniecības ieraugā gaistošo sausu pārsvarā veido grūti noārdāmi pārpalikumi, kas pārsvarā satur lignocelulozi, nevis biomasu. Pie tam ierauga gaistošās sausas attiecība ir nederīga, ja nav zināma grūti pārstrādājamās daļas un mikrobioloģiskās biomasas sausas attiecība [3].

Ierauga koncentrācijai ir jābūt pietiekami augstai, ja izmantots ieraugs ar salīdzinoši zemu aktivitāti (specifiskā metanogēnu aktivitāte (SMA) apmēram 0.1 g $\text{ĶSP-CH}_4/\text{gGS/d}$). Izmantojot augsti aktīvu granulāro ieraugu (SMA apmēram 0.5 g $\text{ĶSP-CH}_4/\text{gGS/d}$), tā koncentrācija var būt robežās no 10-20%.

1.13.1.3 Ierauga sagatavošana

Pirms ierauga izmantošanas, to „atgāzē” jeb veic pirmsinkubāciju, lai pilnībā tiktu biodegradēts ieraugā esošais organiskais materiāls. Pirmsinkubācija tiek veikta tajā pašā temperatūrā kā reaktorā, no kura ieraugs paņemts. Atgāzēšana ir jāveic tik ilgi, kamēr nav tālāk novērojama metāna veidošanās, parasti tas var aizņemt 2-5 inkubācijas dienas [55].

1.13.2 Minerālvielu un sāļu vide

Ir nepieciešamas uzturvielas, mikroelementi, vitamīni, lai nodrošinātu optimālu anaerobo mikroorganismu darbību. Uzturvielu videi jāpievieno makro- un mikroelementi, bufervielas, vitamīni utt., ja vien nav zināms, ka ieraugs vai substrāts satur nepieciešamos elementus.

Tabulās 1.7., 1.8. un 1.9. redzams optimālais vides sastāvs, ietverot makro-, mikroelementu un vitamīnu saturu [81].

1.11. tabula

Ieteicamā pievienoto vitamīnu, mikro- un makroelementu tabula

Nosaukums	Pievienotais daudzums	Mērvienība
NH ₄ Cl	1	g
NaCl	0.1	g
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0.1	g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.05	g
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0.4	g
Vitamīnu komplekss	0.3	mL
Mikroelementu šķīdums	0.5	mL

1.12. tabula

Mikroelementu šķīduma sastāvdaļas

Nosaukums	Pievienotais daudzums	Mērvienība
Etiķskābes anhidrīds	0,77	g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	3,00	g
MnSO ₄ ·H ₂ O	0,50	g
NaCl	1,00	g

FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,10	g
CoSO ₄ ·7H ₂ O	0,18	g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,10	g
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,18	g
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,01	g
KAl(SO ₄) ₂ ·12H ₂ O	0,02	g
H ₃ BO ₃	0,01	g
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,01	g
NiCl ₂ ·6H ₂ O	0,03	g
Na ₂ SeO ₃ ·5H ₂ O	0,30	mg
Destilēts ūdens	1000,00	mL

1.13. tabula

Vitamīnu kompleksa sastāvs

Nosaukums	Pievienotais daudzums	Mērvienība
Biotīns	2,00	mg
Folijskābe	2,00	mg
Piridoksīna hidrohlorīds	10,00	mg
Tiamīna hidrohlorīds	5,00	mg
Riboflavīns	5,00	mg
Nikotīnskābe	5,00	mg
D-Ca-pantotenāts	5,00	mg
Vitamīns B12	0,10	mg
p – aminobenzoskābe	5,00	mg
C ₈ H ₁₄ O ₂ S ₂ ,	5,00	mg
Destilēts ūdens	1000,00	mL

Literatūras apskata kopsavilkums

Atjaunojamo energoresursu īpatsvars kopējā resursu patēriņā pieaug ļoti strauji un lielākās daļas Eiropas valstu vēlme iegūt savu neatkarīgu enerģijas ieguves tirgu ir milzīgs dzinējspēks biogāzes ieguves potenciāla pilnvērtīgai izpētei. Tomēr izvērtējot literatūras apskatā analizēto zinātniskās literatūras informāciju, var secināt, ka neskatoties uz ilggadīgu anaerobās pārstrādes pētniecību un sekmīgu pielietošanu biogāzes ieguvē, inovatīvu tehnoloģiju ieviešana sarežģītāku substrātu pārstrādē nav plaši izplatīta.

Nākotnes intereses būtu saistītas ar jaunu tehnoloģiju izstrādi dažādu pārtikas atkritumu anaerobajā pārstrādē. Tomēr iespējamu inovatīvu pārstrādes procesu ieviešanu kavē potenciāli lielākas sākotnējās investīcijas un raizes par iespējamu procesa nestabilitāti.

Kaut arī skābās sūkalas ir vērtīgs atlikums piena pārstrādes rūpnīcās, kas satur kā olbaltumvielas, kā dažādus vērtīgus elementus, tomēr to pārstrāde ir ierobežota. Tā kā anaerobās pārstrādes izmantošana rada kā vērtīgu produktu – biogāzi, tā samazina vides piesārņojumu, tad sūkalas var tikt uzskatītas par vērtīgu substrātu alternatīvo enerģiju ieguvē. Tomēr tieša sūkalu anaerobā pārstrāde, neizmantojot atšķaidīšanu vai ko-fermentāciju, ir liels izaicinājums dēļ to zemās pH vērtības (<6.0), zemās buferkapacitātes un ātro paskābināšanas procesu dēļ. Līdz ar to biogāzes ieguve bez ārējas pH koriģēšanas sistēmas ir principā neiespējama, kas rada tehnoloģijas ieviešanas izmaksu sadārdzināšanos.

Kopumā skābo sūkalu anaerobo pārstrādi var iedalīt trīs galvenos soļos: kompleksu atkritumu hidrolīze monomēros, šo produktu oksidēšana vienkāršās skābēs un CO₂, un metāna veidošanās, ko veic metanogēnās baktērijas, pārstrādājot acetātus, CO₂ vai ūdeņradi.

Aprēķinos tiek pieņemts, ka no viena litra sūkalu var iegūt 45 L biogāzes, kas satur 55% metāna un 45% oglekļa dioksīda un ŪSP samazinājums var sasniegt 80%. Ar iegūto biogāzi var saražot 20 Wh enerģijas.

Sūkalu pārstrādē var tikt izmantoti dažāda tipa reaktori, taču vieni no visbiežāk izmantotajiem ir anaerobie filtri un pretplūsmas anaerobie reaktori. Šādu tipu reaktoriem optimālās ieejas plūsmas ŪSP vērtība ir robežās no 12-60 g ŪSP/L. ŪSP samazināšanas pakāpe ir robežās no 85-99% pie HRT vidēji 6 dienas un OLR 2-7.3 g ŪSP/L/d. Papildus

sūkalu pārstrādē vēl tiek izmantoti hibrīdie reaktori un anaerobie sekvencējošie vienreizējās ielādes tipa reaktori.

Balstoties uz veikto literatūras apskatu, secināts, ka līdz šim inovatīvu risinājumu piedāvājums sūkalu anaerobajā pārstrādē ir ļoti ierobežots. Tādējādi disertācijas ietvaros veiktie pētījumi paver plašas iespējas tādu materiālu izstrādē, kas vienlaicīgi spēs nodrošināt kā pH korekciju biotehnoloģiskos procesos, tā dažādu iepriekš neizmantotu rūpniecisko atkritumu pielietošanu bioloģisku sistēmu darbības nodrošināšanai.

2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

2.1 Izmantotās iekārtas

2.1.1 Lauku emisijas skenējošā elektronu mikroskopija (SEM)

Ar Schottky tipa lauka emisijas SEM pētīta keramikas paraugu virsma, struktūra, tās morfoloģija, kā arī defekti. SEM pētījumi veikti mikrobioloģiskās biofilmas analīzei, sārmainā materiāla virsmas analīzei pirms un pēc fermentācijas.

Paraugi pirms analīzes tiek pārklāti ar zelta kārtiņu 15 nm biezumā. To veic ar uzputinātāju Emitech K550X.

Paraugu sagatavošana

Paraugu sagatavošana skenējošai elektronu mikroskopijai sastāvēja no četriem soļiem: fiksācijas, dehidrācijas, novietošanas uz parauga turētāja un pārklāšanas ar zeltu. Ar bioplēvi pārklātā granula tika izņemta no reaktora un ievietota 2 ml stobriņā, kurš saturēja 4% glutāraldehīda 0.1M fosfātu buferšķīdumā (pH 7.0). Paraugs uz 24 h tika ievietots +4 °C temperatūrā, lai aizkavētu metabolisma procesus un saglabātu paraugu nemainīgā stāvoklī. Tālāk tika veikta dehidrācijas procedūra. Fiksētā granula tika ievietota 2 ml stobriņā un, pēc kārtas aizvietojot, tika izmantoti sekojošas koncentrācijas etanola šķīdumi – 25, 50, 75, 95 un 100%. Katrā šķīdumā granula tika izturēta 10 minūtes, tad pārvietota uz nākamo šķīdumu. Šīs procedūras laikā pakāpeniski tika aizvietots ūdens ar etanolu.

2.1.2 FOS/TAC

FOS/TAC mērījumu veikšanai tika izmantota iekārta Pronova FOS/TAC2000 (Vācija).

Paraugu sagatavošana: iesver 5 g analizējošā šķīduma un pievieno 15 g dejonizēta ūdens. Paraugs tiek titrēts ar 0.1M H₂SO₄ šķīdumu. FOS un TAC vērtības tiek noteiktas, izmantojot pH mērījumu divos punktos – 7.0 un 4.4.

2.1.3 Slāpekļa sorbtometrija

Slāpekļa sorbtometrija, kas balstās uz Brunauera, Emeta un Tellera teoriju (BET) izmantota parauga virsmas laukuma noteikšanai. Analīzei izmantots Quantachrome QuadraSorb SI sorbtometrs. Pirms analīzes paraugus sasmalcina ahāta piestā. Analīzē izmantotā absorbcijas gāze ir slāpekklis, nesējgāze hēlijs. Degazācijas laiks 180 min, temperatūra 100 °C un parauga iesvars 0,3 – 0,5 g.

2.1.4 Rentgendifraktometrija

Paraugu fāzu analīzei izmantots PANalytical X-Pert Pro rentgenstaru difraktometrs (XRD). Difraktometra darba režīms: starojums Cu K α , $\lambda = 0,15418$ nm, K β filtrs: 0,020 nm bieza niķeļa folija, spraugas platums 0,5 mm un 5 mm, anodspriegums: 40 kV, anodstrāve: 30 mA, leņķa intervāls: 5,0° līdz 60,0°, laiks uz soli: 120,0 s, difraktogrammu uzņemšanas ātrums: 0,05 s.

2.1.5 DAPI metode

Lai noteiktu šūnu skaitu reaktora tilpumā, neliels suspensijas tilpums (0.1-1.0 μ l) tiek uzņemts uz filtra ar poru izmēru 0.20 μ m un diametrā 25 mm (Anodisc; Whatman) un fiksēts ar 3% formaldehīda šķīdumu 15 minūtes. Pēc tam paraugs tiek mazgāts ar sterilu destilētu ūdeni, žāvēts un iekrāsots ar 10 μ g/ml DAPI (4',6-diamidino-2- fenilindols, Merck) piecas minūtes. Šūnu koncentrācija suspensijā tiek noteikta, izmantojot epifluorescences mikroskopu, saskaitot 20 nejauši izvēlētos laukumus un nosakot vidējo vērtību (Ex: 340/380 nm; Em: >425 nm, dihromātiskais spogulis 565 nm, Leica DM, LB).

2.1.6 FISH metode

Lai noteiktu specifisku mikroorganismu īpatsvaru pret kopējo skaitu ieraugā vai reaktorā, tika izmantota Fluorescentā *in situ* hidridizācijas metode (FISH). FISH analīze tika veikta RTU Ūdens pētniecības laboratorijā (Dr.Sc.ing. L. Mežule vadībā). Paraugu sagatavošanas protokolu apraksta Ruģele u.c. [88].

2.1.7 FTIR metodes

Lai noteiktu cukuru pārstrādes ātrumu anaerobās fermentācijas laikā, tika izmantota Infrasarkanā Furjē spektroskopija (FTIR). Analīzes tika veiktas LU, Mikrobioloģijas un biotehnoloģijas institūtā. Paraugu sagatavošanas protokolu apraksta Ruģele u.c. [89].

2.1.8 ζ SP analīze

ζ SP analīzei nepieciešams sagatavot sūkalu paraugu kopējai ζ SP analīzei un filtrēto paraugu suspendētā ζ SP analīzei. Katram paraugam veic trīs paralēlos mērījumus. Kā arī jābūt references (tukšajam) paraugam, kurš sastāv tikai no destilēta ūdens, kas iepildīts Hach Lange ķivetē.

Parauga sagatavošana:

- paraugu homogenizē;

- izveido atšķaidījumu (1:4 - 0,5:2);
- pilda 0,2 mL Hach Lange kivetēs;
- ķivetes homogenizē;
- liek krāsnī 120 °C uz 2,5 stundām.

Suspendētā ĶSP parauga sagatavošana:

- iepilda paraugu 2x5 mL stobros, centrifugē 5000m⁻¹, 10 min;
- supernatantu nofiltrē caur 2µm filtru;
- izveido atšķaidījumu (1:4 - 0,5:2);
- pilda 0,2 mL Hach Lange kivetēs;
- liek krāsnī 120 °C uz 2,5 stundām.

Mērīšanai izmanto fotospektrometru.

2.1.9 Sausnas analīze

Paraugi saunas noteikšanai ar zemu saunas saturu tiek ievietoti stikla traukos: tilpums 30 ml, d-20mm, h-30mm. Parauga daudzums 20 - 25 g.

Metodika:

1. Nosvērt trauku.
2. Ievietot traukā paraugu un nosver to kopā ar trauku. Paraugiem, kas satur viegli gaistošas komponentes, fiksē augstāko stabilo rādījumu.
3. Ievietot paraugu ar trauku laboratorijas krāsnī $t=+105\text{ }^{\circ}\text{C}$, laiks 8 h.
4. Izņemt paraugu no laboratorijas krāsns un ievietot eksikatorā uz 20 min.
5. Veikt paraugu (kopā ar trauku) svēršanu, nosakot minimālo stabilo rādījumu.
6. Ievietot paraugu ar trauku laboratorijas mufelkrāsnī $t=+550\text{ }^{\circ}\text{C}$, laiks 0,5 h. Ieprogrammēt sekojošu temperatūras grafiku: 1.solis- no $t=+15\text{ }^{\circ}\text{C}$ līdz $t=+550\text{ }^{\circ}\text{C}$, laiks 1h; 2.solis $t=+550\text{ }^{\circ}\text{C}$, laiks 0,5 h; 3.solis- no $t=+550\text{ }^{\circ}\text{C}$ līdz $t=+130\text{ }^{\circ}\text{C}$, laiks 2h; 4.solis- $t=+130\text{ }^{\circ}\text{C}$, laiks 10h;
7. Kad temperatūra ir sasniegusi $t=+130\text{ }^{\circ}\text{C}$, jebkurā brīdī izņemt paraugu no krāsns un ievietot eksikatorā uz 20 min.
8. Nosvērt paraugu ar trauku. Fiksēt zemāko stabilo rādījumu.
9. Veikt aprēķinus.

2.2 Trauku eksperiments

2.2.1 Testa sagatavošana

Pirms eksperimenta uzsākšanas ir jāveic sekojošas darbības:

1. Eksperimenta plāna sastādīšana;
2. Ierauga un substrāta analīzes;
3. Minerālvielu un sāļu vides sagatavošana.

Pirms eksperimenta sākuma izveido plānu, kurā nosaka galvenos eksperimenta nosacījumus, kādas substrāta koncentrācijas izmantos eksperimentā, kādi būs pievienotie SM un ierauga daudzumi. Pirms testa ir jānosaka ĶSP sūkalām un sausnas analīzes sūkalām un ieraugam, iegūtos rezultātus izmanto eksperimenta plāna aprēķinos.

Pārbaudi veic vismaz ar trīs paralēlajiem paraugiem katram eksperimentam. Eksperimentu gatavo 100 mL seruma pudelītēs (skat. 2.1. att.). Lai biogāzei, kas veidojas biodegradācijas procesā, būtu pietiekami daudz vietas kur uzkrāties, tad pudelītes aizpilda līdz pusei vai 50 mL. Metāna veidošanos no ierauga nosaka tukšajos paraugos, kuros ir minerālvielu un sāļu vide vai ūdens, bet nav substrāts. Šajos paraugos iegūto metāna tilpumu atņem no metāna tilpuma, kas iegūts paraugu pārbaudēs.



2.1. att. Seruma pudeles ar paraugiem inkubatorā

Vispirms 100 mL pudelītēs pievieno SM, pievienotais materiāla daudzums ir 0.2, 0.5, 1.0, 1.5 vai 2.0 g_{SM}/g_{VS} . Atkarībā no eksperimenta un ierauga tipa, pievienotie daudzumi balstās uz ierauga sausnas rādījumiem. Tad pievieno nepieciešamo sūkalu daudzumu un minerālvielu un sāļu vidi un kā pēdējo veic ierauga pievienošanu katrai pudelītei. Pēc tam pudelītes izpūš ar N_2 , lai nodrošinātu anaerobu vidi. Pārbaudes pudelītes aizver ar gumijas korķi, pa virsu liek blīvi; uzspiež alumīnija korķi. Pudelītes liek inkubatorā $37\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ temperatūrā.

2.2.2 Mērījumu veikšana

Saražoto metāna daudzumu mēra ar graduētām šļircēm, kurās iepilda 3M NaOH šķīdums. Mērījumus veic pirmajās 2-3 dienās divas reizes dienā, turpmākajās eksperimenta dienās mēra vienu reizi dienā. Metāna tilpums tiek noteikts ar izspiestās gāzes tilpumu.

2.3 Sārmainā materiāla raksturošana

2.3.1 Materiāla raksturojums eksperimentam ar suspendēto ieraugu un titrēšanai

Sārmainā materiāla izstrāde tika veikta RTU Būvmateriālu un būvizstrādājumu katedrā D. Bajāres vadībā.

Sārmainās materiāls sastāv no alumīnija metālapstrādes atlikumiem, silikātu stikla atkritumiem, kalcinētiem kaolīna māliem. Lai iegūtu materiālu, tika izmantots sārmais aktivators ar dažādiem silikātu moduļiem. Sārmais aktivators tika pagatavots, izmantojot NaSiO_3 šķīdumu, kam piemīt silika modulis M_s 3.22. Lai materiāla iegūšanas procesa laikā iegūtu vajadzīgo porainību, papildus tika pievienots 7.5, 10.0 un 12.5 m% NaOH, samazinot M_s līdz 1.93 (SM 7.5), 1.67 (SM 10.0) un 1.41 (SM 12.5).

Pēc tam materiāls tika izliets veidnē un izturēts 24 stundas 80 °C. Iegūtā materiāla tilpumsvars tika iegūts sausiem prizmatiskiem paraugiem ar izmēriem 40x40x160 mm.

SM piemīt poraina struktūra ar plašu poru izmēru diapazonu. Tas raksturojams kā nehomogēns makroporains materiāls ar ietvertām mikroporām. Paraugiem ir sekojoši blīvumi: SM 7.5 - 580 to 600 kg/m³, SM 10.0 - 460-510 kg/m³, SM 12.5 - 370-420 kg/m³.

2.3.2 Eksperiments ar dažādām materiāla modifikācijām

Eksperimentam ar dažādām materiāla modifikācijām tika izmantots sārmais materiāls ar oksīdu attiecībām: $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ - 1.8, un $\text{SiO}_2/\text{Na}_2\text{O}$ - 3.8. Divas granulu frakcijas 2-4 mm un 4-5.6 tika izmantotas pētījumam. Iegūtajam materiālam piemīt sekojošas īpašības: blīvums: 570 kg/m³, atvērtā porainība 35-38%, kopējā porainība 81-84%. Izmantotas divas materiālu modifikācijas, kas atšķiras pēc materiāla izturēšanas apstākļiem pēc pagatavošanas. Eksperimentam izmantots svaigi pagatavots materiāls – CMN vai 6 mēnešus nostāvētināts materiāls CMA. Eksperimentam izmantota materiāla piedeva 0.6 g uz g GS.

2.3.3 Eksperiments ar diviem materiāla sastāviem

Divi materiālu sastāva izmantoti pētījumā – ar (AMS1) un bez (AMS0) stikla piedevas. Eksperimentā izmantotas granulas ar izmēru 2-4 mm. AMS1 satur nātrija silikāta stiklu, iegūtu stiklašķiedras ražotnē, materiāla sastāvu raksturo sekojošas attiecības: $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ 1.7, $\text{SiO}_2/\text{Na}_2\text{O}$ 3.3 un $\text{Na}_2\text{O}/\text{Al}_2\text{O}_3$ 0.5. AMS0 nesatur stiklu un to raksturo sekojošas attiecības: $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ 0.9, $\text{SiO}_2/\text{Na}_2\text{O}$ 3.5 and $\text{Na}_2\text{O}/\text{Al}_2\text{O}_3$ 0.2.

Pievienotā materiāla attiecība sastādīja 0.2, 0.5, 1.0 un 2.0 g uz gramu GS.

AMS1 satur lielāku SiO_2 and Na_2O daudzumu, kas materiālu titrēšanas līkņu ieguves laikā parādīja aktīvāku sārma izdalīšanās daudzumu, nekā AMS0 gadījumā.

2.4 Nepārtraukta tipa eksperiments

Nepārtraukta tipa fermentācijas tika veiktas, izmantojot 6.2 L stikla reaktoru (EDF-5.3_1, Riga, Latvia), ar darba tilpumu 4.5 L. Reaktors aprīkots ar magnētisko maisītāju, temperatūras (Pt-100) un pH (Ingold, Toledo 405-DPAS SC K8S/325) sensoriem. Automātiskā piebarošana tika veikta, izmantojot peristaltisko pumpi (LongerPump, BT100-2J, Baoding, Hebei, China), kas darbojās nepārtrauktas piebarošanas režīmā.

2.4.1 Nepārtraukta tipa eksperiments ar automātisko pH regulēšanu

Pirms eksperimenta sākuma tiek nodrošināta reaktora hermētiskuma pārbaude, izmantojot 1.5 bar virspiedienu un pārklājot savienojuma vietas ar putojošu šķidrumu potenciālas noplūdes gadījumā.

Pēc ierauga ielādes anaerobi apstākļi tiek nodrošināti, izpūšot reaktoru 5 minūtes ar slāpekļa gāzi.

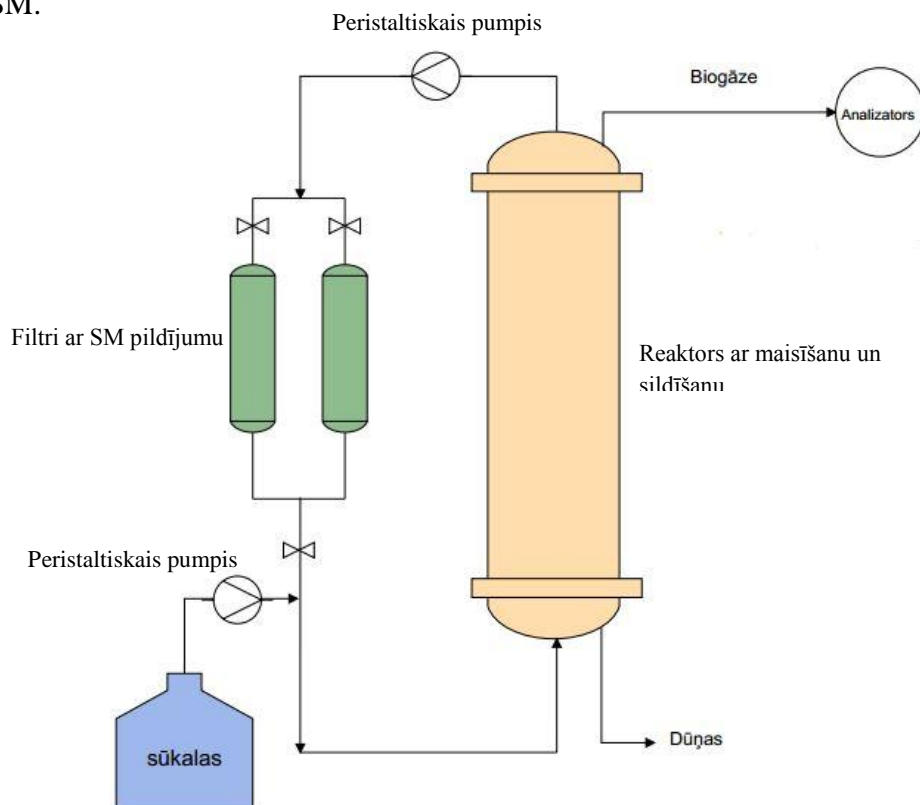
Tehnoloģiskie darbības parametri:

- Temperatūra – 37.4 ± 0.2 °C;
- Maisīšanas ātrums – 40 RPM;
- pH regulēšanai izmantots 3M NaOH šķīdums.

2.4.2 Nepārtraukta tipa eksperiments ar modificētu sistēmu pH regulēšanai ar sārmaino materiālu

Lai izvērtētu SM spēju uzturēt pH nepārtraukta tipa fermentācijā, tika veikta nepārtrauktas darbības režīma reaktora uzlabošana. Tika pievienota ārējā cilpa ar diviem

filtriem, piepildītiem ar SM, lai nodrošinātu nepārtrauktu procesu, materiāla apmaiņas gadījumā. pH regulācija tika veikta, izmantojot pH- metru, bet sārma šķidruma pievadīšanas vietā, notika digestāta recirkulācija no reaktora augšējās daļas uz zemāko caur filtru, kas satur SM.



2.2.att. Nepārtraukta tipa eksperimenta shematiskais attēlojums

Tika uzturēti sekojoši darbības parametri: $T - 37 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$, $\text{pH } 7.2 \pm 0.1$, maisīšana ar magnētisko maisītāju 90 RPM. Tika izmantots granulētais ieraugs un sākumā tika ievadīts 1 L granulu. Organiskās slodzes tika novērtētas, izmantojot FOS/TAC un GS vērtības.

2.4.3 Sārmainā materiāla sārma izdalīšanas spēju novērtējums

2.4.3.1 Statiskā sistēma

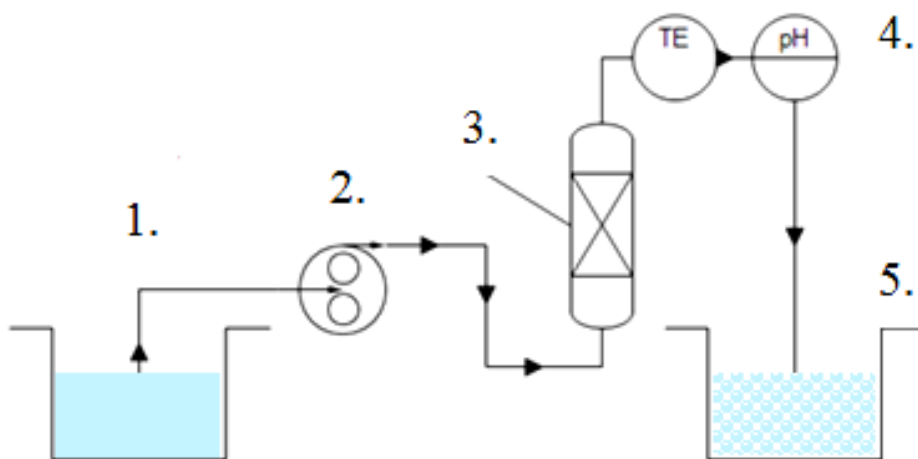
Lai izvērtētu spēju izdalīt sārma, kubiskas formas paraugi ar svaru 3.0 ± 0.1 g un ar malu izmēriem no 1.42-1.56 cm (skat. 2.3. att.), tika iegremdēti 100 mL destilēta ūdens slēgtā traukā. Katru dienu paraugi tika izņemti no ūdens trauka un ievietoti jaunā ūdens traukā, bet iepriekšējais šķidrums tika titrēts ar 0.1M HCl līdz pH sasniedz 7.0 un aprēķināts ekvivalents izdalītais sārma daudzums. Katram materiāla tipam tika veikti trīs paralēli mērījumi.



2.3. att. Sārmainā materiāla virsmas morfoloģija un iemērķšanas metodika

2.4.3.2 Dinamiskā sistēma

Lai izvērtētu materiāla spēju izdalīt sārmi noteiktā laika posmā, tika izgatavots poliuretāna filtrs, ar izmēriem 0.220:0.025 m (augstums:diametrs) un tajā iepildīts materiāls ar granulu izmēriem 2-4 mm (skat. 2.4 att.).



2.4. att. Aktīvā sārma izskalošanas testēšanas sistēma: 1. Destilēta ūdens tvertne; 2. Peristaltiskais pumpis; 3. Filtrs ar SM; 4. Temperatūras un pH sensors; 5. Trauks ar sārmaino šķīdumu, ko izmanto analīzēm.

Caur filtru ar peristaltiskā sūkņa palīdzību tika sūknēts ūdens. Reizi 15 min tika analizēts caur filtru izgājušā ūdens tilpums, izmantojot pH metru un titrēšanas metodi, lai noteiktu izskaloātā sārma daudzumu.

3. REZULTĀTU DAĻA

3.1 Skābo sūkalu nepārtrauktās fermentācijas novērtējums ar automātisko pH kontroli

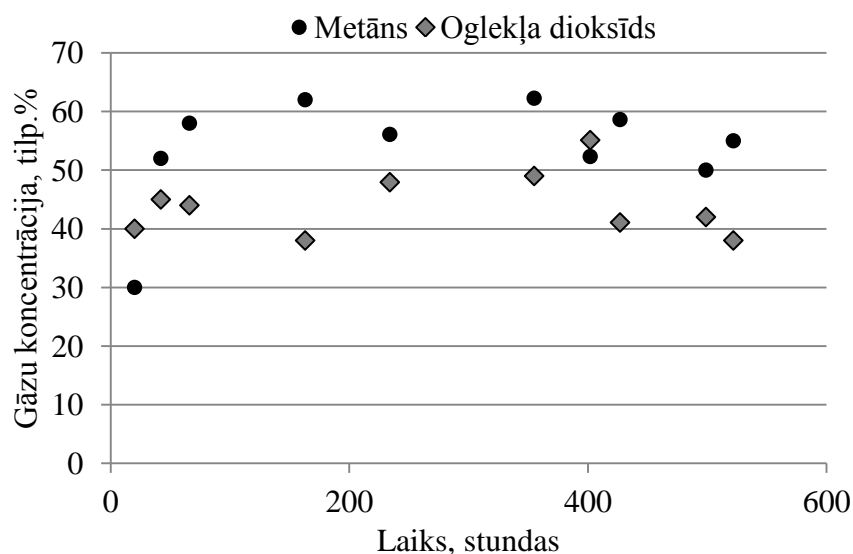
Lai novērtētu biogāzes ražošanas produktivitāti un dinamiku skābo sūkalu anaerobajā fermentācijā, izmantojot automātisko pH regulēšanas sistēmu, tika veikts eksperiments nepārtrauktas darbības reaktorā. Sūkalu piebarošanas profils tika piemērots pēc FOS/TAC attiecības.

Reaktorā tika ieliets 1,5 L ierauga no lauksaimniecības tipa 50 L reaktora. Tā kā anaerobās fermentācijas process tiek virzīts ar dažādu mikroorganismu palīdzību, kas piedalās dažādu kompleksu lielmolekulāru organisku savienojumu pārstrādē par metānu, tad jebkāds stress vai sistēmas disbalanss var novest pie sugu un attiecīgo populācijas līmeņu izmaiņām, kas var parādīties reaktora darbībā. Līdz ar to ieraugs, kas pievienots reaktoram, ir viens no svarīgākajiem faktoriem atkritumu anaerobajā pārstrādē [1]. Pareiza ierauga izvēle ir ļoti svarīga un atkarīga no substrāta sastāva (C:N:P, sārmainības). Piemēram, Gannoun ziņoja [2], ka priekš sūkalu anaerobās apstrādes ļoti piemērots ir ieraugs no augļu un dārzeņu anaerobā reaktora.

Divas nedēļas pirms eksperimenta uzsākšanas tika veikta ierauga adaptācija jaunajam substrātam, pievadot sūkalas tādā apmērā, lai nebūtu nepieciešama pH regulācija. Vidēji tika pievadīts 23.2 ml sūkalu diennaktī. Pirms eksperimenta uzsākšanas tika vēlreiz analizēts ieraugs.

Reaktora darbības princips ir aprakstīts pie metodēm (skat. sadaļu 2.4.).

Pirmajā periodā tika uzsākta automātiskā sūkalu piebarošana ar ātrumu 1.0 L/dn (HUT – 4.5 dienas). Jau pašā sākumā sāka veidoties biogāze, kas sastāvēja galvenokārt no CO₂ – 40 % (skat. 3.1. att.).



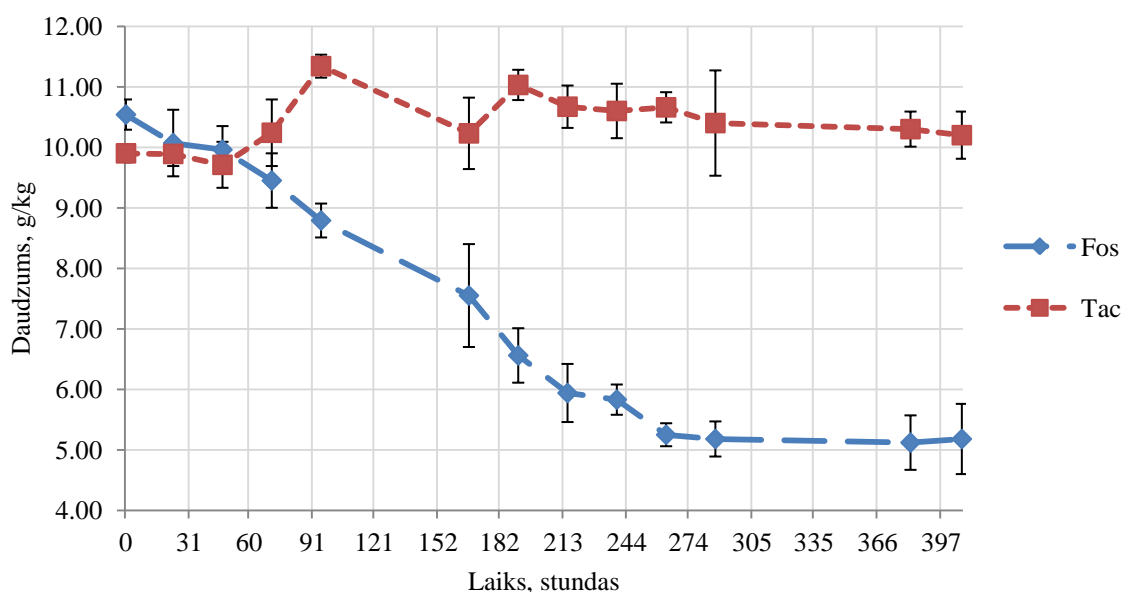
3.1.att. Metāna un oglekškabās gāzes procentuālās attiecības biogāzē

Pēc literatūras datiem, tā ir klasiska parādība anaerobos procesos, jo uzsākot reaktora darbību, lielāko daļu no biogāzes veido tieši oglekškabā gāze, jo metāna veidošanās sākas pakāpeniski. Pēc pirmās diennakts izanalizējot FOS un TAC attiecību (skat. 3.2. att.), uzrādījās, ka kopējā skābju attiecība reaktorā ir pārāk augsta – 10,75 g/kg, savukārt buferkapacitāte salīdzinoši zema – 9.89 g/kg. Šāda attiecība var novērst pie inhibējošu procesu sākšanās, tāpēc tika nolemts samazināt piebaroto sūkalu daudzumu līdz 0.5 L/dn (HRT – 9 dienas) un līdz ar to OS. Nākamās diennakts laikā FOS daudzums samazinājās par 1.02 g/kg. Piebarotais sūkalu daudzums trešajā dienā tika samazināts vēl līdz 0.3 L/dn (HRT – 15 dienas) un atstāts līdz eksperimenta beigām nemainīgs.

Šajā periodā sākās straujš metāna īpatsvara pieaugums biogāzē, sasniedzot maksimālo vērtību 68.9% otrajā dienā pēc esošā piebarošanas režīma uzstādīšanas.

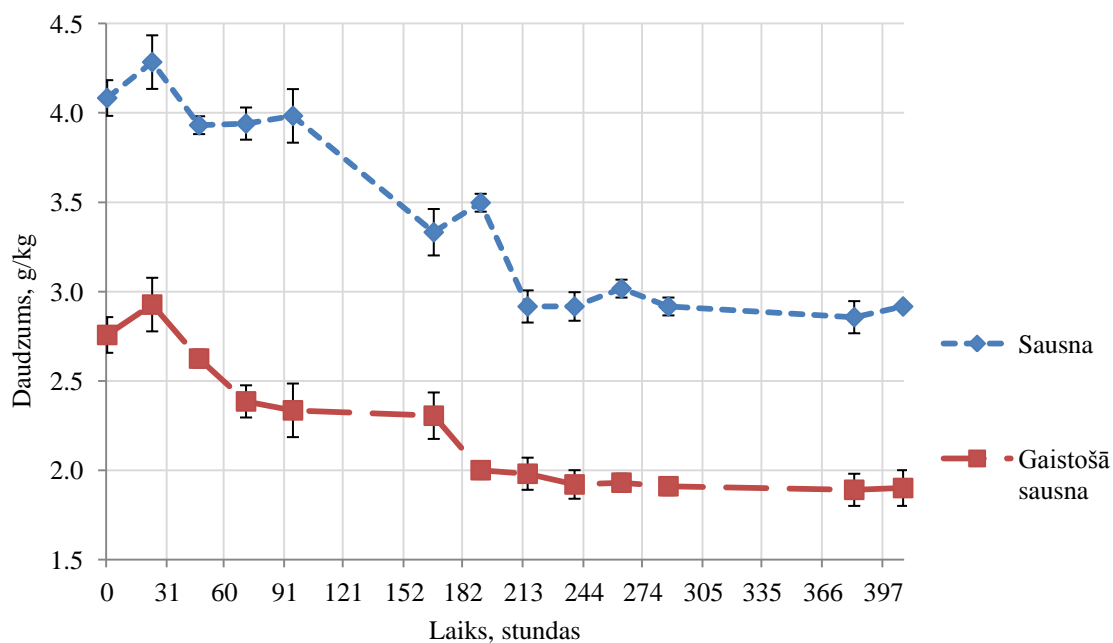
Vidējā biogāzes ražība sasniedza 483 ml uz 100 ml sūkalu.

FOS/TAC attiecība pakāpeniski uzlabojās, desmitajā dienā sasniedzot optimālo vērtību 0.49 un paliekot stabilai. FOS daudzums sasniedza stabilu lielumu un bija robežās 4.9-5.1 g/kg. Buferkapacitātes lielums bija robežās 10.5-10.6 g/kg. Līdz ar to netika pieņemts lēmums izmainīt organiskās slodzes daudzumu, jo process bija stabils.



3.2. att. Kopējo taukskābju (FOS) un buferkapacitātes (TAC) vērtības

Pēc kopējās un gaistošās sausnas analīzēm var redzēt, ka abas vērtības līdz ar režīma izmaiņām samazinās, beigās sasniedzot stabilu vērtību (skat. 3.3. att.).

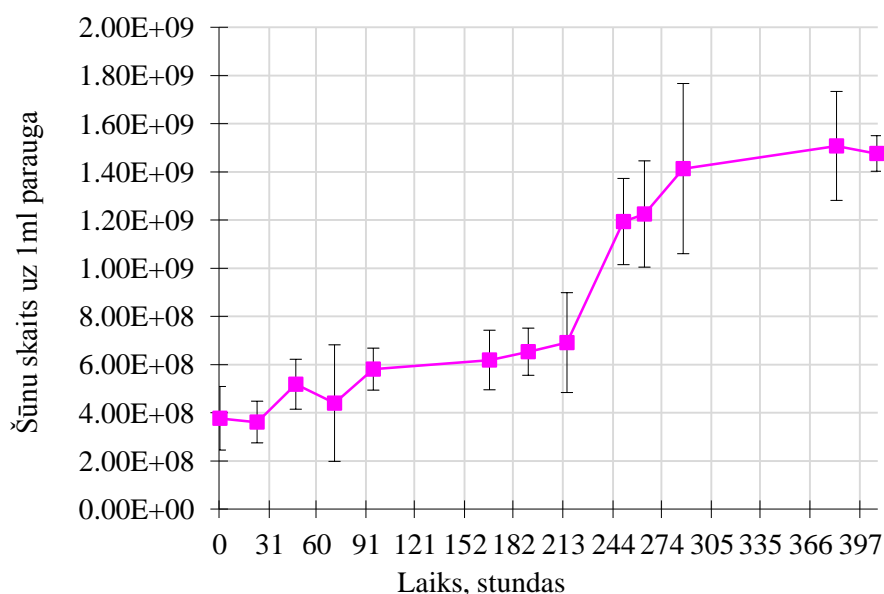


3.3. att. Kopējās un gaistošās sausnas mērījumi eksperimenta laikā

Analizējot ĶSP datus, secinām, ka 5. dienā ĶSP samazinājums ir 65.6%, savukārt 12. dienā tas sasniedz 85.4%, kas vērtējams kā efektīvs ĶSP samazinājums. Salīdzinot ar

literatūras datiem nākas secināt, ka, kaut arī process ir stabils un pietiekami efektīvs, tomēr šie procesa parametri tiek sasniegti pie diez gan augstas hidrauliskā uzturēšanās laika vērtības, kas varētu būt izskaidrojams ar to, ka mūsu procesā netiek veikta skābo sūkalu priekšapstrāde (proteīnu un tauku separācija vai hidrolīze) vai atšķaidīšana.

3.4. attēlā redzams, ka veicot kopēju mikroorganismu analīzi ar DAPI metodi, ievērojama mikroorganismu skaita palielināšanās vērojama, sākot ar astoto dienu, kas sakrīt ar optimālu FOS/TAC attiecības iegūšanu un procesa stabilizēšanos.



3.4. att. Kopējā mikroorganismu skaita izmaiņas reaktorā procesa laikā

3.2 FTIR metodes izmantošana anaerobajā pārstrādē

Lai raksturotu ar ogļhidrātiem bagātu atkritumu anaerobo pārstrādi, to patēriņa raksturošanai var tikt izmantotas dažādas analītiskās metodes – šķidrums vai gāzes hromatogrāfija, kā arī Furjē transformāciju infrasarkanā spektroskopija (FT-IR). Tā kā skābās sūkalas raksturojas ar sarežģītu sastāvu, tad FT-IR metode var tikt izmantota kā efektīva metode laktozes patēriņa raksturošanai. Pētījumā tika pētīts FT-IR spektroskopijas potenciāls laktozes patēriņa kontrolē biogāzes ražošanas laikā no sūkalām.

Eksperimentam tika izvēlēta periodiskas piebarošanas režīma (fed-batch) fermentācija un tam izmantots nepārtrauktas darbības reaktors ar darba tilpumu 4.5 L. Darbības režīmu var apskatīt sadaļā 2.4.

Reaktors tika inokulēts ar 1000 ml ierauga no laboratorijas tipa nepārtraukta reaktora (tīlpums 50 L, HUT – 50 dienas, substrāts – lucernas granulas). Darbības sākumā reaktorā stundas laikā ar peristaltiskā sūkņa palīdzību tika pakāpeniski ievadīts 1 L neatšķaidītu skābo sūkalu. Lai nodrošinātu minimālo pH līmeni 7,0, tika pievienots 3M NaOH šķīdums.

Ierauga un sūkalu sākotnējās pārbaudes dati ir parādīti 3.1. tabulā, kur redzams, ka sūkalas satur augstu kopējās un gaistošās sausnas saturu (attiecīgi 6.0 un 11.92 %), ieraugam kopējās sausnas daudzums ir daudz zemāks – 1.84 %.

3.1. tabula

Sūkalu un ierauga raksturojošie parametri

Parametrs	Ieraugs	Sūkalas
pH (20 °C)	7.83	4.65
Kopējā sausna (% m/m)	1.84	6.00
Gaistošā sausna (% m/m)	1.20	11.92
ĶSP _{kopējs} (mg O ₂ /L)	-	73.30
ĶSP _{šķīstošs} (mg O ₂ /L)	-	29.50
Pelni (% w/w)	0.59	0.62
Proteīns (% w/w)	-	0.30
Kopējais slāpekļlis (%)	-	0.20
Laktoze (% w/w)	-	4.85
Tauki (% w/w)	-	0.05

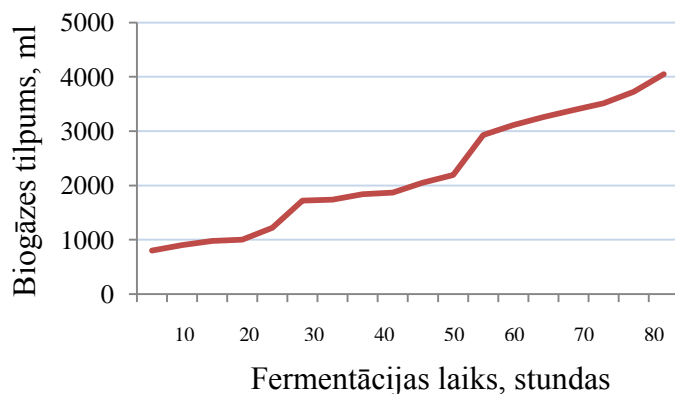
42., 72. un 90. stundā tika atkārtoti ievadīts 200 ml sūkalu, lai nodrošinātu periodisku piebarošanu. Iepriekšējos pētījumos tika pierādīts, ka, tā kā 82% no laktozes hidrolīzes laikā tiek pārstrādāts par laktātiem, novērojama strauja kopējo gaistoši skābju veidošanās un pH kritums [90].

3.2. tabula

ĶSP mērījumu rezultāti

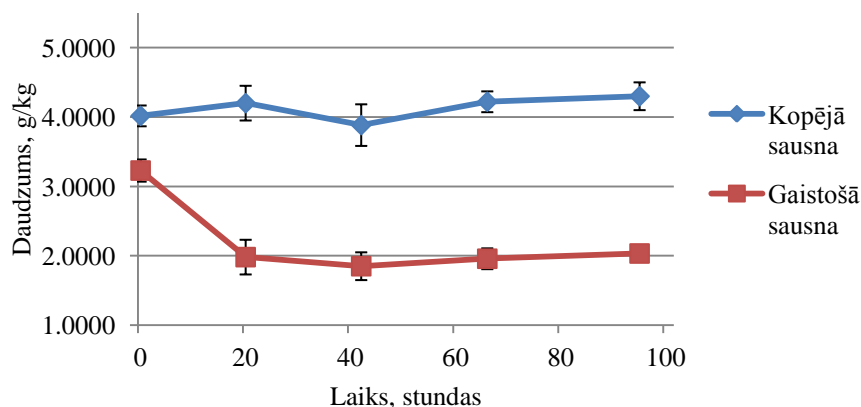
Laiks, stundas	ĶSP, mg/L
0	20.24 ± 1.52
17	13.36 ± 1.02
65	10.46 ± 1.24
105	11.86 ± 0.95

Kopējam sūkalu pārstrādes raksturojumam tika izmantots ĶSP, mērījumi tika veikti četros laikos. Pēc tabulas datiem var redzēt, ka 17.-jā stundā tika sadalīts gandrīz 34 % ĶSP, savukārt 65.-jā stundā gandrīz 50%.



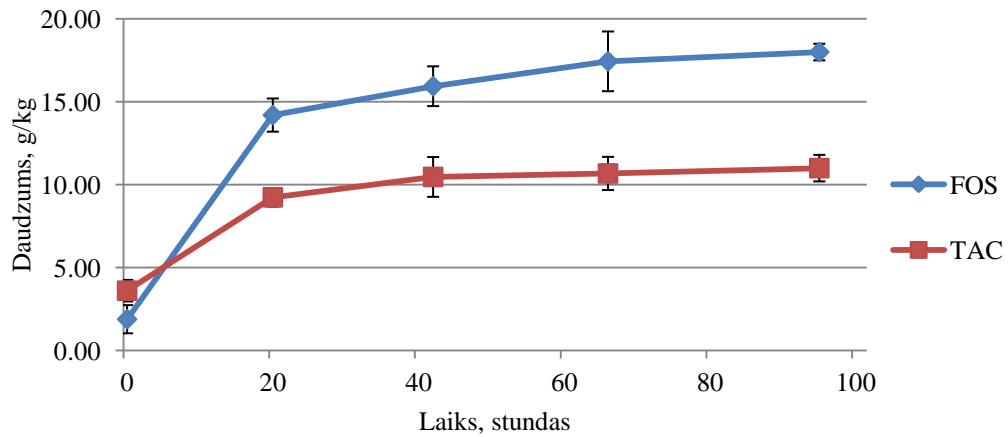
3.5.att. Kumulatīvais saražotais biogāzes daudzums

Savukārt pēc 3.5. att. var redzēt, ka biogāzes saražotais tilpums strauji pieaug sākumā un pievadot sūkalas, kas liecina par to, ka laktozes pārstrāde par viegli gaistošām skābēm un citiem metanogēnajām baktērijām viegli pārstrādājamiem savienojumiem, norit ļoti strauji – pirmajās sešās stundās, pēc kurām biogāzes ražošana notiek mērenāk, liecinot par to, ka pārējās sūkalu komponentes pārstrādājas daudz pakāpeniskāk.



3.6. att. Kopējā un gaistošā sausna

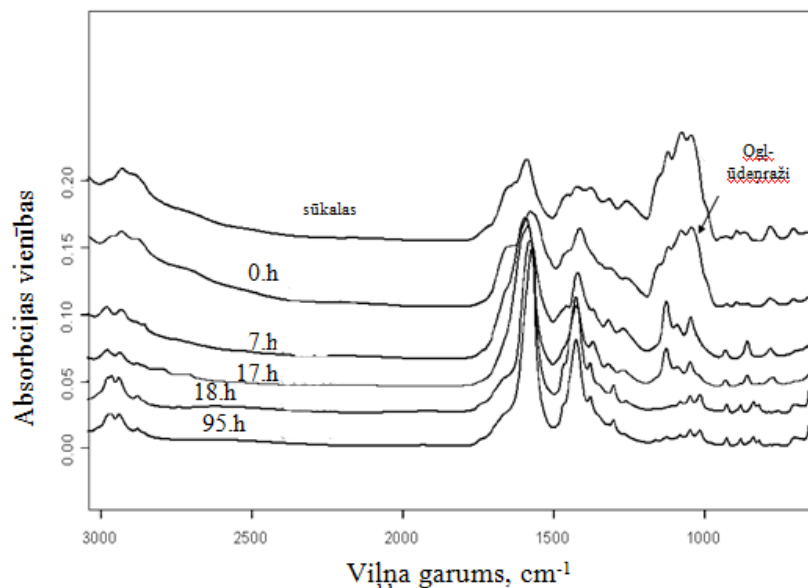
Pēc sausnas datiem (3.6. att.) ir redzams, ka gaistošās sausnas daudzums, pēc kuras var secināt par metanogēnajām baktērijām pieejamu substrātu esamību, strauji samazinās pirmajās 20.-mit stundās, nedaudz pieaugot pēc piebarošanas reizēm.



3.7. att. Kopējais gaistoši skābju un neorganiskā oglekļa saturs

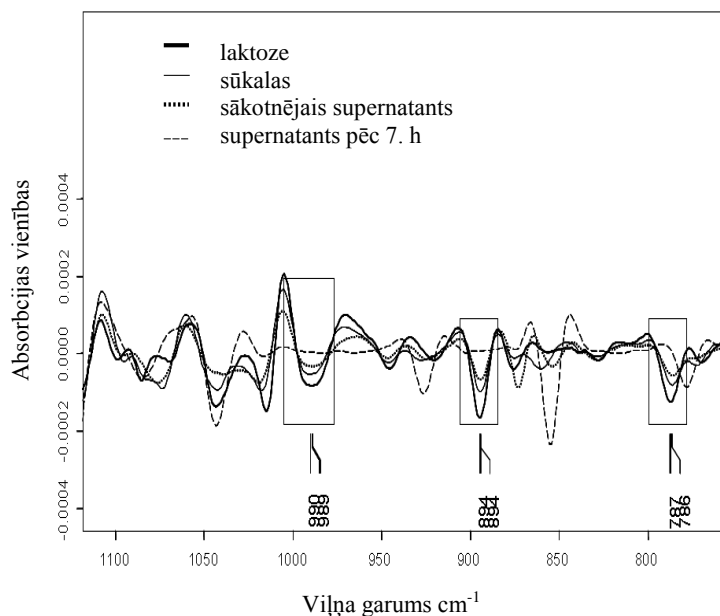
Pēc kopējo gaistošo skābju datiem var redzēt (skat. 3.7. att.), ka to daudzums strauji pieaug pirmo 20.-mit stundu laikā un paliek nemainīgs, tuvu „draudīgai” robežai, liekot secināt, ka kopējais pievadītās organiskās slodzes apjoms jāsamazina, jo metanogēnās baktērijas nespēj tik ātri pārstrādāt skābes.

Skābo sūkalu FT-IR spektrs parāda spēcīgu absorbciju ogļhidrātu reģionā 900 -1100 cm^{-1} (3.10. att.). Tā kā spektrs tika uzņemts absorbcijas reģionā 0.25-1.25, absorbcijas joslas intensitāte ir tieši proporcionāla noteiktās sastāvdaļas koncentrācijai (skat. 3.8. att.). Tādējādi var salīdzināt sūkalu un no mikroorganismiem brīva supernatanta spektrālo profilu, un analizēt cukuru patēriņu sūkalu anaerobajā pārstrādē.



3.8.att. Skābo sūkalu un fermentācijas supernatanta FT-IR spektrs

Pēc FT-IR spektru analīzes var secināt, ka cukuru pilnīga pārstrāde notiek jau pirmajās septiņās stundās. To apstiprina arī HPLC dati, kas neuzrāda laktozes esamību fermentācijas supernatantā 8. stundā.



3.9.att. Laktozes, siera sūkalu un supernatanta FT-IR spektrs

Atsevišķu komponentu 2. atvasinātais spektrs parādīts 3.9. att. Pēc tā ir identificētas laktozes absorbcijas joslas – 990, 894 un 787 cm⁻¹ un salīdzinātas ar fermentācijas supernatantu pēc septiņās stundas.

FT-IR spektroskopija var tikt izmantota kā perspektīva metode cukuru pārstrādes noteikšanā anaerobajā fermentācijā. Pēc eksperimenta datiem var secināt, ka laktozes pārstrāde notiek samērā ātri, savukārt gaistošo skābju patēriņš ir daudz lēnāks, kas norāda uz ievadītās organiskās slodzes apjoma samazināšanu.

3.3 Organiskās slodzes novērtēšana attiecībā pret metanogēnu īpatsvaru

Mikroorganismu identifikācija bieži vien var būt problemātiska, jo to vielmaiņa un uzbūve ir diez gan sarežģīta, un to uzskaitē var būt ierobežota ar nelielu organismu daudzumu [91]. Kā viena piemērota metode mikroorganismu identificēšanai un uzskaitē tiek uzskatīta Fluorescentā *in situ* hidridizācija (FISH). Metodes pamatā ir fluorescenti marķētas nukleīnskābju zondes piesaistīšanās specifiskām šūnu DNS vai RNS sekvencēm.

Eksperimenta mērķis bija izpētīt skābo sūkalu anaerobās fermentācijas efektivitāti, atkarībā no organiskās slodzes izmaiņām un tām sekojošām baktēriju izmaiņām. Tā kā

vairumu mikroorganismu var iedalīt divās grupās, tika izmantotas divas proves: eibaktēriju (*Eubacteria*) un metanogēno baktēriju jeb arheju (*Archaea*). Tātad jau pēc nosaukuma var secināt, ka visas metanogēnās baktērijas, kas atbildīgas par metāna ražošanu, ir iespējams detektēt un kvantificēt, izmantojot vienu zondi, kas piesaistās un iekrāso specifisku metanogēnu baktēriju RNS apgabalu. Visus pārējos mikroorganismus jeb „īstās baktērijas” detektē un analizē ar Eibaktēriju zondi.

FISH metode ir ērti pielietojama anaerobo procesu analīzei, jo tā neprasa papildus organismu kultivēšanu. Kaut arī skābo sūkalu anaerobā pārstrāde literatūrā ir plaši aprakstīta, tomēr to fermentācija bez priekšapstrādes un mikrobioloģiskās populācijas dinamiskās izmaiņas nav iepriekš aprakstītas. Eksperimentam tika izvēlēta nepārtraukta tipa fermentācija un tam izmantots nepārtrauktas darbības reaktors ar darba tilpumu 4L. Darbības režīmu var apskatīt sadaļā 2.4.1. Reaktors tika inokulēts ar 1000 ml ierauga no laboratorijas tipa nepārtraukta reaktora (tilpums 50 L, HUT – 50 dienas, substrāts – lucernas granulas).

3.3.1 Ierauga un substrāta analīzes

Ierauga un sūkalu sākotnējās pārbaudes dati ir parādīti tabulā.

Tabulā ir redzams, ka sūkalas satur augstu kopējās un gaistošās sausas saturu (attiecīgi 6.0 un 11.92 %), ieraugam kopējās sausas daudzums ir daudz zemāks – 1.84 % (skat. 3.3. tab.)

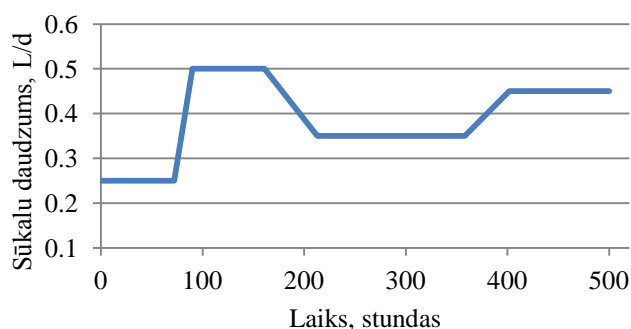
3.3. tabula

Ierauga un sūkalu raksturojošie parametri

Parametrs	Ieraugs	Sūkalas
pH (20 °C)	7.92	4.54
Kopējā sausa (% m/m)	1.89	5.58
Gaistošā sausa (% m/m)	1.34	4.24
ĶSP _{kopējs} (mg O ₂ /L)	-	78.30
ĶSP _{šķīstošs} (mg O ₂ /L)	-	31.5
Pelni (% w/w)	0.55	0.58
Proteīns (% w/w)	-	0.30
Kopējais slāpekļis (%)	-	0.20
Laktoze (% w/w)	-	4.85
Tauki (% w/w)	-	0.05

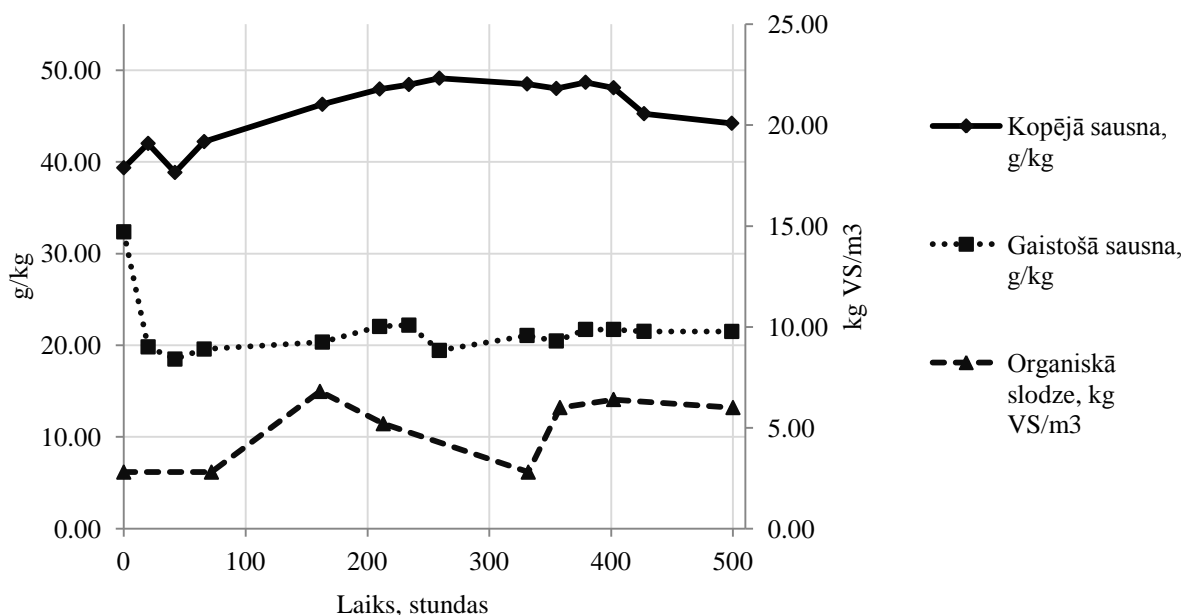
3.3.2 Eksperimenta analīze

Reaktorā tika nepārtraukti pievadītas skābās sūkalas, bet piebarošanas grafiks tika sadalīts, atkarībā no dažādām organiskajām slodzēm. Attēlā 3.10. ir parādīts pievadīto sūkalu daudzums diennaktī. Pirmās četras dienas tika izvēlēta vidēja organiskā slodze un piebarots 250 ml sūkalu diennaktī. Pēc tām dažas dienas tika izvēlēts piebaroto sūkalu daudzumu palielināt divas reizes – līdz 500 ml. Nākamajā periodā (5 dienas) tika izvēlēts piebarošanas daudzums 350 ml, savukārt pēdējās dienās pārejot uz 400 ml piebarošanu. Attiecīgās organiskās slodzes ir iespējams aplūkot 3.11. att.



3.10. att. Piebarotais skābo sūkalu daudzums diennaktī

Sākotnēji organiskā slodze (OS) pirmajā periodā ar nelielu piebarošanas intensitāti bija $2.8 \text{ kg GS m}^{-3} \text{ d}$. Tad pakāpeniski to paaugstināja līdz $6.8 \text{ kg GS m}^{-3} \text{ d}$. Paaugstinot OS, ievērojami pieauga gaistošo organisko skābju daudzums līdz 18 g/kg , kas liecina par metanogēno baktēriju nespēju pietiekami ātri pārstrādāt hidrolīzes un acidoģenēzes procesu laikā radušos produktus [92]. Ja skābju daudzums uzkrājas pārāk lielās koncentrācijās, var sākties metanogēnu inhibācijas procesi, jo galvenokārt ietekmē metanogēnu lēnāki vairošanās ātrumi, salīdzinot ar acetogēnajām baktērijām [93]. Lai nepieļautu procesa skābju izraisītu inhibīciju, organiskā slodze tika pazemināta līdz $3.0 \text{ GS m}^{-3} \text{ d}$. Lai pilnībā izpētītu substrāta pārbarošanas ietekmi, pēdējā režīmā OS tika paaugstināts līdz $6.2 \text{ kg GS m}^{-3} \text{ d}$.

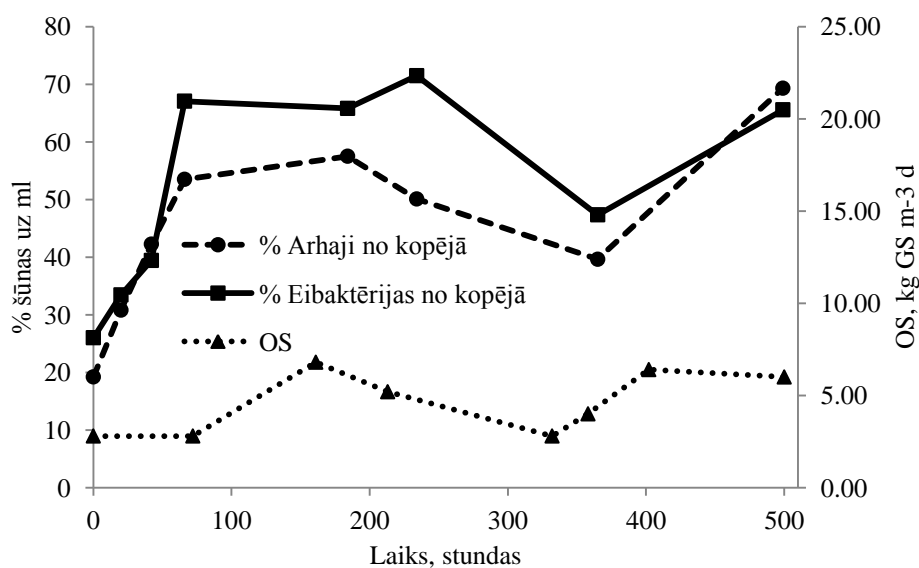


3.11. att. Kopējā un gaistošā sausna, atkarībā no organiskās slodzes

Vidējā biogāzes ražība eksperimenta laikā bija $348.74 \text{ L kg}^{-1} \text{ GS}$ ($0.56 \text{ L L}^{-1}_{\text{reakt. d}^{-1}}$) un vidējā metāna ražība bija 50% robežās. Metāna koncentrācijas pazemināšanās saistīta ar digestāta noliešanu katru otro dienu, lai uzturētu reaktorā konstantu līmeni. Iegūtā metāna ražība ir robežās no $176\text{--}278 \text{ L kg}^{-1} \text{ GS}$. Visaugstākā metāna koncentrācija bija sasniegta pie OS 2.8 kg GS m^{-3} - 63%. Pie augstākām OS metāna ražība samazinājās, kas var būt izskaidrojams ar iespējamo amonija vai garo taukskābju inhibīciju [94].

3.3.3 FISH analīzes

In situ hibridizācijas analīzes parādīja, ka ieraugs sākotnēji satur 45% metanogēno baktēriju attiecībā pret kopējo mikroorganismu skaitu, un kopumā tika kvantificēts vairāk kā $5 \cdot 10^9$ šūnu uz ierauga ml. Pēc eksperimenta sākuma un sūkļu pievadīšanas metanogēno baktēriju skaits ievērojami pieauga jau pirmajās divdesmit stundās un divās dienās sasniedza $1.3 \cdot 10^{10}$ šūnu/ml (skat. 3.12. att.)

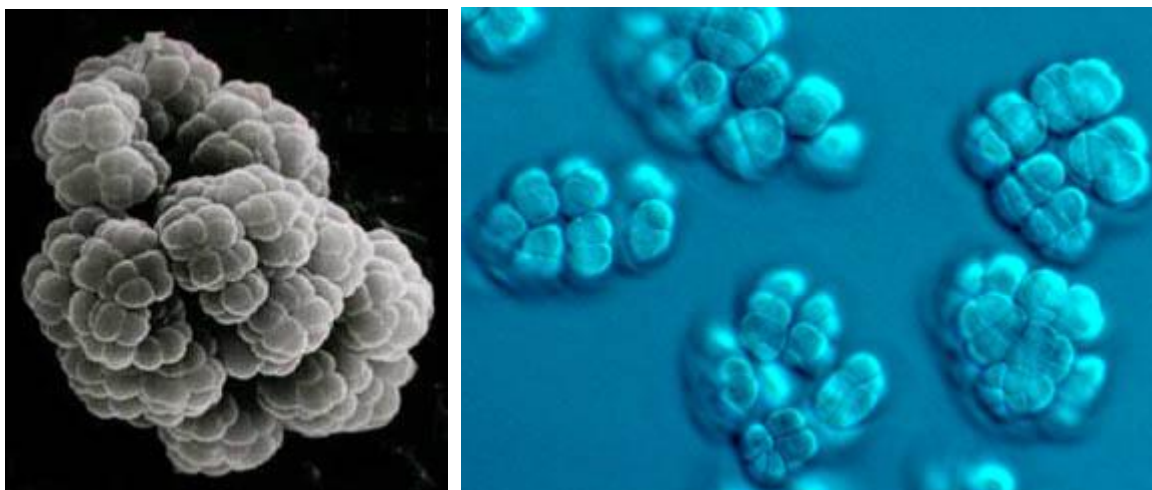


3.12. att. Arheju un Eibaktēriju attiecības anaerobās fermentācijas laikā, atkarībā no dažādām organiskām slodzēm

Visaugstākais metanogēno baktēriju īpatsvars uzrādās 45 stundas pēc fermentācijas sākuma. Strauja OS palielināšana līdz to 6.8 GS m⁻³ d noved pie kopējās šūnu koncentrācijas samazināšanās, kas, pirmkārt, izskaidrojams ar digestāta atjaukšanos un baktēriju nespēju savairoties pietiekamā ātrumā. Taču, samazinot slodzi līdz 4.9 GS m⁻³ d, metanogēno baktēriju daudzums atkal pieaug. Līdz ar to var secināt, ka maksimālā organiskā slodze, kas neatstāj negatīvu ietekmi uz metanogēnajām baktērijām, ir 4.9 GS m⁻³ d.

3.4 Bioaugmentācijas pielietojums skābo sūkalu procesa uzlabošanai

Izpētot izmantoto ieraugu no lauksaimniecības biogāzes stacijas ar *FISH* metodi, tika secināts, ka tas nesatur *Methanosarcinaceae* kultūras. Parasti tā ir viena no visbiežāk sastopamajām kultūrām anaerobajās stacijās un spēj pārstrādāt gan savienojumus, kas satur metilgrupas, gan acetātu vai H₂/CO₂ [95]. Pie tam šī kultūra izceļas ar savu toleranci pret dažādiem stresoriem [96], kas īpaši varētu būt noderīgi arī skābo sūkalu anaerobajā pārstrādē. To īpatnība slēpjas spējā apvienoties un veidot īpašas formas – klasterus (skat. 3.13.), kas var pasargāt tos no augstām inhibitoru koncentrācijām [97–99].



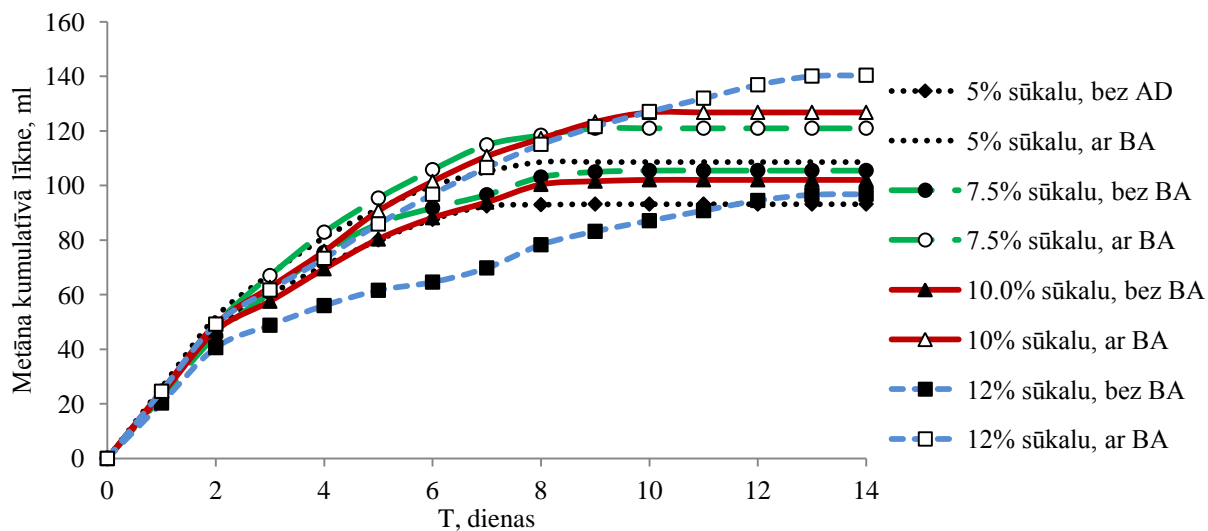
3.13. att. Metanosarcīnu veidotās formas – klasteri [100]

3.4.1 Eksperimenta norise

Tika veikts eksperiments vienreizējās ielādes reaktoros ar kopējo tilpumu 100 ml un dažādām sūkalu koncentrācijām – 5.0, 7.5, 10.0, 12.0 %. Tika veikta bioaugmentācija ar 1 ml *Methanosarcina barkeri* kultūru, kas vidēji saturēja $9.31E+09 \pm 7\%$ šūnas. Šūnas pievienoja kopā ar barotni. Lai novērstu mikroelementu ietekmi uz rezultātiem, visos reaktoros tika pievienots arī svaigi sagatavots mikro- un makroelementu šķīdums, kas tika izmantots arī *Methanosarcina barkeri* barotnes pagatavošanā (skat. tabulu 1.14.).

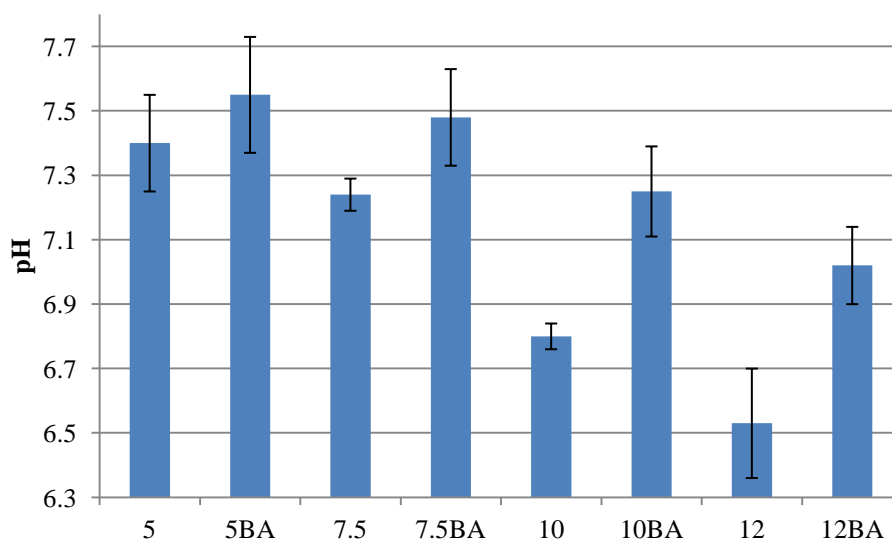
3.4.2 Eksperimenta rezultātu analīze

Izpētot metāna kumulatīvās līknes (3.14. att.) var ievērot, ka būtiska atšķirība starp reaktoriem parādās pēc otrās dienas, kas sakrīt ar *Methanosarcina barkeri* dubultošanās laikiem. Taču atšķirība starp bioaugmentētajiem un neaugmentētajiem reaktoriem svārstās no 14.2% ar mazāko sūkalu koncentrāciju līdz pat 31.1% ar augstāko. Schmack un Reuter [101] iepriekš ziņoja par biogāzes reaktora bioaugmentāciju ar hidrogenotrofo metanogēno celmu *Methanoculleus spec.*, kas noveda pie biogāzes ražības paaugstināšanās par 20%.

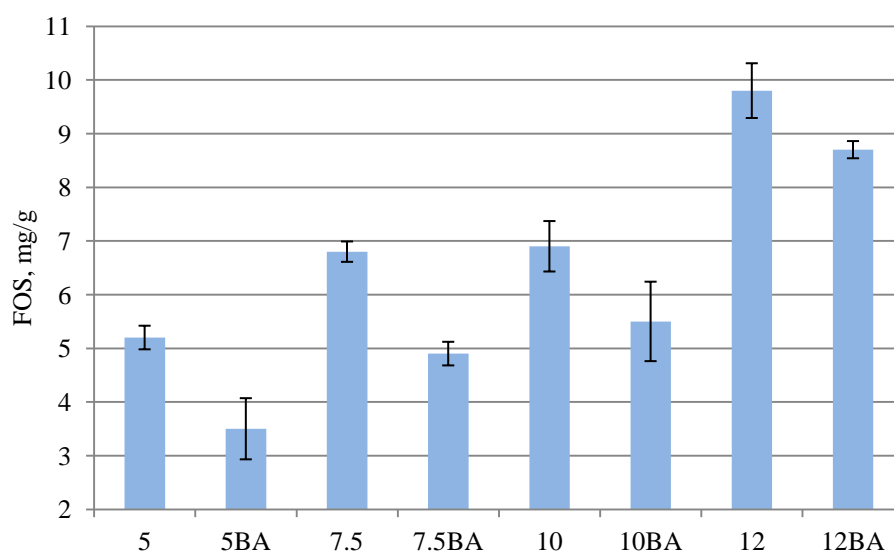


3.17. att. Kumulatīvās metāna līknes ar dažādām sūkalu koncentrācijām un *Methanosarcina barkeri* pievienošanu

Pēc pH un kopējo taukskābju grafikiem beigu paraugos (3.18. att.) var secināt, ka reaktoros ar *Methanosarcina barkeri* pievienošanu skābju pārstrāde ir notikusi ātrāk un efektīvāk, kas atbilst tam, ka *Methanosarcinales* kultūras savos metabolisma procesos var izmantot arī acetātus.

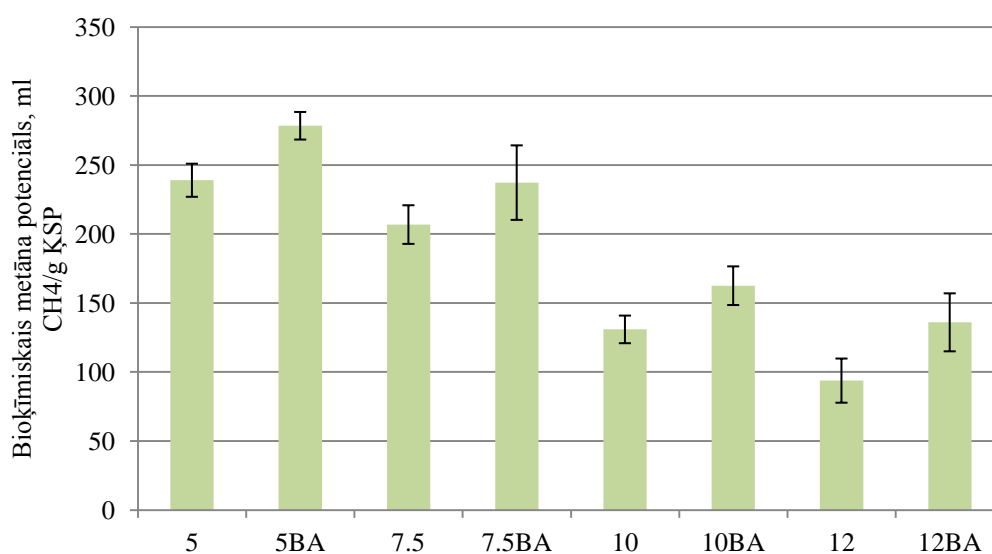


3. 18. att. pH vērtība atkarībā no sūkalu koncentrācijas un ar vai bez *Methanosarcina barkeri* bioaugmentācijas



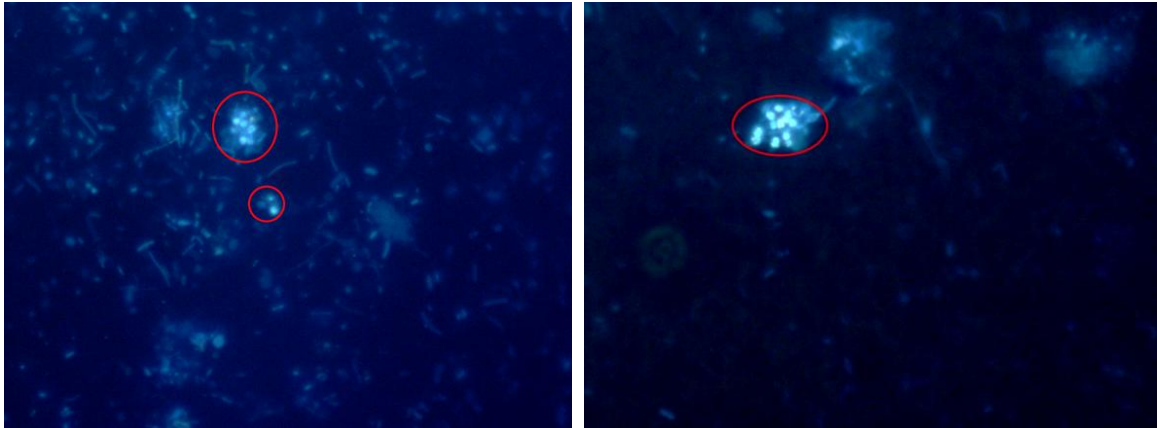
3.19. att. Kopējais skābju daudzums atkarībā no sūkulu koncentrācijas un ar vai bez *Methanosarcina barkeri* bioaugmentācijas

Arī salīdzinot biometāna potenciāla datus (skat. 3.20. att.), var redzēt, ka reaktoros ar *Methanosarcina barkeri* substrāta noārdīšana ir notikusi daudz sekmīgāk. Kaut arī reaktoros kā ar, tā bez bioaugmentācijas var vērot BMP samazināšanos, pieaugot sūkulu koncentrācijai, kas varētu liecināt par amonija savienojumu vai garo taukskābju uzkrāšanos un inhibīcijas procesiem [94]. Kopumā BMP atšķirība bija novērojama reaktoros ar augstāku sūkulu koncentrāciju (12%), kur BMP lielums bioaugmentētajos reaktoros bija par 30.2% procentiem augstāks.



3.20. att. Biometāna potenciāls atkarībā no sūkulu koncentrācijas un ar vai bez *Methanosarcina barkeri* bioaugmentācijas

Veicot paraugu apstrādi ar DAPI metodi un apskati fluorescentajā mikroskopā, varēja novērot pietiekamā skaitā klasiskos *Methanosarcina* agregātus, taču tas apgrūtināja to kvantificēšanu (skat. 3.21. att.)



3.21. att. Digestāta paraugi ar 5% sūkalām un pievienotu *Methanosarcina* spp, apstrādāti ar DAPI metodi fluorescentajā mikroskopā

Lai arī bioaugmentācijas pētījums ar *Methanosarcina barkeri* pierāda šīs metodes efektivitāti grūti pārstrādājamu substrātu pārstrādē, tomēr tālāk ir nolemts pievērsties ieraugu izvēlei, kas jau dabīgi satur *Methanosarcinales* kultūras, jo pretējā gadījumā šāda tipa procesa uzlabošana ir ļoti dārga dēļ sarežģītajiem un ilgstošajiem anaerobo monokultūru kultivēšanas apstākļiem.

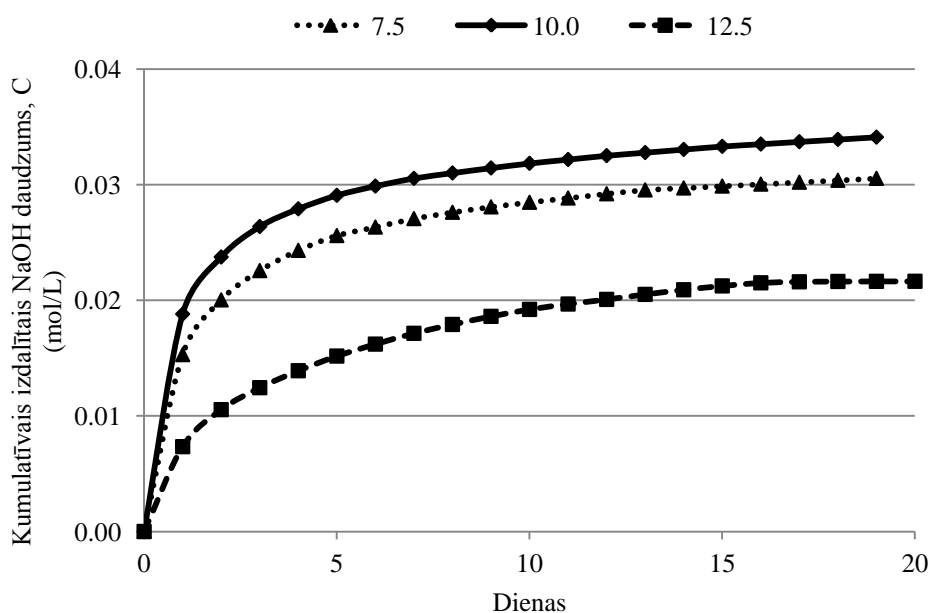
3.5 Sārmainā kompozītmateriāla raksturošana

Liela daļa no anaerobo procesu pētījumiem ar šķidriem substrātiem tiek veikti periodiskas vai nepārtrauktas piebarošanas režīmā ar aktīvu pH uzraudzību un/vai kontroli, taču vienreizējās ielādes reaktori parasti tiek darbināti ar sākotnēju pH korekciju un pie lielākām substrāta ielādēm tas var novest pie zemākas procesa aktivitātes un augstas osmolaritātes, kas var palēnināt mikroorganismu augšanu [102]. Visbiežāk vides pH tiek nodrošināts, izmantojot ko-pārstrādes fermentāciju, kad pievienot papildus otru substrātu ar augstu buferkapacitāti (piemēram, kūtsmēsli) un līdz 50% sūkalu, var panākt procesu, kurā nav nepieciešama ķīmisku vielu pievienošana. Izmantojot tīru sūkalu fermentāciju, visbiežāk pH tiek kontrolēts, pievienojot bikarbonātu [103], [104] un NaOH [105].

Jau nelielas sūkaku koncentrācijas var novest pie inhibējošu skābju koncentrāciju izveidošanās, kas var novest pie metāna ražības samazināšanās. Bet automātiskas pH regulēšanas sistēmas anaerobo procesu kontrolē bieži ir dārgs un mazefektīvs risinājums, tāpēc tika veikti pētījumi par sārma izdaloša materiāla pielietojumu skābo sūkaku anaerobajā pārstrādē.

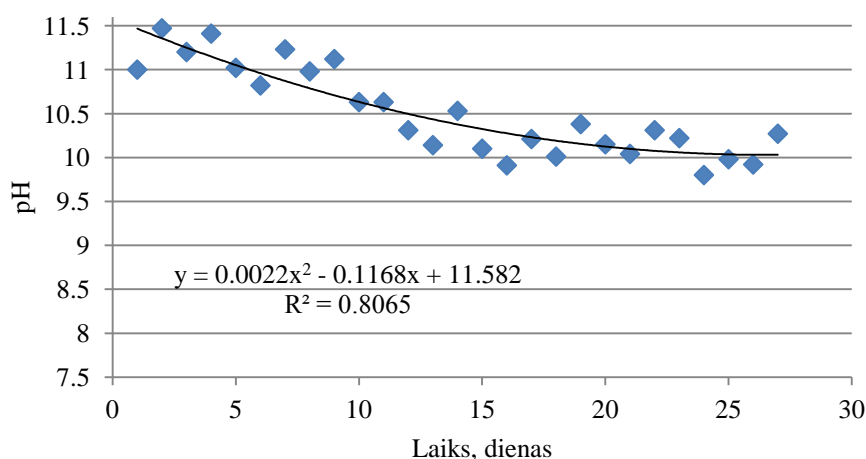
3.5.1 Titrēšanas eksperiments

Lai noteiktu sārma izdalīšanās dinamiku un pielietojumu skābo sūkaku anaerobajā pārstrādē, tika veikts titrēšanas eksperiments. 3.24. attēlā parādītas titrēšanas līknes. Visātrākā sārma izdalīšanās ir vērojama materiālam SM 10.0, savukārt ievērojami zemāka – SM 12.5, kas varētu būt izskaidrojams ar lielāka sārma daudzuma atrašanos slēgtajās porās, kas palēnina tā izšķīšanu ūdenī.



3.24. att. Izdalītais kumulatīvais sārma daudzums trīs dažādiem SM: 7.5, 10.0, 12.5.

Pēc kumulatīvā sārma izdalīšanās grafika var secināt, ka visaktīvākā sārma izdalīšana notiek pirmajās divās dienās – SM 7.5 izdala 73.6% sārma attiecībā pret kopējo izdalīto sārma pirmajās desmit dienās, SM 10 – 74.5%, savukārt SM 12.5 – 54.8%, izlīdzinoties sārma izdalīšanās kinētikai no trešās līdz desmitajai dienai visiem materiāliem.

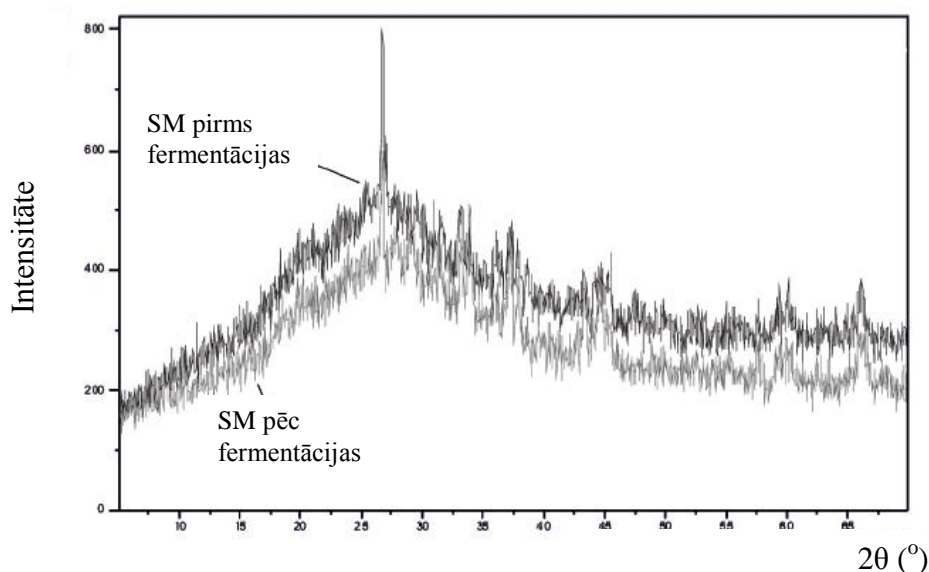


3.25 att. pH izmaiņas ikdienas nomainītam destilētā ūdenim ar SM10 paraugu

Paralēli titrēšanas līkņu uzņemšanai tika mērītas arī ūdens pH izmaiņas, kas parāda, ka stabila pH līmeņa paaugstināšana notiek līdz pat 25. dienai (skat. 3.25. att.). Visaugstākā pH vērtība tika sasniegta otrajā dienā – 11.49, bet 20.-tajā dienā pH vērtība vēl joprojām sasniedz pH 10.0.

3.5.2 XRD dati

Pēc rentgendifrakcijas datiem var redzēt (skat. 3.26. att.), ka materiālam piemīt diez gan amorfa struktūra, taču tā izmaiņas pirms un pēc eksperimentiem ir nenozīmīgas, liecinot par to, ka materiāla nav savienojumu, kas varētu aktīvi šķīst, ko apstiprina arī nelielās masas izmaiņas.



3.26. att. XRD analīze sārmainajam materiālam pirms un pēc fermentācijas

3.6 Eksperimenti ar suspendēto ieraugu

Lai izpētītu sārmainā materiāla spēju uzlabot anaerobo fermentāciju, tika izvēlēts pētīt trīs dažādas sūkalu koncentrācijas – 20, 30, 40% un izmantot suspendēto ieraugu, kuram piemīt augsta buferkapacitāte.

Eksperimentam tika izvēlēti 500 ml vienreizējās ielādes reaktori. Visos reaktoros tika pievienots vienāds daudzums materiāla, un veidoja atbilstoši 0.05, 0.07 un 0.1g/g ŪSP. Sūkalu un ierauga attiecības bija robežās no 0.2-0.4.

3.6.1 Ierauga un substrāta analīze

Sūkalu un ierauga galvenie raksturojošie parametri ir parādīti 3.4. tabulā.

3.4. tabula

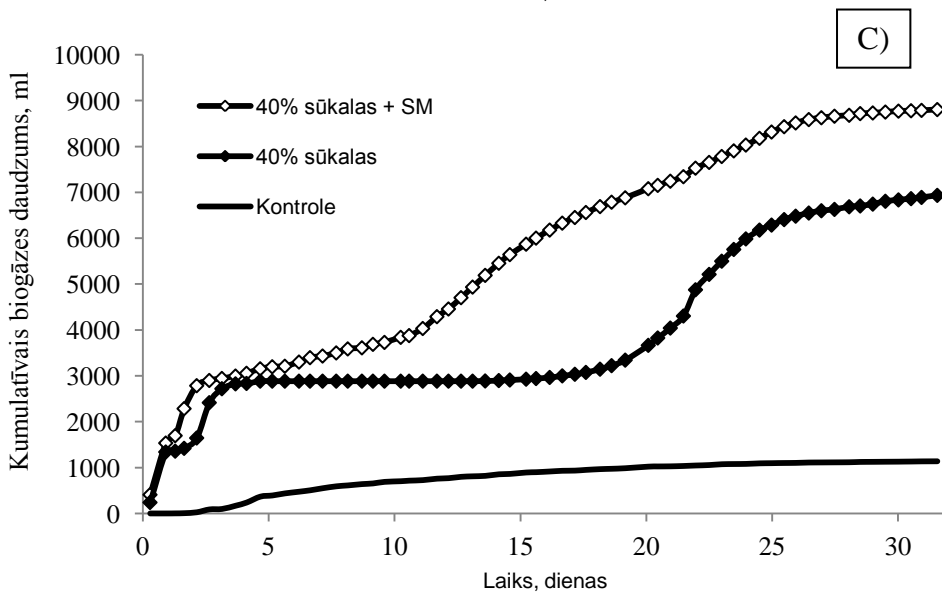
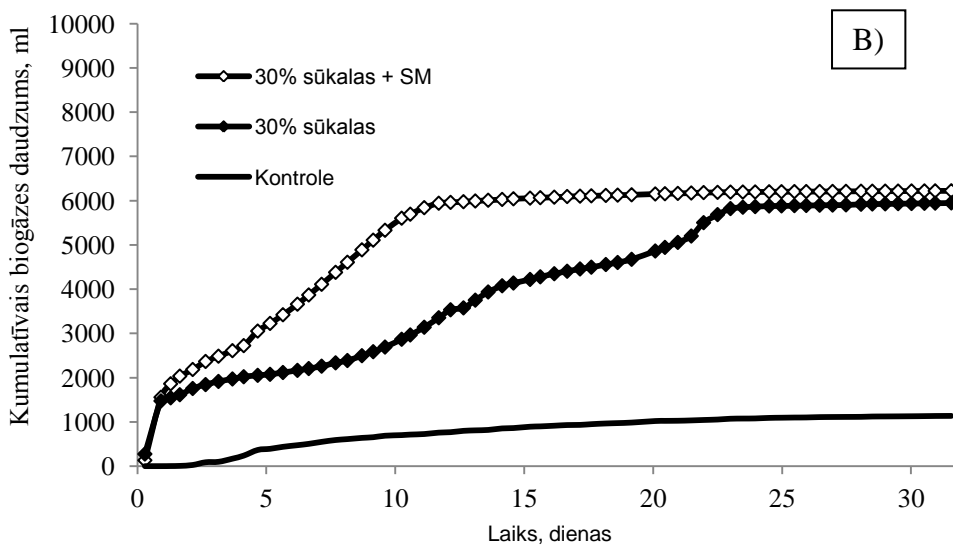
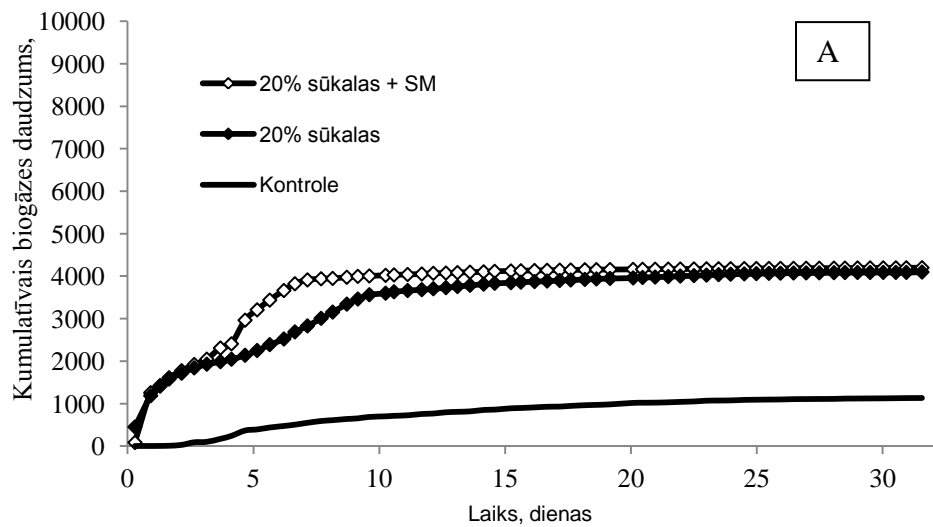
Sūkalu un ierauga raksturojošie parametri

Parametrs	Ieraugs	Sūkalas
pH (20 °C)	8.01	4.72
Kopējā sausna (% m/m)	2.86	5.68
Gaistošā sausna (% m/m)	1.62	4.92
ŪSP _{kopējs} (mg O ₂ /L)	-	73.30
ŪSP _{šķīstošs} (mg O ₂ /L)	-	29.50
Pelni (% w/w)	0.49	0.69
Proteīns (% w/w)	-	0.30
Kopējais slāpeklis (%)	-	0.20
Laktoze (% w/w)	-	4.85
Tauki (% w/w)	-	0.05

3.6.2 Eksperimenta rezultātu analīze

3.6.2.1 Biogāzes ražošanas raksturojums

Dažādas sūkalu koncentrācijas un SM piedevas parādīja būtisku ietekmi uz biogāzes ražošanas tempu un apjomu (skat. 3.27. att.). Ar lielākām sūkalu koncentrācijām SM piedeva būtiski samazināja fermentācijas procesu - ar 20% sūkalām par četrām dienām, ja salīdzina ar procesu bez materiāla piedevas.

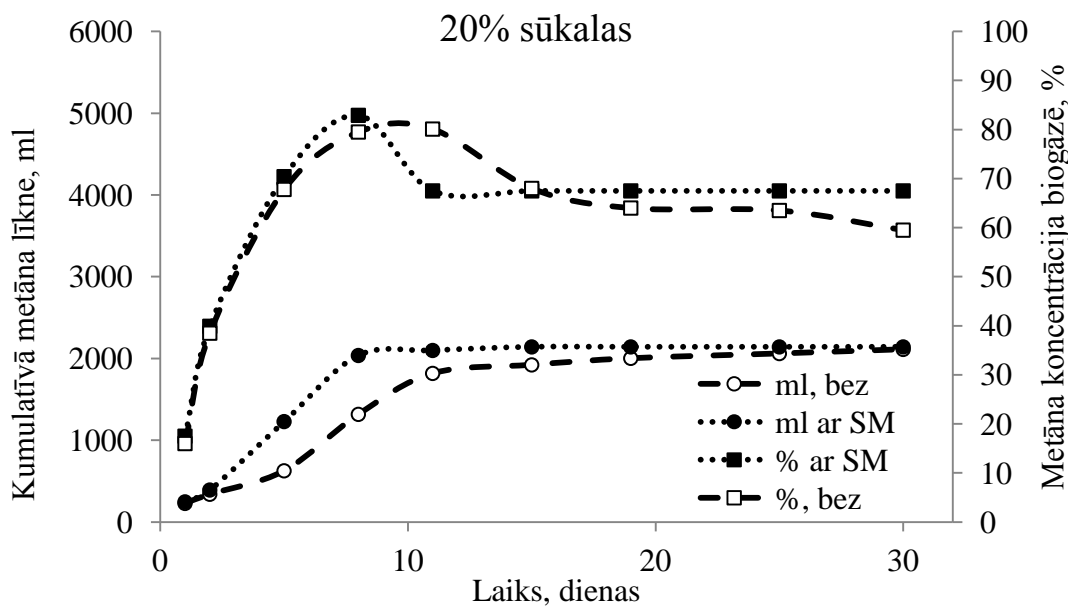


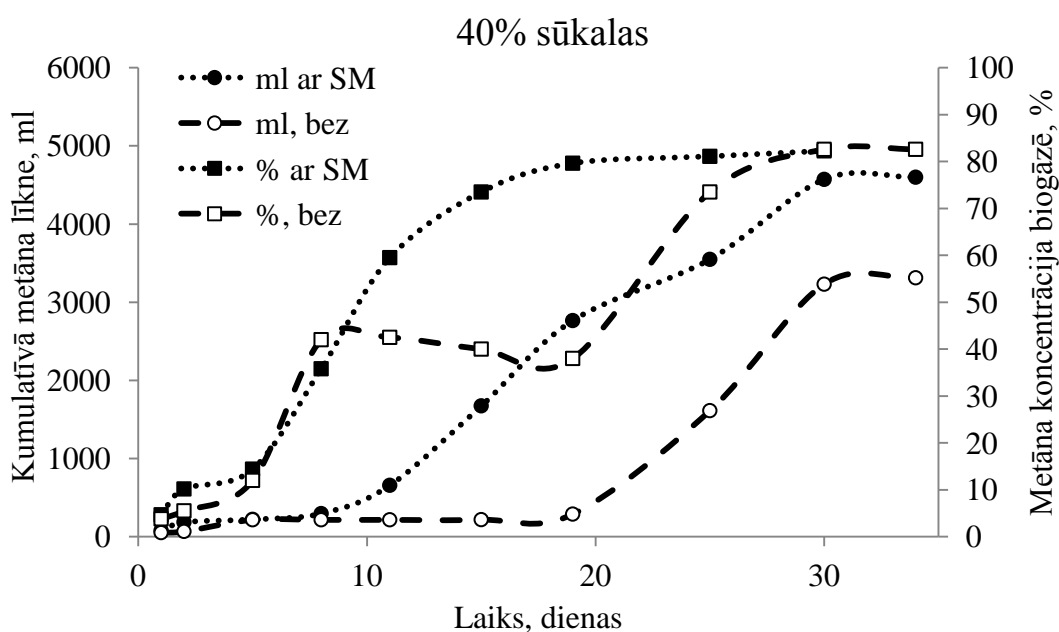
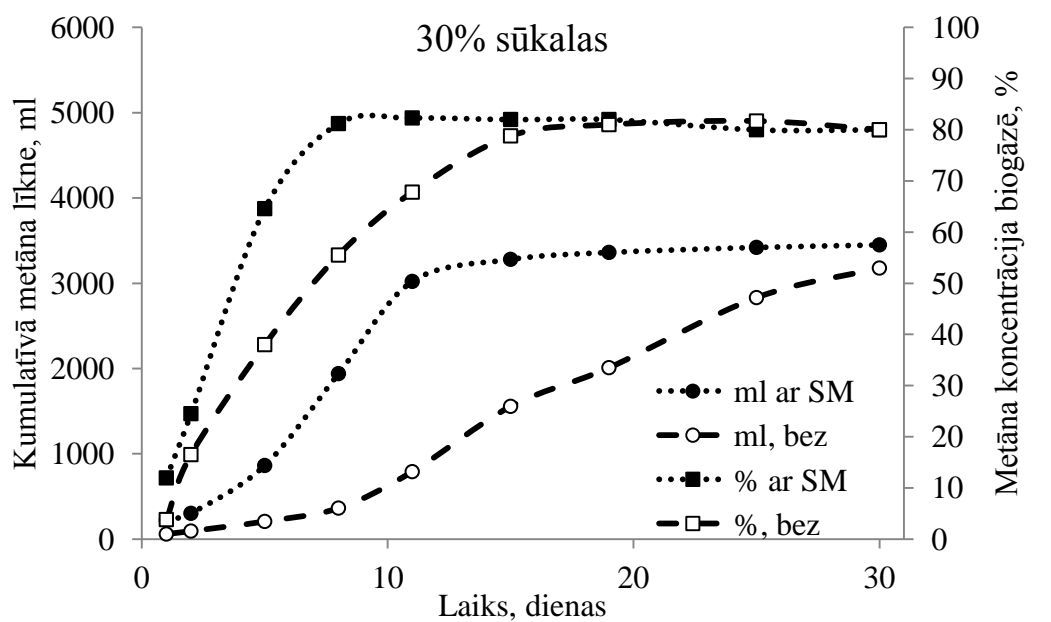
3.27. att. Metāna kumulatīvās līknes un procentuālais saturs biogāzē ar dažādām sūkalu koncentrācijām a) 20%; b) 30%; c) 40%.

Reaktoros ar 30% sūkalām un SM piedevu lielākā daļa organiskās masas tika pārstrādāta jau 10.-tajā dienā, kamēr process bez materiāla beidzās tikai 23. dienā. Ar 40% sūkalu piedevu arī reaktoros ar SM inhibējošās koncentrācijas atstāja iespaidu uz biogāzes kumulatīvo līkni, taču nedaudz zemākas kā reaktoros bez SM piedevas.

3.6.2.2 Metāna ražošanas raksturojums

Apskatot metāna procentuālās līknes (skat. 3.28. att.) var redzēt, ka visos gadījumos maksimālā metāna koncentrācija tiek sasniegta 5.-7. dienā. Zemākās sūkalu koncentrācijas gadījumā beigu fāzē metāna koncentrācija sasniedz 80%. Arī ar 30% sūkalu koncentrāciju trīs dienas pirms aktīvās biogāzes ražošanas fāzes beigām tiek sasniegta tikt pat augsta metāna koncentrācija.





3.28. att. Metāna kumulatīvās līknes un tā koncentrācija biogāzē paraugos ar a) 20%, b) 30% un c) 40% sūkalām

Bioķīmiskais metāna potenciāls stipri neatšķiras starp reaktoriem ar un bez SM piedevas un ar 20 un 30% sūkalu koncentrāciju (skat. 3.6. tab.). Daudz lielāka atšķirība ir reaktoros ar 40% sūkalām, bet, izpētot pārējos parametrus eksperimenta beigās, var redzēt, ka dēļ inhibējošiem faktoriem substrāta pārstrāde ir notikusi nepilnīgi.

3.6. tabula

Biometāna potenciāls ar dažādām sūkaku koncentrācijām un ar vai bez sārmainā materiāla piedevu (pēc 35 dienām).

Substrāts	BMP, ml_{CH4}/g KSP
20% sūkakas + SM	301.78 ± 18.9
30% sūkakas +SM	313.97 ± 21.5
40% sūkakas + SM	314.93 ± 25.9
20% sūkakas	289.86 ± 20.4
30% sūkakas	293.97 ± 17.9
40% sūkakas	227.26 ± 25.8

Reaktoros ar sūkaku koncentrāciju 20% un SM piedevu BMP vērtība ir par 4% augstāka, salīdzinot ar reaktoriem bez materiāla piedevas, bet ar 30% sūkakām - starpība ir jau 7%, kamēr ar 40% sūkakām – 27%.

3.6.2.3 Sausnas analīzes

Pēc kopējās sausnas analīzes 3.7. tabulā var redzēt, ka rezultāti starp vienu sūkaku koncentrāciju un ar vai bez SM piedevas ir līdzīgi, lielāki pelnu mērījumi ir reaktoros ar SM, kas varētu būt izskaidrojams ar no materiāla izšķīdušās daļas pāriešanu reaktorā.

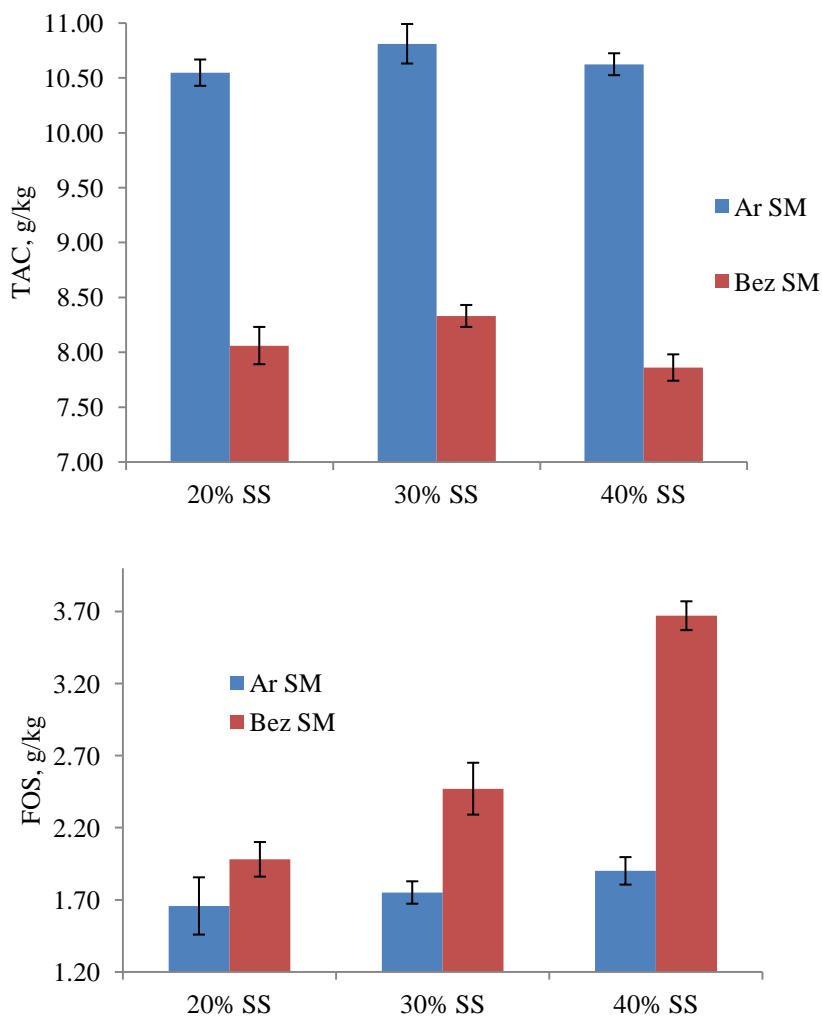
3.7. tabula

Kopējās un gaistošās sausnas, pelnu un pH analīzes eksperimenta beigu paraugiem

Materiāls	KS [g/kg]	GS [g/kg]	Pelni [%]	pH
20% sūkakas +SM	24.17±0.5	11.84±0.2	1.25±0.3	8.03±0.08
20% sūkakas	24.06±0.4	12.63±0.2	1.14±0.2	7.92±0.11
30% sūkakas +SM	22.70±0.5	10.61±0.3	1.21±0.2	8.04±0.09
30% sūkakas	21.45±0.3	12.45±0.1	0.94±0.1	7.76±0.13
40% sūkakas +SM	21.86±0.7	10.09±0.4	1.18±0.1	7.86±0.06
40% sūkakas	22.14±0.3	12.77±0.4	0.94±0.3	7.55±0.14
Kontrole	31.64±0.3	17.48±0.2	1.42±0.1	7.60±0.10

3.6.2.4 Buferkapacitātes un kopējo viegli gaistošo taukskābju mērījumi

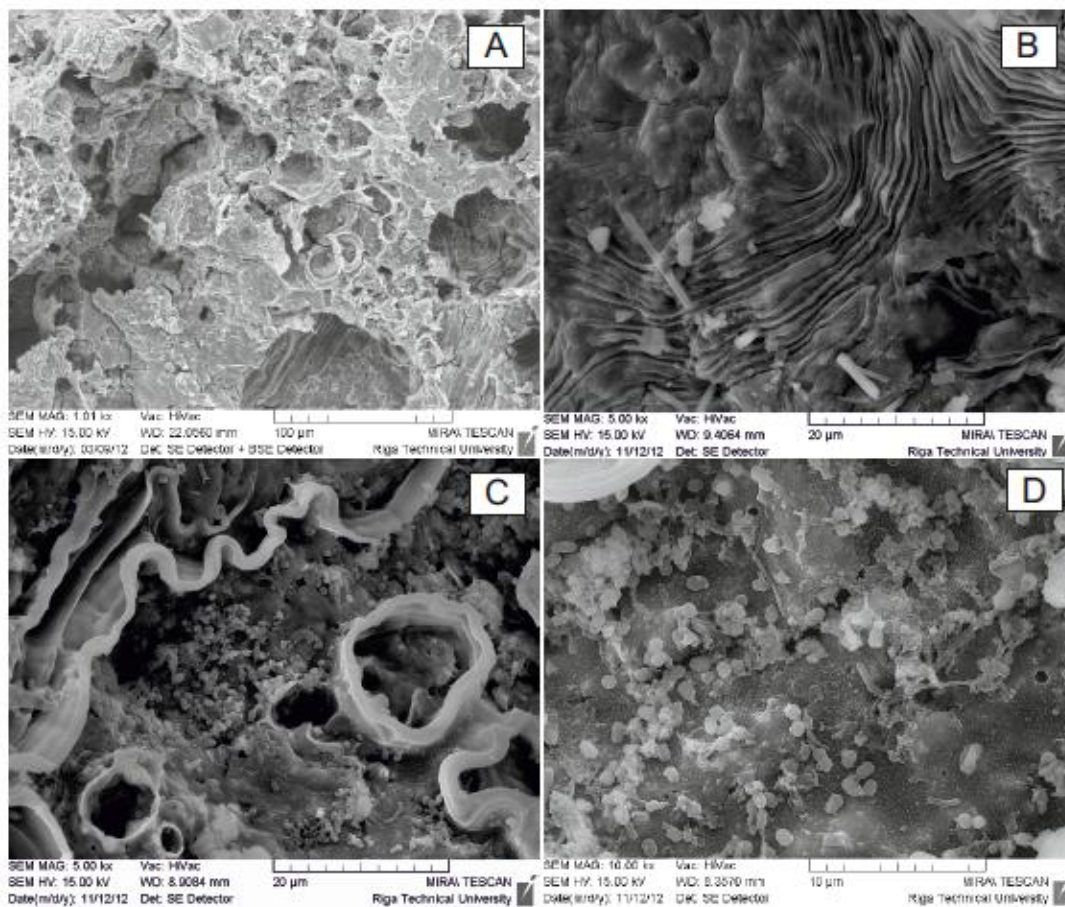
Daudz augstāki buferkapacitātes mērījumi ir traukos ar SM piedevu – reaktoros ar 20% sūkalu pat par 23.2 % (skat. att. 3.28.). Kopējo taukskābju uzkrāšanās nav novērojama reaktoros ar sārmainā materiāla piedevu, kamēr bez skābju akumulācijas līmenis pieaug ar sūkalu koncentrācijas paaugstināšanos.



3.28. att. Kopējo taukskābju un buferkapacitātes daudzums beigu paraugos reaktoros ar dažādām sūkalu koncentrācijām un ar vai bez SM

3.6.2.5 SEM virsmas pētījums

Aplūkojot skenējošās elektronu mikroskopijas bildes pirms un pēc eksperimenta, var redzēt, ka eksperimenta beigās ir izveidojusies biofilma, kas sastāv galvenokārt no kokoidālas formas mikroorganismiem ar izmēru 0.6 μm un garenveida formas mikroorganismus 2 μm garumā (skat. 3.29. att.).



3.29. att. SEM SM mikrostrukturās attēli pirms fermentācijas a) un b), pēc fermentācijas c) and d). Fotografijas uzņemtas 1000 (a), 5000 (b,c), 10 000 (d) reižu palielinājumā.

3.7 Eksperimenti ar granulēto ieraugu

Nākamā eksperimenta sērija tika veikta ar granulēto ieraugu. Ieraugu iegūst Tartu, Igaunijā no celulozes un papīra pārstrādes notekūdeņu anaerobās fermentācijas stacijas. Galvenais organisms anaerobo dūņu granulās ir *Methanosaeta concilii*, bieži tiek lietots šī mikroorganisma sinonīms *Methanothrix soehngeni*. Anaerobo dūņu granulām ir augsta aktivitāte un granulū veidošanās ir galvenais iemesls veiksmīgai UASB reaktoru izmantošanai. Anaerobo dūņu spēju veidot granulās uzskata par īpašu. Nav vēl viennozīmīgi noskaidrots kādi ir granulū veidošanās cēloņi, pastāv trīs teorijas - fizikālā, mikrobioloģiskā un termodinamiskā [106].

3.7.1 Ierauga analīzes

Pirms eksperimenta sākšanas ierauga pārbaudei veic sausnas analīzes. Visos eksperimentos izmantotā ierauga sausnas rādītāji ir vienādi. Iegūtie sausnas mērījumi redzami tabulā 3.8.

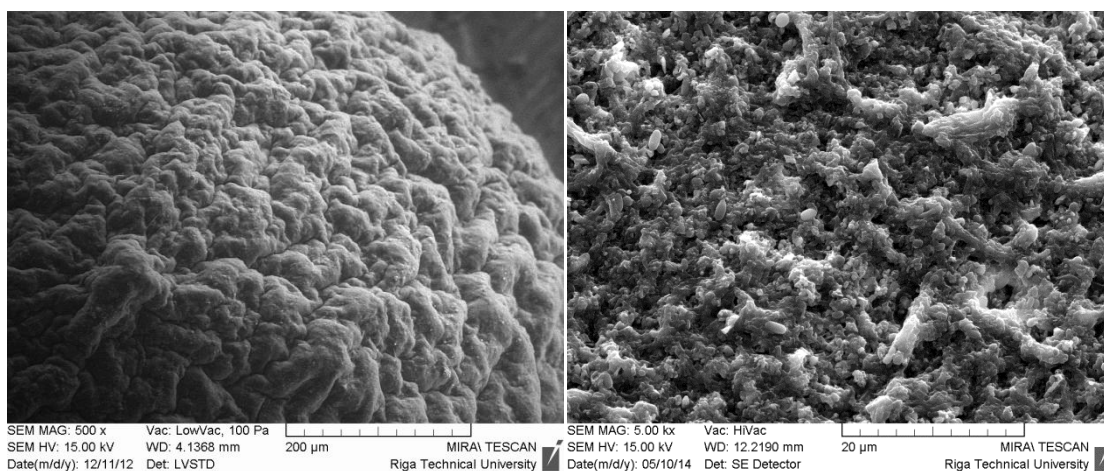
3.8.tabula

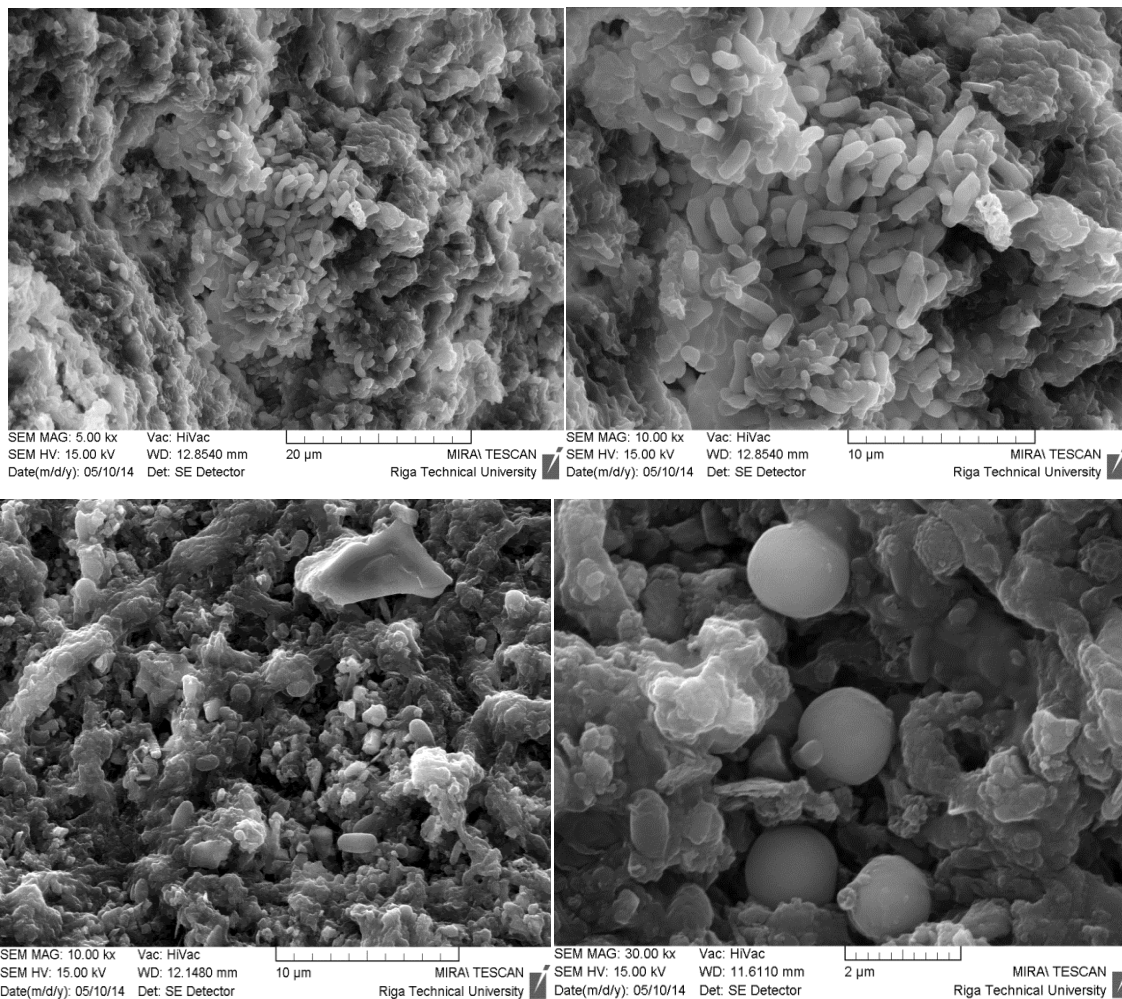
Granulētā ierauga sausnas analīzes

Parametrs	Daudzums
Kopējā sausna, %	22.30 ± 0.10
Gaistošā sausna, %	13.73 ± 0.03
Pelni, %	8.57 ± 0.13

3.7.2 Anaerobo granulu SEM analīze

Skenējošās mikroskopijas attēli (skat. 3.30. att.) parāda viendabīgu, „grubuļainu” virsmu, kas pie lielākiem palielinājumiem uzrāda daudzslāņainu struktūru. Ārējo slāni pārsvarā veido nūjiņveida baktērijas, veidojot atsevišķas grupas, bet attēlos var novērot arī apaļas, pavedienveida u.c. formas.





3.30. att. Granulētā ierauga granulu virsmas SEM attēli. 500 un 5000 reižu palielinājums

3.7.3 Anaerobās pārstrādes vizuāla efektivitātes novērtēšana

3.31. attēlā vizuāli var novērot anaerobās pārstrādes efektivitāti. Pirmajos divos traukos atrodas paraugi bez SM piedevas. Rezultātos redzams, ka organiskās daļas pārstrāde metānā ir noritējusi zemākā pakāpē, nekā ar materiāla piedevu.



3.31. att. Vienreizējās ielādes reaktori ar paraugiem a) bez SM piedevas un b) ar SM piedevu.

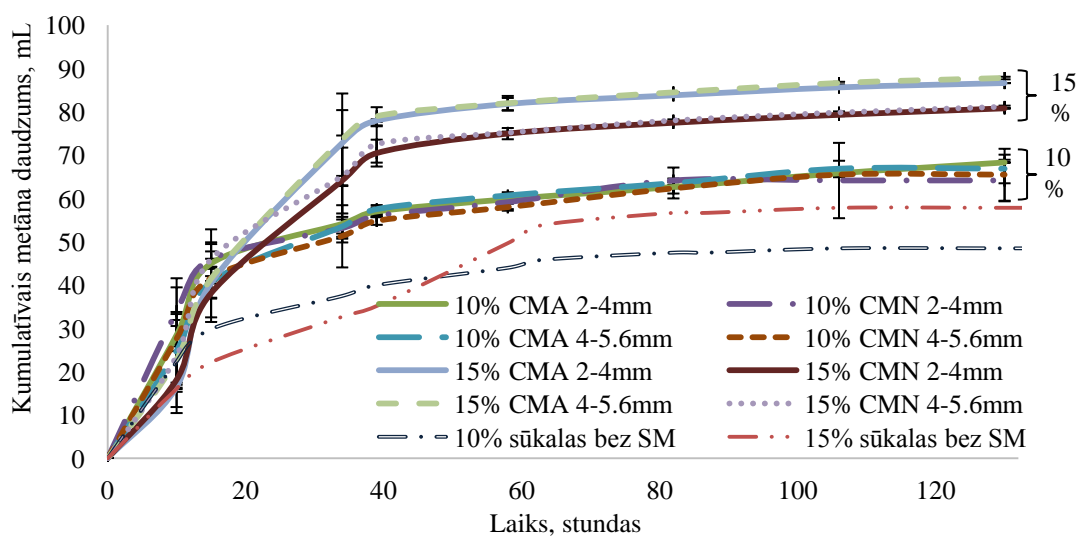
3. un 4. trauciņiem var novērot mazāku duļķainību un, apkopojot rezultātus, redzam, ka tajos organiskās daļas pārstrāde ir notikusi efektīvāk. Pēc vizuālas apskates, var ieraudzīt atsevišķas nepārstrādātas daļas, kas varētu būt tauku atlikumi, jo to anaerobā pārstrāde ir ievērojami ilgāka par cukuru u.tml. substrātu pārstrādi.

3.7.4 Eksperiments ar dažādām SM modifikācijām

3.7.4.1 Metāna ražošanas raksturojums

Eksperimentā tika pētīta granulu frakciju un granulu vecināšanas ietekme uz anaerobās pārstrādes procesu. Eksperiments pamatojas uz to, ka NaOH mitruma ietekmē var karbonizēties, reaģējot ar gaisā esošo CO₂. Tāpēc tika izmantots svaigi pagatavots kompozītmateriāls (CMN) un 6 mēnešus novecināts (CMA). Vecināšana tika veikta standartapstākļos (T_{vid} – 20°C, relatīvais mitrums – 30%). Izmantotas divas granulu frakcijas – 2-4 mm un 4-5.6 mm.

Izmantojot 10 un 15% sūkulu piedevu un sārmaino materiālu ar koncentrāciju 0.6 g/g GS, kumulatīvajos biometāna grafikos var redzēt, ka materiāla piedeva būtiski ietekmē kā biogāzes ražošanas ātrumu, tā arī daudzumu. Ja reaktoros bez SM piedevas jau pirmajā dienā ir novērojama biometāna ražošanas aktivitātes samazināšanās, tad ar materiālu metāna ražošana norit ļoti aktīvi pirmās divas dienas, panākot 80-92% substrāta patēriņu pirmajās trīs dienās (skat. 3.31. att.). Kā rezultātā redzams, ka, izmantojot svaigi pagatavotas granulas (CMN) pie lielākās sūkulu koncentrācijas – 15%, kopējais metāna daudzums ir lielāks.



3.31. att. Kumulatīvā metāna līkne ar 10 un 15% sūkālām un jaunu (CMN) un vecinātu (CMA) SM ar divām dažādām frakcijām 2-4 and 4-5.6 mm.

Pārbaudot granulu izmēra ietekmi uz biometāna ražošanu un izmantojot granulas ar frakcijām 2-4 mm un 4-5.6 mm, tika secināts, ka granulu izmēra atšķirībām nav ietekmes uz fermentācijas procesu.

Apskatot bioķīmiskā metāna potenciāla tabulu 3.9., redzams, ka BMP vērtība reaktoros ar SM ir ievērojami lielāka. Tikko pagatavotām granulām ir lielāka ietekme uz lielāku sūkulu koncentrāciju, savukārt ar mazāku sūkulu koncentrāciju lielāka ietekme ir novēcinātām granulām, kas varētu būt skaidrojams ar mazāku nepieciešamību pēc aktīvākās sārma pievienošanas.

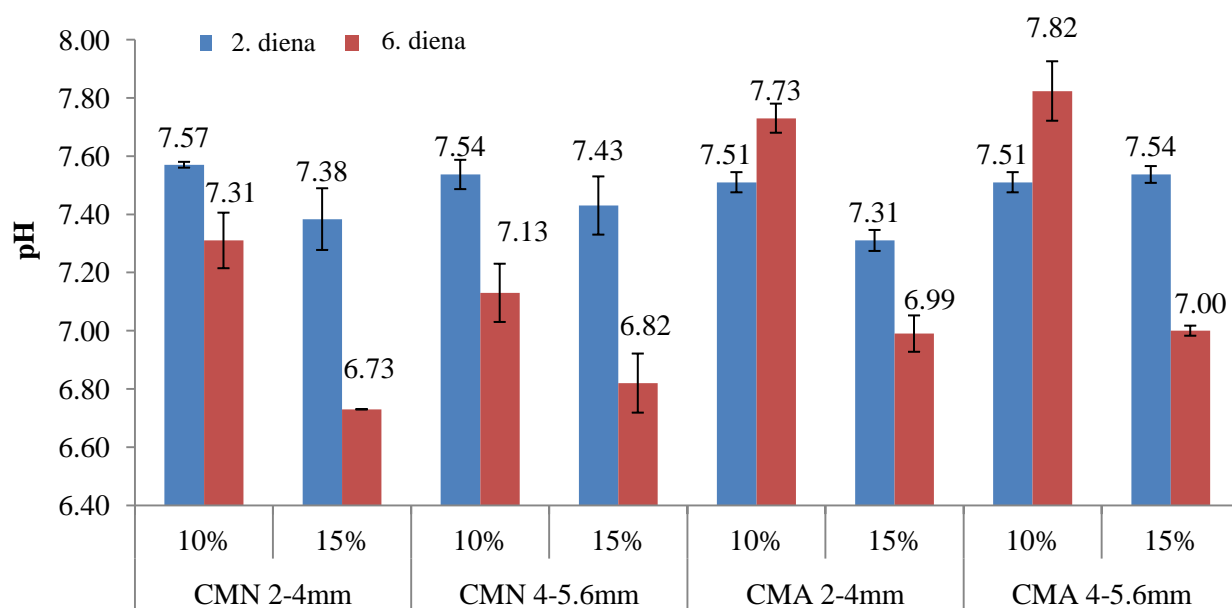
3.9.tabula

Bioķīmiskais metāna potenciāls ar dažādiem SM granulu izmēriem, noturēšanas laikiem un divām sūkulu koncentrācijām

SM tips	Substrāts un SM izmērs	BMP, [mL CH ₄ /g COD]
CMN	15% sūkulas + 4-5.6 mm	199.2 ± 7.7
	15% sūkulas + 2-4 mm	196.5 ± 6.6
	10% sūkulas + 4-5.6 mm	239.8 ± 16.2
	10% sūkulas + 2-4 mm	232.4 ± 6.0
CMA	15% sūkulas + 4-5.6 mm	184.1 ± 0.7
	15% sūkulas + 2-4 mm	183.3 ± 5.1
	10% sūkulas + 4-5.6 mm	306.1 ± 6.6
	10% sūkulas + 2-4 mm	298.9 ± 4.8
Bez SM	10 % sūkulas	122.3 ± 6.8
Bez SM	15 % sūkulas	104.5 ± 1.8

3.7.4.2 pH vērtību novērtēšana eksperimenta laikā

Lai pārlicinātos par sārmainā materiāla spējām paaugstināt pH, tika veikts paralēls tests, kurā laikā tika noteikta pH vērtība otrajā un sestajā eksperimenta dienā. pH ietekmē divi faktori – papildus OH⁻ joni kā pH regulēšanas gadījumā un substrāta pilnīga pārstrāde, jo fermentācijas beigās skābo savienojumu daudzums, kas radies anaerobās fermentācijas metabolisma procesu laikā, ir pārstrādājies biogāzē, dabiski paaugstinot vides pH.



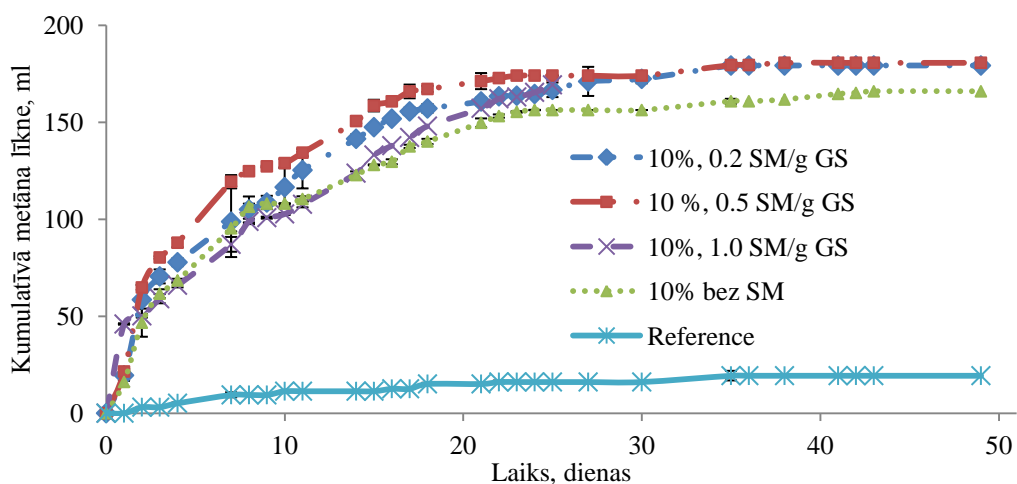
3.32.attēls. Substrāta pH vērtības otrajā un sestajā dienā

Otrajā dienā pH vērtības stipri neatšķirās – tās svārstās robežās 7.31-7.57, kas pierāda sārmainā materiāla spēju uzturēt vides pH optimālā režīmā eksperimenta sākumā (skat. 3.32. att.). Savukārt beigu pH parāda, ka īpaši 15% sūkalu gadījumā, pievienotā sārma koncentrācija nav bijusi pietiekama un substrāta pārstrāde nav notikusi pilnīgi.

3.7.5 Optimālās SM koncentrācijas novērtēšana

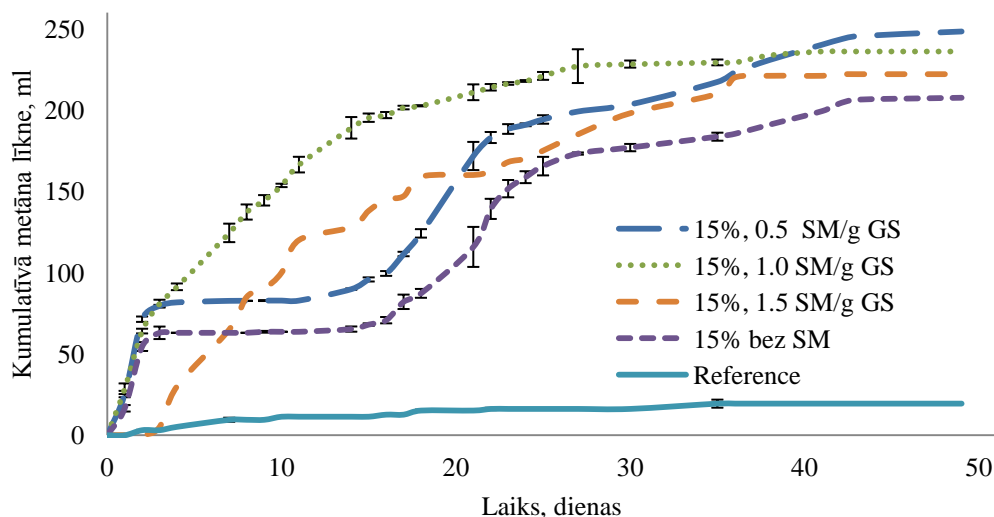
Lai izvērtētu optimālās materiāla pievienošanas vērtības, tika pārbaudītas dažādas SM pievienotā daudzuma vērtības divām sūkalu koncentrācijām – 10 un 15%.

Izpētot eksperimentu ar zemāko sūkalu koncentrāciju 10%, redzams, ka visoptimālā SM koncentrācija ir 0.5 g_{SM}/g_{GS}, jo novērojama augstākā biometāna ražība un straujš saražotās gāzes apjoms pirmajās divdesmit dienās, kurās tika saražots 94.8% no kopējā gāzes tilpuma (skat. 3.33. att.). Fermentācija ar materiāla koncentrāciju 0.2 g_{SM}/g_{GS} pēc ražības ir līdzvērtīga 0.5 g_{SM}/g_{GS}, taču pirmajās divdesmit dienās biometāna ražība ir nedaudz zemāka, kaut gan biometāna potenciāls rezultātā pēc trīsdesmit dienām ir vienāds.



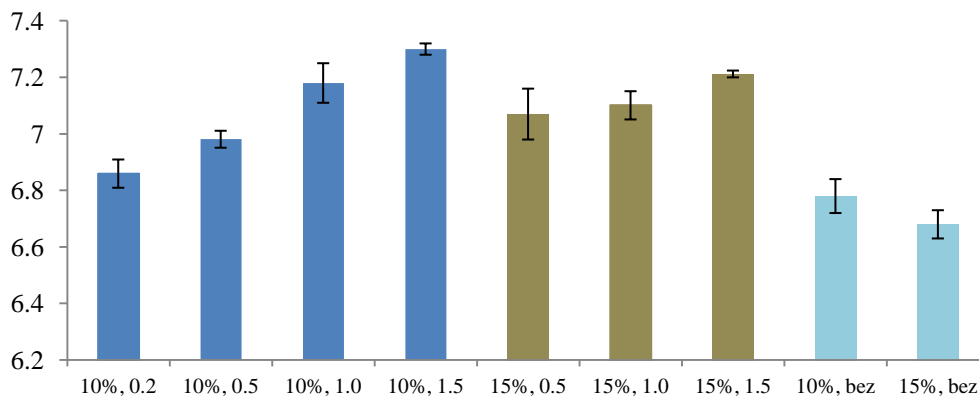
3.33. att. Anaerobās fermentācijas eksperiments ar 10% sūkalu koncentrāciju un dažādām SM piedevām – 0.2, 0.5 un 1.0 g_{SM}/g_{GS}

Izpētot augstāko sūkalu koncentrāciju 15%, redzams, ka visoptimālākā SM piedeva ir 1.0 g_{SM}/g_{GS} (skat. 3.34. att.) Zemākā koncentrācija nespēj noturēt pietiekami augstu buferkapacitāti, kā rezultātā process tiek inhibēts otrajā dienā, līdzīgi kā reaktoros bez SM piedevas. Augstākā koncentrācija 1.5 g_{SM}/g_{GS} , rada sārma pārprodukciju, kā rezultātā process tiek inhibēts pašā sākumā, taču trešajā dienā pH tiek stabilizēts, kā rezultātā sākās ļoti strauja metāna produkcija, taču kopējais saražotais daudzums ir nedaudz zemāks kā pārējos gadījumos.



3.34. att. Anaerobās fermentācijas eksperiments ar 15% sūkalu koncentrāciju un dažādām SM piedevām – 0.5, 1.0 un 1.5 g_{SM}/g_{GS} .

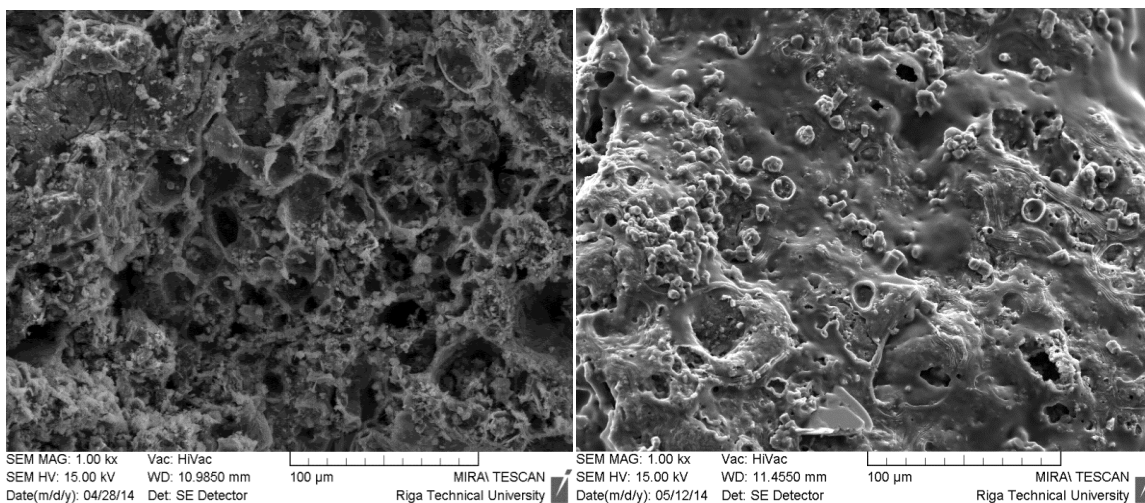
Apskatot beigu pH vērtības, redzama sakarība, ka pie lielākām SM piedevām, ir augstāka beigu pH vērtība. Salīdzinot pH vērtības 10 un 15% sūkalām, augstāks pH ir reaktoros ar zemāku substrāta koncentrāciju, jo šajā gadījumā ir zemāks skābo metabolisma produktu ražošanas daudzums. Kā arī pH vērtības bez SM piedevas ir ievērojami zemākas par rezultātiem pārējos reaktoros.



3.35. att. pH vērtības fermentācijas eksperimenta beigās ar 10 un 15% sūkalām un dažādām (0.2, 0.5, 1.0, 1.5) SM piedevām

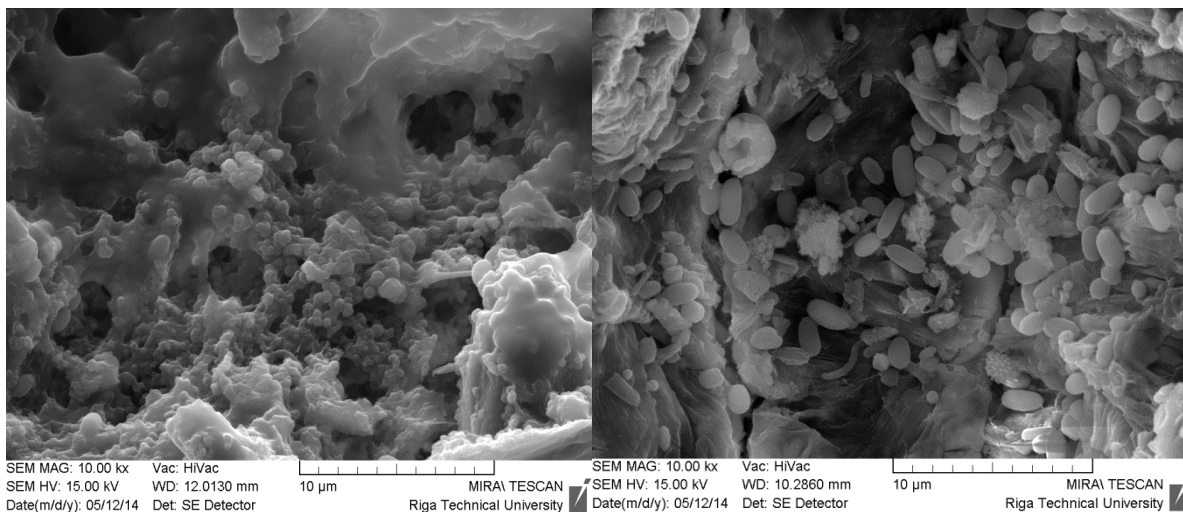
3.7.6 Mikroorganismu imobilizācija uz virsmas

Lai izvērtētu materiāla ietekmi uz mikroorganismu konsorciju un baktēriju spēju piesaistīties SM virsmai, tika veikta izpēte ar SEM. 3.36. att. redzama materiāla virsma pirms un pēc fermentācijas eksperimenta. Pēc eksperimenta materiāla virsma ir noklāta ar mikroorganismu bioplēvi.



3.36. att. Virsmas morfoloģija pirms un pēc fermentācijas

Pie lielākiem palielinājumiem var izšķirt dažādu formu un izmēru mikroorganismus. Pārsvārā ir redzamas 2-3 μm garas nūjiņveida baktērijas, kā arī ir novērojams liels daudzums aptuveni 1 μm lielas apaļas formas un 2 μm stiebrveida organismi.

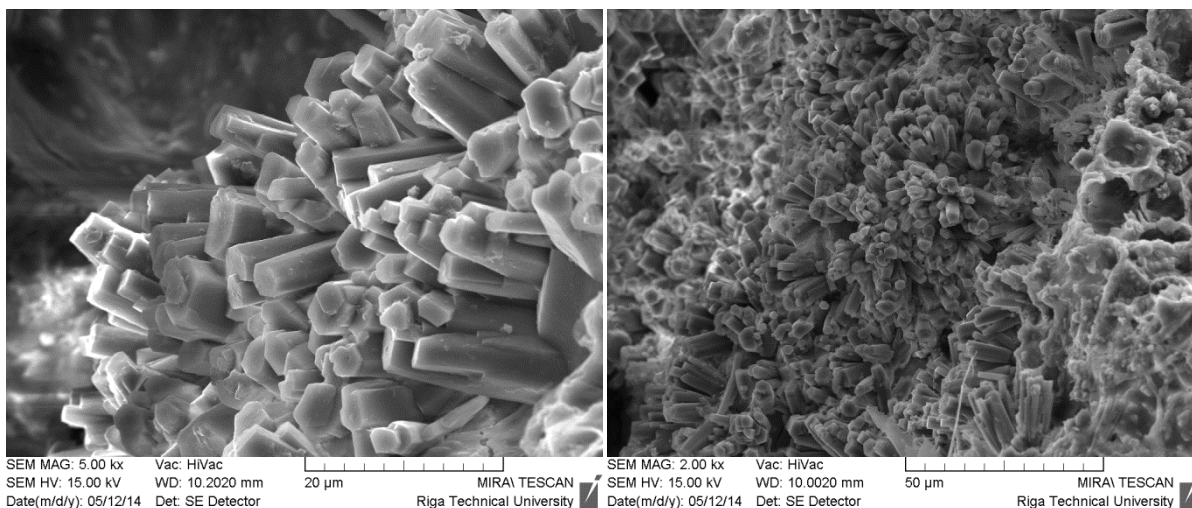


3.37. att. Mikroorganismu imobilizācija uz SM virsmas

Pēc rezultātiem var secināt, ka dažāda veida mikroorganismi labprāt izvietojas uz SM virsmas, veidojot kolonijas, taču to izvietoējums nav pilnībā viendabīgs – ir apvidi, kur bioplēves dislokācija nav novērojama.

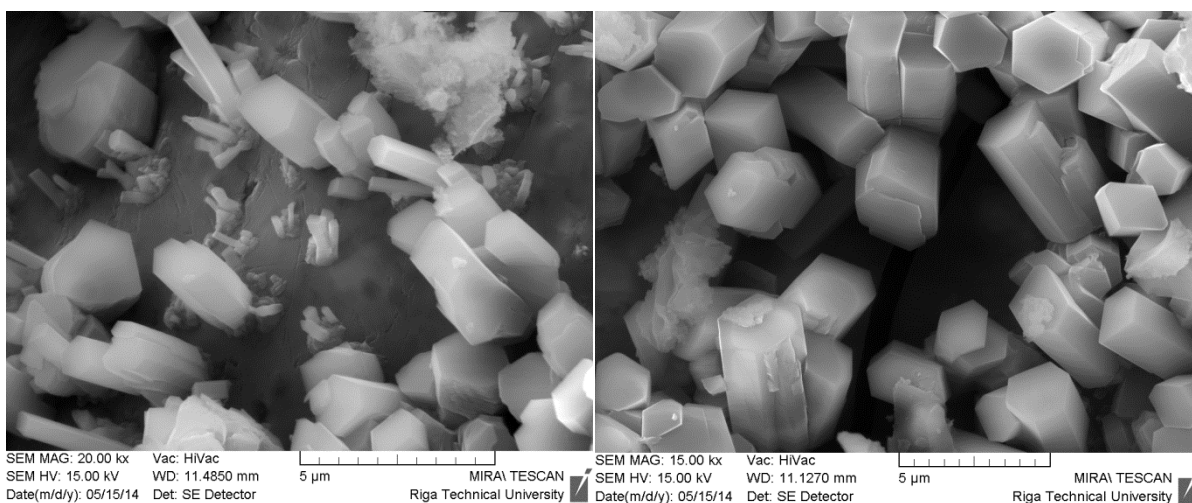
3.7.7 SM virsmas izpēte ar SEM un EDS pēc fermentācijas

Veicot materiāla analīzi pēc fermentācijas ar SEM, var redzēt, ka bez mikroorganismu izvietošanās ir novērojams liels daudzums heksagonālu kristālu (skat. att. 3.38.). Veicot elementu analīzi ar SEM-EDS, iegūtie rezultāti pierādīti, ka izveidotie kristāli sastāv galvenokārt no Al un O atomiem, attiecīgi veidojot 23.20 ± 0.27 un 71.43 ± 0.21 masas %. Līdz ar to var secināt, ka kristālus veido Al_2O_3 , kas ir izskaidrojums ar tā klātbūtni SM izgatavošanas izejmateriālos.



3.38. att. Al_2O_3 kristāli uz sārmainā materiāla ar stikla piedevu pēc skābo sūkalu 10 un 15% fermentācijas

Salīdzinot SEM attēlus diviem SM - ar un bez stikla piedevas, var redzēt, ka Al_2O_3 kristāli uz virsmas daudz biežāk ir sastopami modifikācijai bez stikla. Izpētot materiāla sākotnējo sastāvu var redzēt, ka šajos paraugos Al_2O_3 sākotnēji arī ir bijis vairāk.



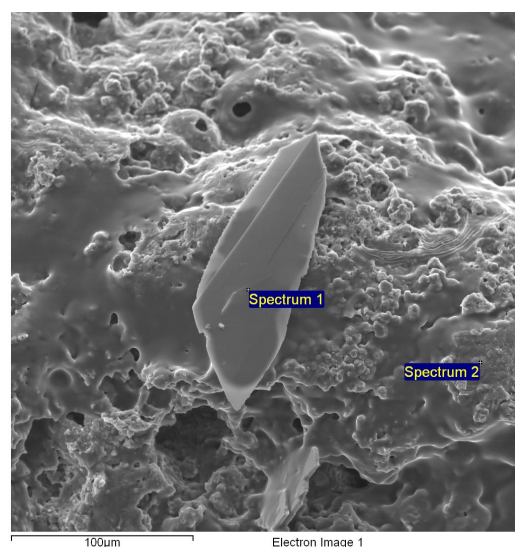
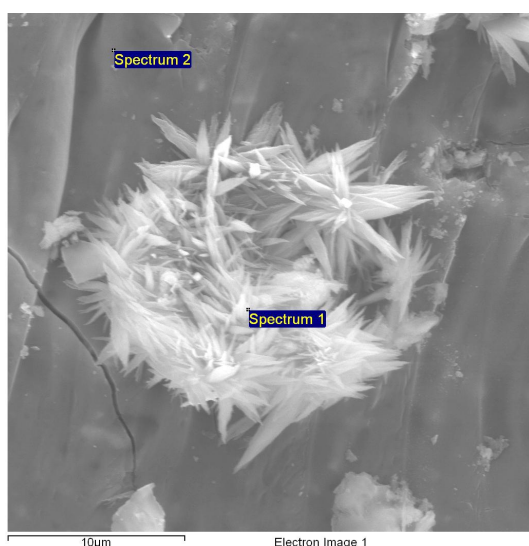
3.39. att. Kristālu analīze pēc fermentācijas SM modifikācijām ar un bez stikla

EDS analīze liecina (skat. 3.10. tabulu), ka kristāli satur arī nelielu daudzumu Na un Si, taču tā kā šie piejaukumi ir līdz 1.0 %, tad to ietekme uz kristālu veidošanos ir niecīga.

EDS analīze heksagonālajiem kristāliem uz SM virsmas

Elements	O	Na	Al	Si
Masas daļa, %	71.43± 0.21	0.88 ± 0.20	23.20 ± 0.27	0.89 ± 0.21

Svaigi pagatavotam materiālam pirms fermentācijas novērojams liels daudzums adatveida kristālu pāris μm garumā, kas visbiežākais izvietoti līdzenās vietās. Veicot EDS analīzi, tika iegūts, ka šie kristāli sastāv galvenokārt no Na (18.60 masas %) un O (70.35 masas %). Var secināt, ka šādi tipa kristāli veidojas uz materiāla virsmas un paaugstina vides pH.

3.40. att. NaOH kristāli pirms fermentācijas un $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ kristāli pēc fermentācijas

Interesanti, ka pēc fermentācijas uz virsmas izveidojušies plakani kristāli, līdz 120 μm garumā. Pēc EDS analīzes tie satur lielu daudzumu P (13.68 masas %), Ca (14.59 masas %) un O (68.75 masas %). To veidošanos var izskaidrot ar sūkalās esošo kalcija jonu reakciju ar materiālā esošajiem fosfāta joniem. Kaut arī metanogēnajām baktērijām Ca ir nepieciešams makroelements, tomēr sūkalās to daudzums ir lielāks par nepieciešamo, tāpēc liekā Ca izsēšanās kristālu formā uz materiāla virsmas ir pozitīva rakstura.

EDS analīze Na un Ca saturošajiem kristāliem

Elements	O	Na	Mg	Al	Si	P	Cl	K	Ca	Fe
Masas daļa, kristāls, A, %	70.35	18.60	-	4.46	6.59	-	-	-	-	-
Masas daļa, virsma, A, %	68.64	7.62	-	8.10	15.01	-	-	-	-	-
Masas daļa, kristāls, B, %	68.75	-	-	1.79	0.95	13.68	0.24	-	14.59	-
Masas daļa, virsma, B, %	68.75	1.26	0.36	31.80	11.30	13.68	0.53	0.58	14.59	0.85

Atkarībā no EDS analīzes vietas, pārējā materiāla virsma satur galvenokārt no Al, Si un O atomiem, parādot, ka materiāls sastāv galvenokārt no Al un Si oksīdiem. Pēc fermentācijas uz virsmas parādās papildus elementi kā Mg, K un Fe, kas paver ceļu šī materiāla tālākai izmantošanai citos virzienos, kā piemēram, kā keramzīta aizvietotājs puķu audzētājiem.

3.7.8 Eksperiments ar dažādiem materiāla sastāviem

3.7.8.1 Sūkalu analīzes

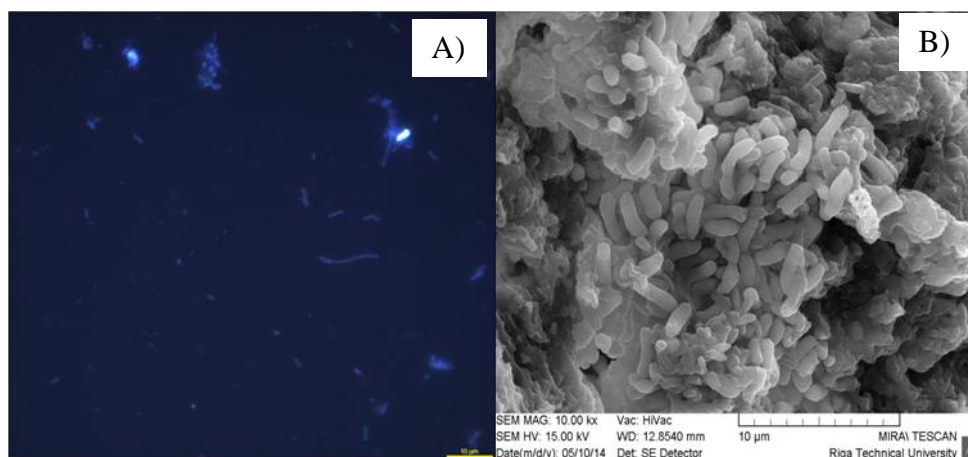
Eksperimentam tika izmantotas sūkalas ar sekojošu sastāvu (skat. 3.11. tabulu). Eksperimentā izmantotās sūkalas satur vidēji augstu ĶSP vērtību un pH.

Sūkalu analīze

Parametrs	Sūkalas
pH [20 °C]	5.24
Kopējā sausna [% m/m]	6.21
Gaistošā sausna [% m/m]	5.45
ĶSP _{total} [g O ₂ /L]	65.8
Pelni [% m/m]	0.69

3.7.8.2 Ierauga analīzes

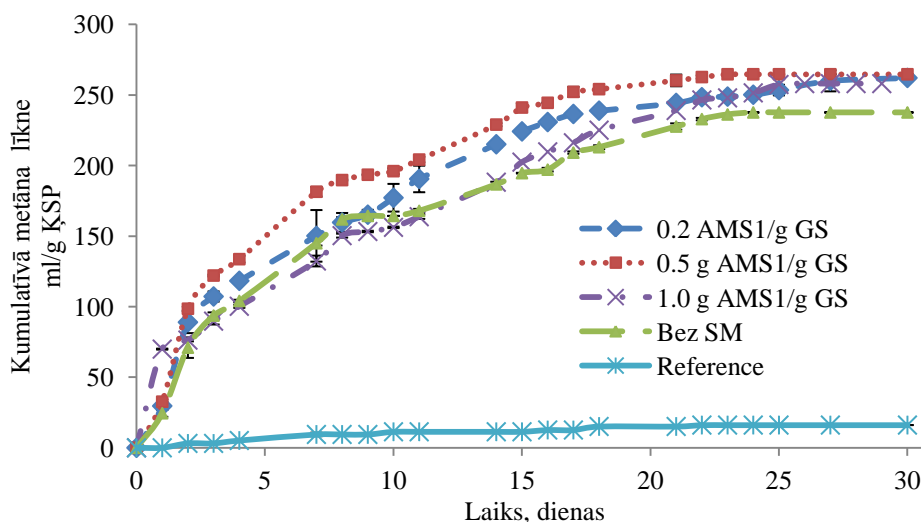
Eksperimentā izmantots granulētais ieraugs, kurš satur: 22.3% KS, 13.7% GS un 8.6% pelnu. Epifluorescentajā mikroskopā uzrādās liela mikroorganismu dažādība. Šūnu izmēri ir no 0.2 līdz pāris mikrometriem, ieskaitot kokus, nūjiņveida baktērijas, kokobacilus u.c. Pēc FISH analīzēm, 42% no kopējo šūnu pieder Achaea domēnam.

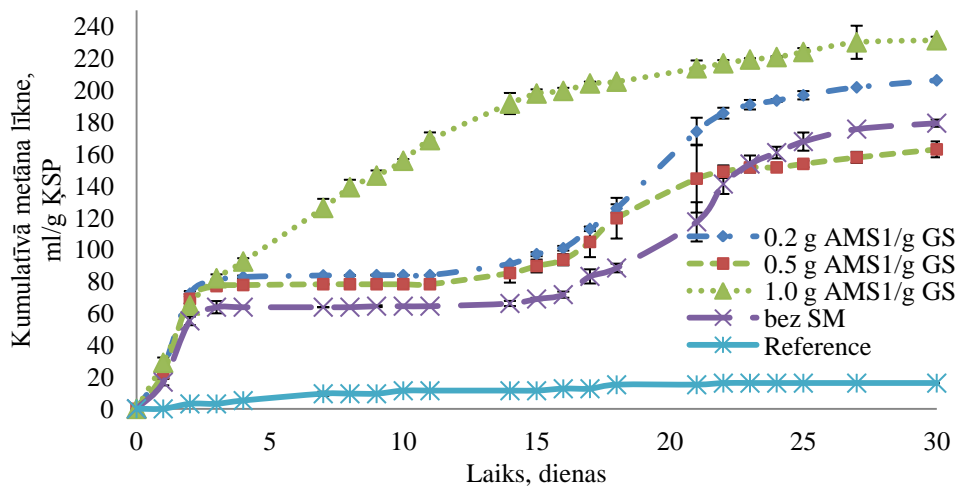


1.41. att. Granulētā ierauga paraugi epifluorescentajā (a)) un elektronu skenējošajā mikroskopā (b)).

3.7.8.3 Vienreizējās ielādes trauku eksperiments

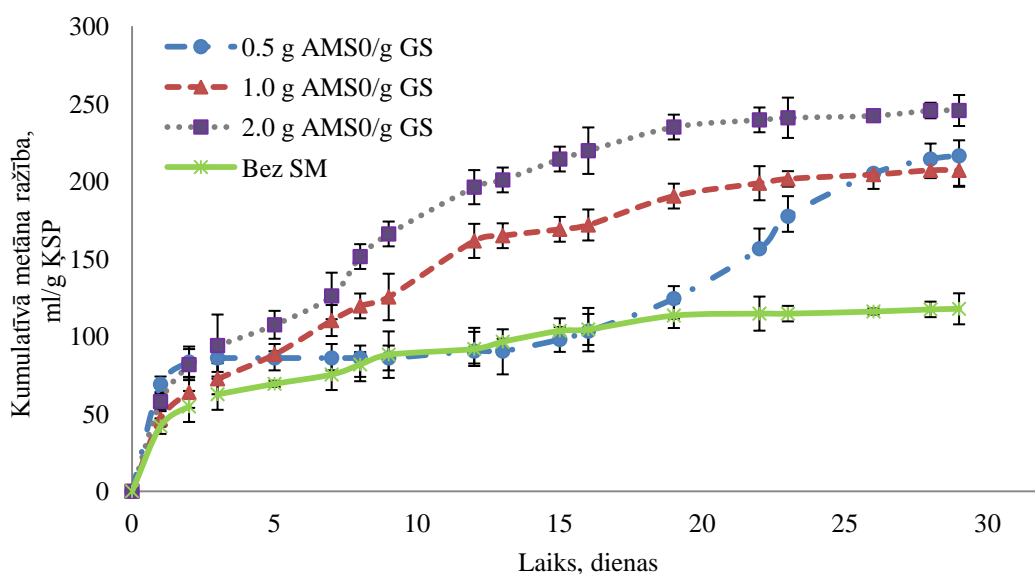
Attēlā 3.42. redzams, ka ar AMS1 piedevu un 15% sūkulu koncentrāciju visstraujākā metāna ražošana ir novērojama ar piedevu 1.0 g/g_{VS}, kamēr pārējos reaktoros novērojams no 3. līdz 15. dienai ir novērojama inhibīcija. Eksperimenta beigās tika novērotas sekojošas BMP vērtības: 206 ml/g_{ĶSP} ar 0.2 g AMS1/g VS, 163 ml/g_{ĶSP} ar 0.5 g AMS1/g VS, 231 ml/g_{ĶSP} ar 1.0 g AMS1/g VS un 177 ml/g_{ĶSP} ar 1.0 g AMS1/g VS un 177 ml/g_{ĶSP} VS reaktors bez materiāla piedevas.





1.42. att. Kumulatīvās metāna līknes, izmantojot sūkalu piedevu 10% un 0.2, 0.5, 1.0 g AMS1/g GS (a) un sūkalu piedevu 15% un 0.2, 0.5, 1.0 g AMS1/g GS (b)

Kumulatīvās metāna līknes ar AMS0 ir dotas attēlā 3.43. Pievienotais AM daudzums tika palielināts, ņemot vērā titrēšanās līknēs parādīto zemāku sārma izdalīšanās spēju. Rezultāti rāda, ka ļoti straujš saražotā metāna tilpums vērojams pirmajās dienās visos reaktoros, taču ar materiālu piedevu tika saražots 17-52% vairāk, nekā bez AMS0. Eksperimenta beigās visvairāk metāna tika iegūts reaktoros ar 2.0 g AMS0 (242 ml/g ŪSP), kas ir augstāks rādītājs, nekā ar AMS1 piedevu.



1.43. att. Kumulatīvās metāna līknes, izmantojot 15% sūkalas un 0.2, 0.5, 1.0 g AMS0/g GS.

Kopējais saražotā metāna tilpuma pieaugums sistēmās ar sārmaino materiālu ir vidēji par 76-106% augstāks nekā bez materiāla piedevas.

3.12. Tabula

Parametri eksperimenta beigās

No	Sūkalu konc., m%	Materiāls	AM piedeva, g/g VS	pH	TS, %	VS, %	BMP, mL CH ₄ /g ĶSP
1	15	AMS1	0.2	7.29±0.08	0.46±0.09	0.20±0.02	203.58
2			0.5	7.54±0.12	0.48±0.13	0.21±0.01	204.66
3			1.0	7.85±0.28	0.38±0.04	0.17±0.05	231.21
4		AMS0	0.5	7.14±0.02	0.58±0.06	0.23±0.07	219.15
5			1.0	7.32±0.08	0.55±0.11	0.22±0.06	209.63
6			2.0	7.48±0.19	0.48±0.12	0.18±0.07	245.49
7			Bez	0.0	6.65±0.21	1.24±0.14	0.79±0.08

pH vērtības eksperimenta beigās uzrāda acīmredzamu tendenci SM - piedeva paaugstina pH vērtību, nodrošinot optimālus vides apstākļus (skat. 3.12. tab.). SM piedeva paaugstina BMP vērtību ar 10% sūkalu koncentrāciju līdz 10%, ja salīdzina rezultātus bez piedevas. Visausgtākā potenciāla vērtība (264.6 mL CH₄/g ĶSP) tika novērota reaktoros ar 0.5 g AMS1/g GS. Visausgtākā BMP vērtība (231.2 mL CH₄/g ĶSP) ar 15% sūkalām tika novērota reaktoros ar 1.0 g AMS1/g GS. BMP vērtība palelinājās līdz 37.1% ar AMS0 piedevu. Tika novērots, ka, kaut arī ar AMS0 piedevu reaktoros ir par 6% ausgtākas vērtības, tomēr dēļ acīmredzamajiem nestabīlajiem procesiem turpmākiem pētījumiem izvēlēts AMS1.

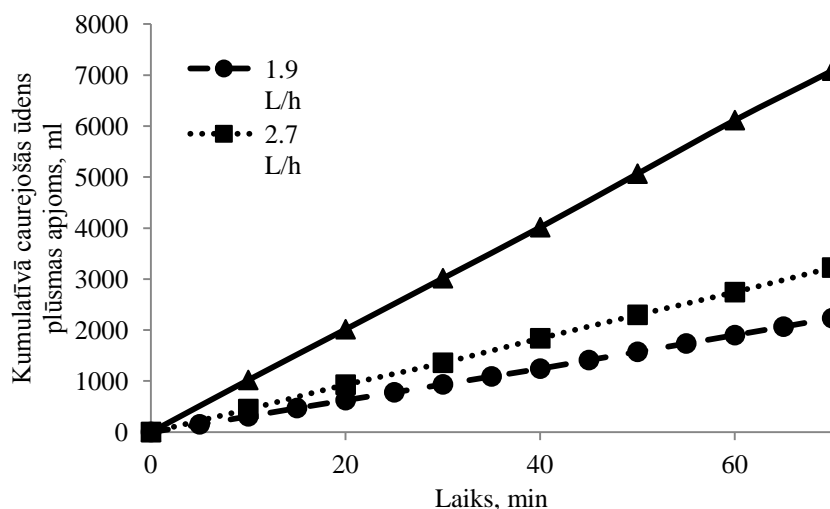
3.8 Nepārtraukta tipa reaktora ar sārmainā materiāla izmantošanu tehnoloģijas izstrāde

3.8.1 Izskalošanas tests ar ūdeni

Lai izprastu materiāla izmantošanas veidu nepārtrauktas darbības reaktorā, tika izstrādāta metode dinamiskai izskalošanai un noskaidrota materiāla spēja uzturēt noteiktu pH šķidrumā (skat. att. 3.41.).

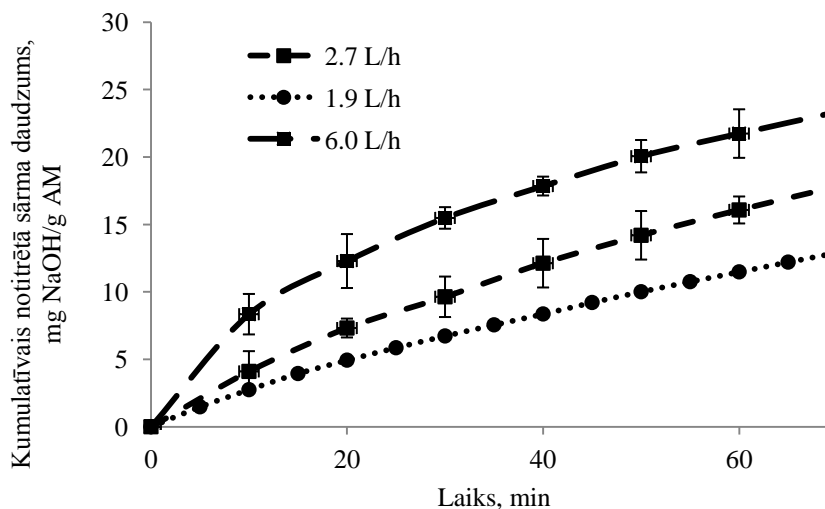
Tika izmantotas trīs plūsmas 1.9, 2.7 un 6.0 L/h. Kopējais izskalotais ūdens tilpums attiecīgi 2.23, 3.22 un 11.1 L. Sārmainās granulas ar masu 11.37, 11.56 un 12.56 g tika

ievietotas speciāli izveidotā kārtīdžā, caur kuru ar peristaltiskā sūkņa palīdzību tika sūknēts destilēts ūdens ar noteiktu ātrumu. Izejošā šķidruma daudzumu grafiku var redzēt att.



1.44.att. Kumulatīvais caurejošā ūdens plūsmas tilpums

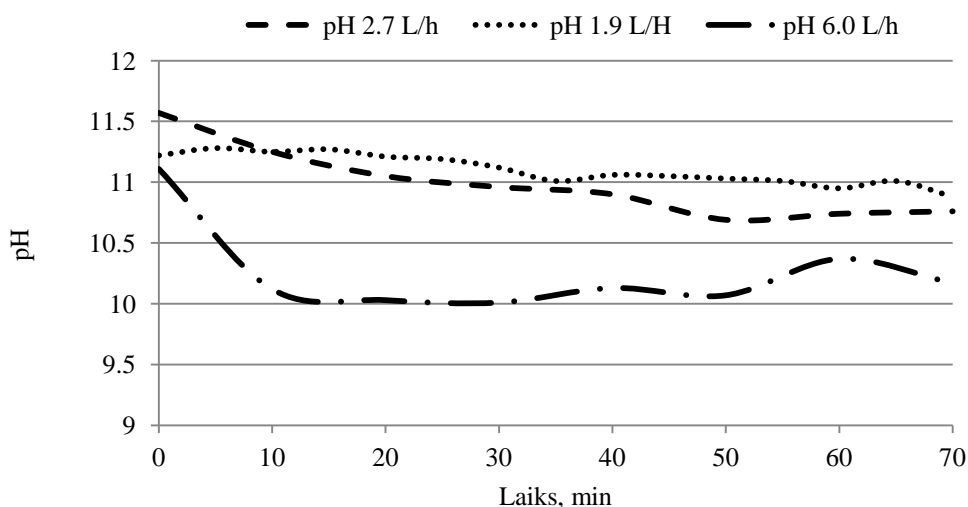
Analizējot notitrēto kumulatīvo sārma daudzumu, var redzēt, ka sārma izskalošanās dinamika ir vienmērīga divām lēnākajām plūsmām, savukārt ātrākajai plūsmai straujāka izskalošanās ir notikusi pirmo desmit minūšu laikā, pēc tam sārma izdalītais daudzums ir izlīdzinājies.



3.45.att. Kumulatīvie notitrētā NaOH daudzumi

pH līknes (skat. att. 3.44.) uzrāda stabilu diapazonu ap vērtību 11.0 pirmās stundas laikā, izmantojot plūsmas ātrumu 1.9 L/h. Ar vidējo plūsmu 2.7 L/h pēc izskalošiem 4.7 L uzrāda vērtības stabilizēšanos uz 10.72. Savukārt ar plūsmu 6.0 L/h sākumā izejošā ūdenī

notiek straujš pH vērtības kritums no 11.1 uz 10.0, bet pēc tam šī vērtība saglabājas pat pēc 11.1 L izskalošanas.

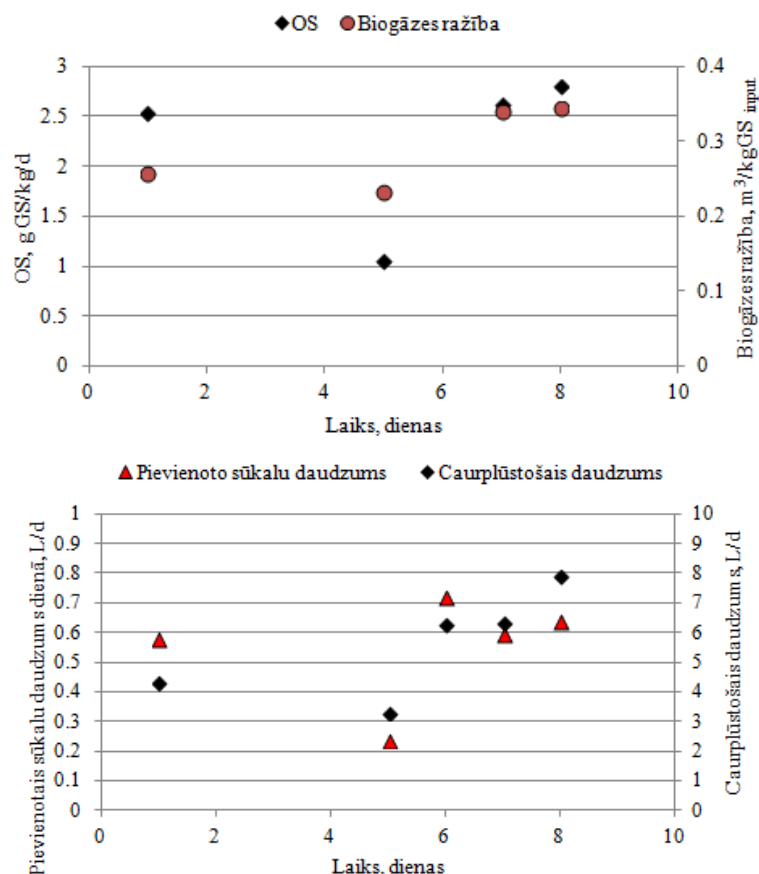


3.44.att. pH vērtības caurejošā ūdenī ar trim dažādām plūsmām pēc izskalošanas caur SM.

3.8.2 *Nepārtrauktas darbības eksperiments*

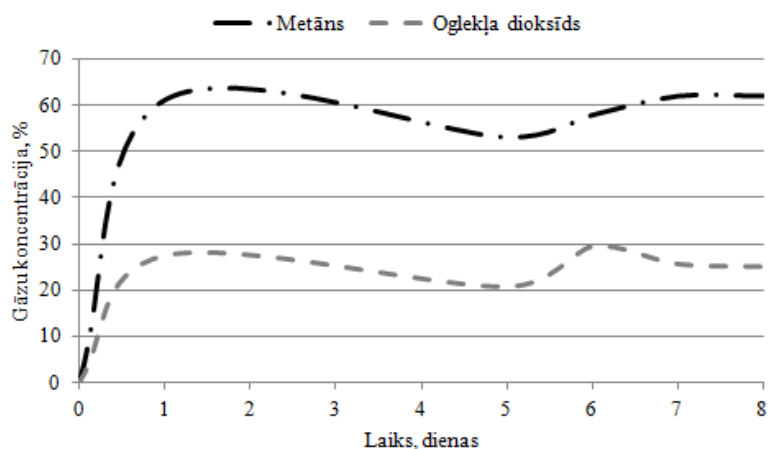
Izmantotais materiāls ir izgatavots no atkritumiem, līdz ar to, kaut arī aktivizācijas reakcijas norisei ir nepieciešama sārma klātbūtne, kas tiek izmantota eksperimentos, un nedaudz paaugstināta temperatūra (80 °C), tomēr kopējās sistēmas izmaksas ir salīdzinoši zemas. SM pievienošana reaktora sistēmai pirms sūkalu anaerobās pārstrādes neprasa papildus pH regulāciju. Nepārtrauktās darbības sistēmā pH tika uzturēts robežās 7.2 ± 0.05 .

Sūkalu anaerobā pārstrāde, izmantojot SM materiālu pH kontrolei, uzrādīja sekojošus parametrus: HUT – 5-7 dienas, OS – 1.7-2.7 GS/kg/d, GS samazinājumu robežās 84-96%, biogāzes ražību 0.25-0.32 m³/kg GS/d (3.45. att.). Vidējā sasniegtā metāna koncentrācija bija 64% (3.46. att.).

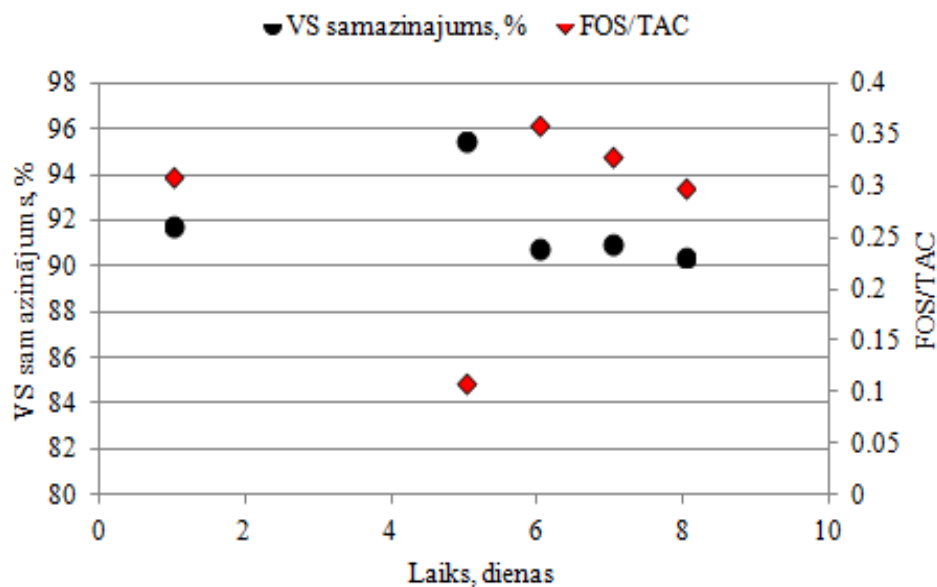


1.45.Att. Biogāzes ražība pie dažādām organiskām slodzēm un pievienoto sūkļu tilpums attiecībā pret caur SM pildīto filtru caurejošo digestāta tilpumu.

Nemainīga SM aktivitāte pie dotajām organiskajām slodzēm raksturīga septiņu dienu ilgumā. Vidējais caur filtru caurejošais digestāta tilpums ir 1 L/g GV/kg SM, kas atbilst sūkļu un caurplūstošā digestāta tilpuma attiecībai 1:10.



1.46.Att. Vidējais biogāzes sastāvs eksperimenta laikā



1.47. Att. FOS/TAC attiecība un GS samazinājums

Eksperimenta laikā ir panākts vidēji 90-91% VS samazinājums (skat. 1.47 att.), kas ir ļoti augsts rādītājs, salīdzinot ar literatūras datiem. FOS/TAC attiecība pietuvojas kritiskajai attiecībai 0.35 pie visaugstākās organiskās slodzes vērtības (2.7 GS/kg/d), līdz ar to ausgtāks piebarošanas profils nav vēlams. Pie esošā procesa reaktors ar pH kontroli, izmantojot SM, strādā efektīvā režīmā.

Diskusijas daļa

Gadījumos, kad piena pārstrādes uzņēmumiem ir to atlikumu izmantošanas problēmas, bet nav pieejami līdzekļi lielām investīcijām sūkulu pārstrādes tehnoloģiju ieviešanai, piemēram, proteīnu un laktozes atgūvei, anaerobā pārstrāde ir laba un izdevīga alternatīva piesārņojuma samazināšanai, ko pierādīja arī Spachos un Stamatis [107], izmantojot ekserģijas un ekonomisko analīzi. Malaspina [58] apgalvoja, ka, kaut arī sūkalas ir diez gan sarežģīts substrāts, ko izmantot anaerobajā pārstrādē, īpaši augstas slodzes reaktoros, tomēr dēļ augstā organiskā satura, zemās bikarbonātu cietības (50 meq/L), tendences ļoti ātri paskābināties, granulācijas problēmām, baktēriju tendences ražot viskozus eksopolimērveida materiālus, kas samazina dūņu nosēšanos spēju un līdz ar to veicina biomasas izskalošanās iespēju, tas padara sūkulu anaerobo pārstrādi par izaicinājumu. Tomēr dažu anaerobo pārstrādes tehnoloģiju un sistēmu izstrāde sūkulu pārstrādē pierāda, ka tās ir vērtīgs enerģijas avots.

Apskatot dažādus sūkulu anaerobās pārstrādes datus, nākas secināt, ka ir grūti salīdzināt dažādas izmantotās tehnoloģijas ne tikai dažādo izmantoto anaerobo ieraugu dēļ [2], bet arī dēļ dažādiem procesa parametriem, piemēram, temperatūras, pH, OS, KS, GTS, toksicitāte, HUT, kā arī dēļ dažādiem sūkulu sastāviem. Dažādi reaktora veidi ir pētīti, sākot no pavisam vienkāršiem, līdz sarežģītākiem reaktoriem, kā UASB tipa reaktors.

Patel [108] pētīja anaerobo pārstrādi sūkalām ar augstu organisko saturu (70 g ŪSP/L), izmantojot pretplūsmas bioplēves reaktoru un panākot ŪSP samazinājumu par 81% un HUT 2 dienas, par atbalstu izmantot kokogli. Izmantojot vienkāršu bioplēves reaktoru, HUT ir garāks - līdz 5 dienām [109].

Lielā skaitā gadījumu, tiek izmantota pH kontrole, lai nodrošinātu procesa stabilitāti. pH tiek koriģēts, izmantojot galvenokārt bikarbonātu [103] vai NaOH [105]. Tomēr vairumā gadījumu sūkalas tiek pārstrādātas ko-fermentācijā, vismaz 50% apjomā pievienojot kūtsmēslus, kuru TAC vērtības bieži vien ir krietni augstākas nekā sūkalām, tādējādi nodrošinot stabilas pH vērtības. Atsevišķos gadījumos sārmu pievieno sūkalām pirms to

ievadišanas reaktorā, tādējādi nodrošinot ČSP samazinājumu līdz 95% ar OS 6.5 g ČSP/L/d [110].

Pakāpeniski pasaulē pieaug to piena pārstrādes uzņēmumu skaits, kas izvēlas sūkalas pārstrādāt biogāzē, tādējādi ne tikai atrisinot organisko atkritumu plūsmu izmantošanas problēmas, bet arī iegūstot enerģiju, ar ko daļēji segt savu enerģijas patēriņu. Viens no uzņēmumiem, kas piedāvā risinājumu sūkalu anaerobajā pārstrādē, ir AB Valbio, kas piedāvā uzstādīt patentētu UASB reaktoru. Viena no stacijām atrodas Tyras SA piena pārstrādes uzņēmuma teritorijā Trikalā, Grieķijā. Stacija darbojas kopš 2009. gada. Sistēmas efektivitāte sasniedz 93 %, ČSP vērtība ieejā ir 55 g/L, bet izejā 1,1 g/L. Ir aprēķināts, ka uzņēmums ar uzstādīto staciju spēj nosegt 75% no tās enerģijas patēriņa.

Kaut arī enerģijas ieguve ir izdevīga, tomēr stacijas izvietošana piena uzņēmumu teritorijās prasa ievērojamus līdzekļus. Parasti tiek pieņemts, ka biogāzes staciju uzbūves izmaksas svārstās no 3000 -5000 EUR uz vienu kWh.

Kaut arī tiek meklētas jaunas tehnoloģijas, tomēr sūkalu izmantošana biogāzes ieguvē ir ierobežota un inovatīvu tehnoloģiju ieviešana nav pārāk izplatīta. Sārmaina materiāla pielietojums skābo sūkalu anaerobajā fermentācijā parādījis lielu potenciālu to izmantošanā. Darbs ir īpaši nozīmīgs ar to, ka pielietotais sārmainais materiāls ir izgatavots no rūpnieciskajiem atkritumiem. Eksperimentālajā daļā ir parādīts, ka sārmainā materiāla 0.5 $\text{g}_{\text{SM}}/\text{g}_{\text{GS}}$ piedeva vienreizējās ielādes reaktoros ar sūkalu koncentrāciju 10%, ievērojami uzlabo fermentācijas procesa gaitu un iznākumu, uzlabojot bioķīmiskā metāna potenciālu līdz pat 22%. Savukārt pie lielākām sūkalu koncentrācijām metāna ražošanas ātrums palielinās līdz pat divām reizēm.

SM var tikt izmantots ne tikai kā pH stabilizētājs. Kā potenciāls virziens turpmākajiem sārmainā materiāla pētījumiem anaerobajā fermentācijā, ir tā izmantošana kā mikroorganismu pamatņu veidotājam reaktoros ar fiksētu bioplēvi. Pēc biogāzes iegūšanas eksperimentiem tika izpētīta SM virsma ar SEM un pie lielākiem palielinājumiem (5-10 tūkst. reižu) var izšķirt dažādu formu un izmēru piesaistījušos mikroorganismus. Pārsvārā ir redzamas 2-3 μm

garas nūjiņveida baktērijas, kā arī ir novērojams liels daudzums aptuveni 1 μm lielas apaļas formas un 2 μm stiebrveida organismi.

Nākamie materiāla izpētes mērķi ir tā palietojums kā materiālam, kurš spēj sorbēt citus potenciāli inhibējošus savienojumu, piemēram, amoniju pārāk augstās koncentrācijās. Līdz ar to tiks pētītās materiāla iespējas tikt izmantotam kā minerāla zeolīta analogam anaerobos fermentācijas procesus. Tāpat tiks veikti pētījumi par $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ raksturu skābo sūkalu anaerobajā fermentācijā, izmantojot sārmaino kompozītmateriālu pH vides noregulēšanai.

Secinājumi

1. Piena pārstrādes galvenā atkritumu plūsma – sūkalas, ir pieejams un daudzsološs substrāts biogāzes iegūšanai, jo satur augstu enerģētisko vērtību, ir viegli pārstrādājamas un pieejamas mikroorganismiem.
2. Izmantojot automātisko pH regulēšanas sistēmu nepārtrauktas darbības reaktorā ar maisītāju, ir iespējams uzturēt optimālu organisko slodzi $2.8 \text{ kg GS/m}^3/\text{d}$, iegūt vidējo biogāzes ražību $0.35 \text{ m}^3/\text{kgGS}/\text{d}$ ar vidējo metāna saturu 52%.
3. Sārma izdaloši materiāli no alumīnija un stikla pārstrādes atkritumiem var tikt izmantoti kā jauni progresīvi materiāli kā pH kontrolei, tā arī kā pamatnes mikroorganismu imobilizācijai anaerobos fermentācijas procesos.
4. Optimālā sārmainā materiāla koncentrācija ar sūkalu piedevu 10 % ir $0.5 \text{ g}_{\text{SM}}/\text{g}_{\text{GS}}$, ar sūkalu koncentrāciju 15% - $1.0 \text{ g}_{\text{SM}}/\text{g}_{\text{GS}}$, jo novērojama stabila un līdz pat 22% augstāka metāna ražība, salīdzinot eksperimentus bez SM piedevas.
5. Izvērtēta tehnoloģisko parametru ietekme uz materiāla sārma izdalīšanās dinamiku un pH paaugstināšanas spēju un iegūts, ka skābo sūkalu anaerobajā fermentācijā ieteicams izmantot 2-4 mm frakciju SM ar stikla piedevu un sastāvu $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ 1.7, $\text{SiO}_2/\text{Na}_2\text{O}$ 3.3 un $\text{Na}_2\text{O}/\text{Al}_2\text{O}_3$ 0.5, izmantojot 1 kg SM piedevu uz 0.03 m^3 reaktora tilpuma.
6. Izvērtēta materiāla spēja uzturēt pH robežās 7.2 ± 0.05 nepārtraukta tipa fermentācijā un secināts, ka caurejošās digestāta plūsmas tilpums caur filtru, saturošu SM, ir $3 \text{ L}/\text{g}_{\text{GS}}/\text{d}$ pie OS $1.7\text{-}2.7 \text{ kg}_{\text{GS}}/\text{m}^3/\text{d}$ un vidējās biogāzes ražības $0.25\text{-}0.32 \text{ m}^3/\text{kg}_{\text{GS}}/\text{d}$, bet materiāla nomaiņa jāveic ik pēc septiņām dienām.

Conclusions

1. Dairy waste, like whey, is an attractive substrate for anaerobic treatment, because it is of high energetic value, is easily biodegradable and accessible for microorganisms.
2. It is possible to obtain biogas production rate of $0.35 \text{ m}^3/\text{kg}_{\text{VS}}/\text{d}$ with OLR of $2.8 \text{ kg VS}/\text{m}^3/\text{d}$ in a continuous reactor with automatic pH system, and to achieve methane concentration of 52%.
3. The alkali-releasing material produced from aluminium and glass fibre production waste is a very attractive material for pH control in anaerobic digestion systems and can also be used as a support for microorganism immobilisation.
4. The optimal alkaline material concentration with whey additive of 10% is $0.5 \text{ g}_{\text{AM}}/\text{g}_{\text{VS}}$, but with whey additive of 15% - $1.0 \text{ g}_{\text{AM}}/\text{g}_{\text{VS}}$, because of higher biomethane yield up to 22% compared to experiments without AM additive.
5. Influence of technological parameters on base-releasing rates and ability to increase pH were evaluated and it was concluded, that, in whey anaerobic digestion process, it is recommended to use AM fraction of 2-4 mm with $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ ratio of 1.7, $\text{SiO}_2/\text{Na}_2\text{O}$ ratio of 3.3 and $\text{Na}_2\text{O}/\text{Al}_2\text{O}_3$ ratio of 0.5, using 1 kg AM per 0.03 m^3 reactor volume.
6. Material's ability to control pH was evaluated in range of 7.2 ± 0.05 in a continuous reactor and it was concluded, that digestate flow through a filter, that contains AM, should be $3 \text{ L}/\text{g}_{\text{VS}}/\text{d}$ while OLR is $1.7\text{-}2.7 \text{ kg VS}/\text{m}^3/\text{d}$ and obtained average biogas rates are $0.25\text{-}0.32 \text{ m}^3/\text{kg VS}/\text{d}$; material should be changed every seven days.

Darba aprobācija

Par promocijas darba zinātniskajiem sasniegumiem un galvenajiem rezultātiem ziņots 8 starptautiskās zinātniskajās konferencēs, ir publicētas 9 pilna teksta zinātniskās publikācijas un 2 recenzētas zinātniskās konferenču tēzes, saņemti divi pozitīvi Eiropas patenta apstiprinājumi un gatavots Latvijas Republikas patents.

Pilna teksta zinātniskās publikācijas:

1. Ruģele, K., Būmanis, Ģ., Bajāre, D., Mežule, L., Pitk, P. Effect of glass additive in alkaline granules in anaerobic treatment of whey. *Proceedings: 5th International Symposium on Energy from Biomass and Waste*, 2014, pp. 1-9 (Scopus).
2. Ruģele, K., Mežule, L., Daļeckā, B., Larsona, S., Vanags, J., Rubulis, J. Application of Fluorescent *in situ* Hybridisation for Monitoring Methanogenic Archaea in Acid Whey Anaerobic Digestion. *Agronomy Research*, 2013, Vol.11, No.2, pp.373-380 (Scopus).
3. Ruģele, K., Būmanis, Ģ., Bajāre, D., Lakevičs, V., Rubulis, J. Alkaline Activated Material for pH Control in Biotechnologies. *Key Engineering Materials*, 2014, Vol.604, pp.223-226 (Scopus).
4. Ruģele, K., Būmanis, Ģ., Eriņa, L., Erdmane, D. Composite Material for Effective Cheese Whey Anaerobic Digestion. *Key Engineering Materials*, 2014, Vol.604, pp. 236-239 (Scopus).
5. Ruģele, K., Gavare, M., Grūbe, M., Tihomirova, K., Skripsts, Ē., Larsona, S., Rubulis, J. Characterization of Lactose Consumption during the Biogas Production from Acid Whey by FT-IR Spectroscopy. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 2013, Vol. 77, pp.253-258.
6. Ruģele, K., Skripsts, Ē., Juhna, T., Larsona, S. Bioaugmentation to Improve Biogas Yield in Cheese Whey Anaerobic Digestion. In: *13th World Congress on Anaerobic Digestion : Proceedings*, Spain, 2013, pp.1-4.
7. Rugele, K., Skripsts, E., Mežule, L., Pitk, P., Bajare D., Juhna, T. Use of alkali-activated aluminosilicate material to enhance biogas production from acidic whey. *Open Biotechnology Journal*, 2014, pp. 1-9 (akceptēts).
8. Būmanis, Ģ., Ruģele, K., Kurpnieks, O., Bajāre, D. Effect of alkaline material granule size on ability of adjustment the buffer capacity. *Medžiagotyra*, 2015, pp. 1-5 (akceptēts).

9. Ruģele, K., Būmanis, Ģ., Mežule, L., Juhna, T., Bajāre, D. Application of industrial wastes in renewable energy production. *Agronomy research*, 2015, *Iesniegts*.

Patenti:

1. A method of anaerobic digestion of acidic whey in four-chamber system. E.Skripsts, K. Rugele, J. Rubulis, V. Dubrovskis. Nr. EP13198723.2, 2014 (*apstiprināts*).
2. Method of using alkali-activated non-cement binders for producing biogas from cheese whey. K. Rugele, E.Skripsts, D.Bajare, T. Juhna, S. Larsson. Nr. EP12199477.6, 2013 (*apstiprināts*).

Recenzētas zinātniskās konferenču tēzes:

1. Ruģele, K., Skripsts, Ē., Juhna, T., Larsona, S. Bioaugmentation to Improve Biogas Yield in Cheese Whey Anaerobic Digestion. In: *13th World Congress on Anaerobic Digestion : Proceedings*, Spain, Santiago de Compostella, 25-28 June, 2013, pp.1-4.
2. Ruģele, K., Larsona, S. Bioaugmentation of Acid Whey Anaerobic Digestion. *Abstracts of the Riga Technical University 53rd International Scientific Conference, Section: Material Science and Applied Chemistry*, Latvija, Riga, 11.-12. oktobris, 2012, 83.-83.lpp.

Mutiskie ziņojumi starptautiskās konferencēs:

1. Ruģele, K., Būmanis, Ģ., Bajāre, D., Mežule, L., Pitk, P. Effect of glass additive in alkaline granules in anaerobic treatment of whey. *5th International Symposium on Energy form Biomass and Waste*, Itālija, Venēcija, 17.-20. novembris, 2014.
2. Būmanis, Ģ., Rugele, K., Kurpnieks, O., Bajāre, D. Effect of Alkaline Material Granule Size on Ability of Adjustmrent the Buffer Capacity. *23rd International Baltic Conference "Materials Engineering 2014"*, Lietuva, Kaunas, 23.-24. oktobris, 2014.
3. Ruģele, K., Būmanis, Ģ., Bajāre, D., Lakevičs, V., Rubulis, J. Alkaline Granules for pH Control in Biotechnologies. *BALTMATTRIB 2013: 22nd International Baltic Conference of Engineering Materials & Tribology: Book of Abstracts*, Latvija, Rīga, 14.-15. novembris, 2013.
4. Ruģele, K., Skripsts, Ē., Juhna, T., Larsona, S. Bioaugmentation to Improve Biogas Yield in Cheese Whey Anaerobic Digestion. *13th World Congress on Anaerobic Digestion*, Spain, Santiago de Compostella, 25-28 June, 2013.

5. Ruģele, K., Gavare, M., Grūbe, M., Tihomirova, K., Skripsts, Ē., Larsona, S., Rubulis, J. Characterization of Lactose Consumption during the Biogas Production from Acid Whey by FT-IR Spectroscopy. *International Conference on Environmental, Biological, Ecological Sciences and Engineering (ICEBESE 2013)*, Netherlands, Amsterdam, 15-16 May, 2013.
6. Ruģele, K., Mežule, L., Daļeckā, B., Larsona, S., Vanags, J., Rubulis, J. Application of Fluorescent in situ Hybridisation for Monitoring Methanogenic Archaea in Acid Whey Anaerobic Digestion. *Biosystems Engineering 2013*, Tartu, Estonia, 11-12 May, 2013.
7. Ruģele, K., Larsona, S. Bioaugmentation of Acid Whey Anaerobic Digestion. *Riga Technical University 53rd International Scientific Conference: Section: Material Science and Applied Chemistry*, Latvia, Riga, 11.-12. oktobris, 2012.
8. Ruģele, K., Larsona, S. Acid Whey Potential for Biogas Production. *17th International Scientific Conference "EcoBalt2012"*, Latvia, Riga, 18-19 October, 2012

Izmantotā literatūra

- [1] A. Chatzipaschali and A. G. Stamatīs, “Biotechnological Utilization with a Focus on Anaerobic Treatment of Cheese Whey: Current Status and Prospects,” *Energies*, vol. 5, no. 12, pp. 3492–3525, Sep. 2012.
- [2] H. Gannoun, E. Khelifi, H. Bouallagui, Y. Touhami, and M. Hamdi, “Ecological clarification of cheese whey prior to anaerobic digestion in upflow anaerobic filter,” *Bioresource technology*, vol. 99, no. 14, pp. 6105–11, Sep. 2008.
- [3] I. Angelidaki and W. Sanders, “Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants,” pp. 117–129, 2004.
- [4] M.J. McInerney, M. P. Bryant, *Anaerobic digestion*. Essex, UK: Applied Science, 1980, pp. 91–98.
- [5] Y. Santosh, T. R. Sreekrishnan, S. Kohli, and V. Rana, “Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques—a review.,” *Bioresource technology*, vol. 95, no. 1, pp. 1–10, Oct. 2004.
- [6] K. Van der Berg, L., Kennedy, “Comparison of advanced anaerobic reactors,” in *Proceedings of III International Conference on Anaerobic digestion*, 1983.
- [7] D. B. Archer and B. H. Kirsop, “The microbiology and control of anaerobic digestion,” in *Anaerobic Digestion: A Waste Treatment Technology*, London, UK: Elsevier Appl. Sciences, 1991, pp. 43–91.
- [8] C. Polprasert, *Organic Wastes Recycling*. Chichester, U.K.: John Wiley & Sons, 1989, p. 357.
- [9] A. Schnürer and A. Jarvis, “Microbiological Handbook for Biogas Plants,” 2010.
- [10] D. G. Cirne, X. Paloumet, L. Björnsson, M. M. Alves, and B. Mattiasson, “Anaerobic digestion of lipid-rich waste—Effects of lipid concentration,” *Renewable Energy*, vol. 32, no. 6, pp. 965–975, 2007.
- [11] M. J. Hammer, *Water and Wastewater Technology*. New York: John Wiley & Sons, 1986, p. 536.
- [12] D. A. Ritchie, Edwards I.R, McDonald, and M. J.C., “Detection of methanogens in natural environments.,” *Global Change Biol.*, vol. 3, pp. 339–350.
- [13] M.R. Smith and R.A. Mah., “Growth and methanogenesis by *Methanosarcina* strain 227 on acetate and methanol.,” *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 36, pp. 870–879, 1978.
- [14] B. A. Huser, K. Wuhrmann, and A. J. B. Zehnder., “*Methanotrix soehngenii* gen. nov. sp. nov., a new acetotrophic non-hydrogen-oxidizing bacterium.,” *Arch. Microbiol.*, vol. 132, pp. 1–9, 1982.
- [15] R. I. Mackie and M. P. Bryant., “Metabolic activity of fatty acid-oxidizing bacteria and the contribution of acetate, propionate, butyrate and CO₂ to methanogenesis in cattle waste at 40 and 60°C.,” *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 41, pp. 1363–1373, 1981.
- [16] R. D. Barber, “Methanogenesis,” pp. 1–8, 2001.
- [17] P. van Beelen, A. C. Dijkstra, and G. D. Vogels, “Quantitation of Coenzyme F420 in Methanogenic Sludge by the Use of Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography and a Fluorescence Detector,” *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 18, pp. 67–69, 1983.
- [18] K.V Rajeshwari, Balakrishnan, M., A. Kansal, K. Lata, and V. V. N. Kishore, “State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 4, pp. 135–156., 2000.
- [19] A. E. Ghaly, “A comparative study of anaerobic digestion of whey and dairy manure in a two-stage reactor,” *Bioresource technology*, vol. 58, no. 1, pp. 61–72, 1996.

- [20] S. V. Kalyuzhnyi, E. P. Martinez, and J. R. Martinez, "Anaerobic treatment of high-strength cheese-whey wastewaters in laboratory and pilot UASB reactors," *Biores. Technol.*, vol. 60, pp. 59–65, 1997.
- [21] R. C. Leitão, J. Silva-Filho, W. Sanders, A. van Haandel, G. Zeeman, and G. Lettinga, "The effect of operational conditions on the performance of UASB reactors for domestic wastewater treatment," *Wat. Sci. Technol*, vol. 52, no. 1–2, pp. 299–305, 2005.
- [22] Michael H. Gerardi, *The Microbiology of Anaerobic Digesters*. John Wiley & Sons, Inc, 2003, p. 188.
- [23] H. Sahm, "Anaerobic wastewater treatment.," *Adv. Biochem. Eng. Biotech.*, vol. 29, pp. 84–115, 1984.
- [24] B. E. Rittmann and P. L. McCarty, *Environmental biotechnology: principles and applications*. McGraw-Hill, 2001, p. 754.
- [25] G. Lettinga, "Anaerobic digestion and wastewater treatment systems.," *Antonie van Leeuwenhoek*, vol. 67, pp. 3–28, 1995.
- [26] R. E. Speece, "Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment.," *Environ. Sci. Technol*, vol. 17, pp. 416–427, 1983.
- [27] C. M. Williams, J. C. H. Shih, and J. W. Spears, "Effect of nickel on biological methane generation from a laboratory poultry waste digester.," *Biotech. Bioeng.*, no. 28, pp. 1608–1610, 1986.
- [28] M. Aresta, N. M, and I. Tommasi, "Influence of iron, nickel and cobalt on biogas production during the anaerobic fermentation of fresh residual biomass," *Chemistry and Ecology*, vol. 19, no. 6, pp. 451–459, 2003.
- [29] T. H. Ergüder, U. Tezel, E. Güven, and G. N. Demirer, "Anaerobic biotransformation and methane generation potential of cheese whey in batch and UASB reactors.," *Waste management (New York, N.Y.)*, vol. 21, no. 7, pp. 643–50, Jan. 2001.
- [30] Å. Nordberg, J. Ascue, and M. Callavik, "Anaerobe digestion of wastewater and residues from Norrmejerier JTI," 2002.
- [31] R.E Speece, Boonyakitsombut, S., M. Kim, N. Azbar, and P. Ursillo, "Overview of anaerobic treatment: thermophilic and propionate implications," *Water Environ. Res*, vol. 78, no. 5, pp. 460– 473, 2006.
- [32] G. Bitton, *Wastewater Microbiology*. New Jersey, Canada: A John Wiley and Sons, Inc., 2005, p. 765.
- [33] U. Marchaim and K. Krause, "Propionic to acetic acid ratios in overloaded anaerobic digestion.," *Bioresour. Technol.*, vol. 43, pp. 195–203., 2003.
- [34] D. T. Hill, S. A. Cobb, and J. P. Bolte, "Using volatile fatty acid relationships to predict anaerobic digester failure," *Transactions of the ASAE*, vol. 30, pp. 496–501, 1987.
- [35] Y.Y. Wang, Y. L. Zhang, L. Meng, J. B. Wang, and W. . Zhang, "Hydrogen-methane production from swine manure: effect of pretreatment and VFAs accumulation on gas yield," *Biomass & Bioenergy*, vol. 33, pp. 1131–1138., 2009.
- [36] G. K. Anderson, T. Donnelly, and K. J. McKeown, "Identification and control of inhibition in the anaerobic treatment of industrial wastewater," *Process Biochem.*, vol. 17, pp. 28–32, 1982.
- [37] L. W. Koster, A. Rinzema, A. L. Vegt, and G. Lettinga., "Sulfide inhibition of the methanogenic activity of granular sludge at various pH-levels.," *Water Res.*, vol. 20, pp. 1561–1567., 1986.
- [38] A. Rinzema and G. Lettinga., "Anaerobic treatment of sulfate-containing waste water," in *Biotreatment Systems*, Boca Raton, FL.: CRC Press, 1988, pp. 65–109.

- [39] S. Sung and T. Liu, "Ammonia inhibition on thermophilic digestion," *Chemosphere*, vol. 53, pp. 43–52, 2003.
- [40] R. Chamy, P. Poirrier, M. C. Schiappacasse, D. Alkalay, and L. Guerrero, "Effect of ammonia content in the biodegradability of the salmon industry wastes," *Bioprocess Engineering*, vol. 19, pp. 1–5, 1998.
- [41] K. H. Hansen, I. Angelidaki, and B. K. Ahring, "Anaerobic digestion of swine manure: inhibition by ammonia.," *Water research*, vol. 32, no. 1, pp. 5–12, 1998.
- [42] A. Schnürer, G. Zellner, and B. Svensson, "Mesophilic syntrophic acetate oxidation during methane formation in biogas reactors," *FEMS Microbiology Ecology*, vol. 29, pp. 249–261, 1999.
- [43] G. Sprott and G. Patel, "Ammonia toxicity in pure cultures of methanogenic bacteria.," *Systematic Appl Microbiol*, vol. 7, pp. 358–363, 1986.
- [44] E. Salminen and J. Rintala, "Anaerobic digestion of organic solid poultry slaughterhouse waste – a review.," *Bioresour. Technol.*, vol. 83, pp. 13–26, 2002.
- [45] G. W. Smithers, "Whey and whey proteins—from 'gutter-to-gold'," *Int. Dairy J.*, vol. 18, pp. 695–704, 2008.
- [46] J. G. Zadow, "Utilization of milk components: Whey.," in *Modern Dairy Technology, Advances in Milk Processing*, vol. 1, London, UK: Chapman & Hall, 1994.
- [47] J. N. de Wit, "Lecturer's Handbook on whey and whey products," 2001.
- [48] G. Bylund, *Dairy processing handbook*. Tetra Pak Processing Systems AB, 2003.
- [49] M. I. G. Siso, "The biotechnological utilization of cheese whey: a review.," *Bioresour Technol*, vol. 57, no. 1, pp. 1–11, 1996.
- [50] P. S. Panesar, J. F. Kennedy, D. N. Gandhi, and K. Bunko, "Bioutilisation of whey for lactic acid production.," *Food Chem*, vol. 105, pp. 1–14, 2007.
- [51] P. Jelen, "Whey processing," in *Encyclopedia of Dairy Sciences*, London, UK: London Academic Press, 2003, pp. 2739–2751.
- [52] F. Carvalho, A. R. Prazeres, and J. Rivas, "Cheese whey wastewater: Characterization and treatment.," *The Science of the total environment*, vol. 445–446, pp. 385–96, Feb. 2013.
- [53] W. S. Kisaalita, K. V. Lo, and K. L. Pinder, "Influence of whey protein on continuous acidogenic degradation of lactose.," *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 36, pp. 642–645, 1990.
- [54] A. Ghaly and M. Kamal, "Submerged yeast fermentation of acid cheese whey for protein production and pollution potential reduction," *Water Res.*, vol. 38, no. 3, pp. 631–644., 2004.
- [55] M. Torija, G. Beltran, M. Novo, M. Poblet, N. Rozès, and J. Guillamón, "Research note: effect of the nitrogen source on the fatty acid composition of *Saccharomyces cerevisiae*.," *Food Microbiol*, vol. 20, no. 2, pp. 255–258, 2003.
- [56] N. Aktaş, I. Boyacı, M. Mutlu, and A. Tanyolaç, "Optimization of lactose utilization in deproteinated whey by *Kluyveromyces marxianus* using response surface methodology (RSM)," *Bioresour Technol*, vol. 97, no. 18, pp. 2252–2259, 2006.
- [57] E. Castelló, C. Santos, T. Iglesias, G. Paulino, J. Wenzel, and et al. Borzacconi, L, "Feasibility of biohydrogen production from cheese whey using a UASB reactor: links between microbial community and reactor performance.," *Int J Hydrogen Energy*, vol. 34, no. 14, pp. 5674–5682., 2009.
- [58] F. Malaspina, L. Stante, C. M. Cellamare, and A. Tilche, "Cheese whey and cheese factory wastewater treatment with a biological anaerobic—Aerobic process.," *Water Sci. Technol.*, vol. 32, pp. 59–72, 1995.
- [59] G. Mockaitis, S. M. Ratusznei, J. a D. Rodrigues, M. Zaiat, and E. Foresti, "Anaerobic whey treatment by a stirred sequencing batch reactor (ASBR): effects of organic

- loading and supplemented alkalinity.,” *Journal of environmental management*, vol. 79, no. 2, pp. 198–206, Apr. 2006.
- [60] M. T. Gillies, *Whey Processing and Utilization: Economic and Technical Aspects*. 1974.
- [61] Y. Chen, J. J. Cheng, and K. S. Creamer, “Inhibition of anaerobic digestion process: A review.,” *Bioresour. Technol.*, vol. 99, pp. 4044–4064, 2008.
- [62] G. D. Najafpour, B. A. Hashemiyeh, M. . Asadi, and M. B. Ghasemi, “Biological treatment of dairy wastewater in an upflow anaerobic sludge-fixed film bioreactor.” *Am. Eurasian J. Agric. Environ. Sci*, vol. 4, no. 251–257, 2008.
- [63] J. L. Audic, B. Chaufer, and G. Daufin, “Non-food applications of milk components and dairy co-products: A review.,” *Lait*, pp. 417–438, 2003.
- [64] M. S. Switzenbaum and S. C. Danskin, “Anaerobic expanded bed treatment of whey.,” *Agric. Wastes*, vol. 4, pp. 411–426., 1982.
- [65] D. Paustian, “Glucolysis,” 2012. [Online]. Available: www.bact.wisc.edu.
- [66] S. Asplund, “The Biogas Production Plant at Umeå Dairy Evaluation of Design and Start-up,” 2005.
- [67] M. E. Griffin, K. D. McMahon, R. I. Mackie, and L. Raskin, “Methanogenic population dynamics during start-up of anaerobic digesters treating municipal solid waste and biosolids,” *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 57, pp. 342–355, 1998.
- [68] G. C. Banik and R. R. Dague, “ASBR treatment of low strength industrial wastewater at psychrophilic temperatures.,” *Water Sci. Technol.*, vol. 36, pp. 337–344, 1997.
- [69] I. Kárpáti, L. Bencze, and J. Borszérki, “New process for physicochemical pretreatment of dairy effluents with agricultural use of sludge produced,” *Water Sci. Technol.*, vol. 22, no. 9, pp. 93–100, 1995.
- [70] B. Ruston, “Chemical pretreatment of dairy wastewater,” *Water Sci. Technol.*, vol. 28, no. 2, pp. 67–72, 1993.
- [71] G. Vidal, A. Carvalho, R. Mendez, and J. M. Lema, “Influence of the content in fats and proteins on the anaerobic biodegradability of dairy wastewaters.,” *Bioresour. Technol.*, vol. 74, pp. 231–239, 2000.
- [72] J. L. R. Gutierrez, P. A. G. Encina, and F. Fdz-Polanco, “Anaerobic treatment of cheese-production wastewater using a UASB reactor,” *Bioresource technology*, vol. 37, pp. 271–276, 1991.
- [73] S. H. Hwang, C. L. Hansen, and D. K. Stevens, “Biokinetics of an upflow anaerobic sludge blanket reactor treating whey permeate,” *Bioresource technology*, vol. 41, pp. 223–230, 1992.
- [74] M. A. Dareioti, S. N. Dokianakis, K. Stamatelatu, C. Zafiri, and M. Kornaros, “Biogas production from anaerobic co-digestion of agroindustrial wastewaters under mesophilic conditions in a two-stage process,” *Desalination*, vol. 248, pp. 891–906, 2009.
- [75] O. Ince, “Performance of a two-phase anaerobic digestion system when treating dairy wastewater,” *Water research*, vol. 32, pp. 2707–2713, 1998.
- [76] G. Yilmazer and O. Yenigun, “Two-phase anaerobic treatment of cheese whey,” *Water science and technology*, vol. 40, pp. 289–295, 1999.
- [77] A. Saddoud, I. Hassaïri, and S. Sayadi, “Anaerobic membrane reactor with phase separation for the treatment of cheese whey.,” *Bioresource technology*, vol. 98, no. 11, pp. 2102–8, Aug. 2007.
- [78] G. Antonopoulou, K. Stamatelatu, N. Venetsaneas, M. Kornaros, and G. Lyberatos, “Biohydrogen and methane production from cheese whey in a two-stage anaerobic process,” *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 47, pp. 5227–5233, 2008.

- [79] D. Erdirencelebi, "Treatment of high-fat-containing dairy wastewater in a sequential UASBR system: influence of recycle," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 86, pp. 525–533, 2011.
- [80] R. A. Labatut, L. T. Angenent, and N. R. Scott, "Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates.," *Bioresource technology*, vol. 102, no. 3, pp. 2255–64, Feb. 2011.
- [81] I. Angelidaki, "Anaerobic biodegradability of macropollutants" in Harmonisation of anaerobic biodegradation, activity and inhibition assays, 2002, pp. 23–35.
- [82] H. B. Nielsen, Z. Mladenovska, and B. K. Ahring, "Bioaugmentation of a two-stage thermophilic (68 degrees C/55 degrees C) anaerobic digestion concept for improvement of the methane yield from cattle manure.," *Biotechnology and bioengineering*, vol. 97, no. 6, pp. 1638–43, Aug. 2007.
- [83] M. Lili, G. Biró, E. Sulyok, M. Petis, J. Borbély, and J. Tamás, "Novel approach on the basis of fos/tac method," in *Risk Factors for Environment and Food Safety*, 2011, vol. XVII, pp. 713–718.
- [84] T. J. McGhee, "A Method for Approximation of the Volatile Acid Concentrations in Anaerobic Digesters, Water and Sewage Works," *Water and Sewage Works*, vol. 115, pp. 162–166, 1968.
- [85] W. Nordmann, "Die Überwachung der Schlammfäulung," in *KA-Informationen für das Betriebspersonal, Beilage zur Korrespondenz Abwasser*, 1977, p. 77.
- [86] N. S. Battersby and V. Wilson, "Evaluation of a serum bottle technique for assessing the anaerobic biodegradability of organic chemicals under methanogenic conditions," *Chemosphere*, vol. 17, no. 12, pp. 2441–2460, 1988.
- [87] E. Colleran, F. Concannon, T. Golden, F. Geoghegan, B. Crumlish, E. Killilea, M. Henry, and J. Coates, "Use of Methanogenic Activity Tests to Characterize Anaerobic Sludges, Screen for Anaerobic Biodegradability and Determine Toxicity Thresholds against Individual Anaerobic Trophic Groups and Species," Mar. 2011.
- [88] K. Rugele, L. Mezule, B. Dalecka, S. Larsson, J. Vanags, and J. Rubulis, "Application of fluorescent in situ hybridisation for monitoring methanogenic archaea in acid whey anaerobic digestion," *Agronomy research*, vol. 11, no. 2, pp. 373–380, 2013.
- [89] K. Rugele, M. Gavare, M. Grube, K. Tihomirova, E. Skripsts, S. Larsson, J. Rubulis, "Characterization of Lactose Consumption during the Biogas Production from Acid Whey by FT-IR Spectroscopy," pp. 301–305, 2013.
- [90] M. Chartrain and J. G. Zeikus, "Microbial ecophysiology of whey biomethanation: intermediary metabolism of lactose degradation in continuous culture," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 51, no. 1, pp. 180–187, 1986.
- [91] M. Wagner, R. Amann, H. Lemmer, and K. H. Schleifer, "Probing activated sludge with oligonucleotides specific for proteobacteria: inadequacy of culture-dependent methods for describing microbial community structure.," *Applied and environmental microbiology*, vol. 59, no. 5, pp. 1520–5, May 1993.
- [92] A. E. Ghaly, D. R. Ramkumar, S. S. Sadaka, J. D. Rochon, P. O. Box, and C. B. J. R. April, "Effect of reseeded and pH control on the performance of a two-stage mesophilic anaerobic digester operating on acid cheese whey," no. December, 2000.
- [93] S. Göblös, P. Portörő, D. Bordás, M. Kálmán, and I. Kiss, "Comparison of the effectivities of two-phase and single-phase anaerobic sequencing batch reactors during dairy wastewater treatment," *Renewable Energy*, vol. 33, no. 5, pp. 960–965, 2008.
- [94] P. Pitk, P. Kaparaju, and R. Vilu, "Methane potential of sterilized solid slaughterhouse wastes.," *Bioresource technology*, vol. 116, pp. 42–6, Jul. 2012.
- [95] Y. Liu, "Methanosarcinales," in *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*, 2010, pp. 595–604.

- [96] A. Conklin, H. D. Stensel, and J. Ferguson, "Growth kinetics and competition between *Methanosarcina* and *Methanosaeta* in mesophilic anaerobic digestion.," *Water environment research: a research publication of the Water Environment Federation*, vol. 78, no. 5, pp. 486–96, May 2006.
- [97] B. Calli, B. Mertoglu, B. Inanc, and O. Yenigun, "Methanogenic diversity in anaerobic bioreactors under extremely high ammonia levels," *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 37, no. 4, pp. 448–455, Sep. 2005.
- [98] B. Calli, B. Mertoglu, B. Inanc, and O. Yenigun, "Community changes during start-up in methanogenic bioreactors exposed to increasing levels of ammonia.," *Environmental technology*, vol. 26, no. 1, pp. 85–91, Jan. 2005.
- [99] M. Goberna, M. Gadermaier, C. García, B. Wett, and H. Insam, "Adaptation of methanogenic communities to the cofermentation of cattle excreta and olive mill wastes at 37 degrees C and 55 degrees C.," *Applied and environmental microbiology*, vol. 76, no. 19, pp. 6564–71, Oct. 2010.
- [100] "Methanosarcina," 2012. [Online]. Available: <http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Methanosarcina>.
- [101] D. Schmack and M. Reuter, "Methanogenic mikroorganisms for generating biogas", 15-Oct-2010.
- [102] M. Scheidle, B. Dittrich, J. Klinger, H. Ikeda, D. Klee, and J. Büchs, "Controlling pH in shake flasks using polymer-based controlled-release discs with pre-determined release kinetics.," *BMC biotechnology*, vol. 11, no. 1, p. 25, Jan. 2011.
- [103] S. M. Ratusznei, J. A. D. Rodrigues, and M. Zaiat, "Operating feasibility of anaerobic whey treatment in a stirred sequencing batch reactor containing immobilized biomass.," *Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research*, vol. 48, no. 6, pp. 179–86, Jan. 2003.
- [104] A. A. Cocci, B. F. Burke, R. C. Landine, and D. L. Blickenstaff, "Anaerobic-aerobic pretreatment of a dairy waste. A case history.," *Dairy, Food and Environmental Sanitation*, vol. 11, no. 9, pp. 505–509, 1991.
- [105] K. Yang, Y. Yu, and S. Hwang, "Selective optimization in thermophilic acidogenesis of cheese-whey wastewater to acetic and butyric acids: partial acidification and methanation.," *Water research*, vol. 37, no. 10, pp. 2467–77, May 2003.
- [106] L. W. Hulshoff Pol, S. I. de Castro Lopes, G. Lettinga, and P. N. L. Lens, "Anaerobic sludge granulation.," *Water research*, vol. 38, no. 6, pp. 1376–89, Mar. 2004.
- [107] T. Spachos and A. Stamatis, "Thermal analysis and optimization of an anaerobic treatment system of whey," *Renewable Energy*, vol. 36, no. 8, pp. 2097–2105, Aug. 2011.
- [108] P. Patel, C. Patel, and D. Madamwar, "Anaerobic Upflow Fixed-Film Bioreactor for Biomethanation of Salty Cheese Whey," *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 76, no. 3, pp. 193–202, 1999.
- [109] R. F. Hickey and R. W. Owens, "Methane generation from high-strength industrial wastes with the anaerobic biological fluidized bed," *Biotechnol. Bioeng. Symp.; (United States)*, vol. 11, Jan. 1981.
- [110] S. V. Kalyuzhnyi, E. P. Martinez, and J. R. Martinez, "Anaerobic treatment of high-strength cheese whey wastewaters in laboratory and pilot UASB- reactors," *Bioresource technology*, vol. 60, pp. 59–65, 1997.