

УДК 620.9.004.18:504.062.2

© 2011

*Ястремська Л. С., кандидат сільськогосподарських наук*  
 Національний авіаційний університет, Інститут екологічної безпеки

## БІОТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ТРАНСФОРМАЦІЇ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ВІДХОДІВ В ЕНЕРГІНОСІЇ

*Рецензент – доктор біологічних наук, професор, академік НААН В. П. Патика*

*Висвітлюються окремі біотехнологічні аспекти інтенсифікації процесу утворення біогазу при трансформації сільськогосподарських відходів нативною мезофільною мікрофлорою гною. Визначені оптимальні строки початку гідролізної стадії трансформації субстрату за нейтрального рівня рН. Показано, що збільшити вихід біогазу можливо за рахунок механічної обробки целюлозовмісного субстрату (соломи) та використання селекціонованої анаеробної мезофільної целюлолітичної асоціації мікроорганізмів. Результати досліджень можуть використовуватися в технологічному процесі отримання біопалива на промислових біогазових установках.*

**Ключові слова:** мезофільні анаеробні целюлолітичні мікроорганізми, біогаз, відходи сільськогосподарських виробництв.

**Постановка проблеми.** Біоконверсія сільськогосподарської сировини – зеленої маси, відходів переробки зернових і відходів ферм – це шлях до створення безвідхідної технології, до повного використання рослинної сировини, до вирішення таких проблем, як одержання білка з місцевих ресурсів; використання нових видів енергії, захист навколишнього середовища. Ефективна їх утилізація має неабияке значення, поскільки в умовах дефіциту палива в Україні і в усьому світі набуває широкого застосування анаеробний спосіб утилізації сільськогосподарських відходів з одержанням газоподібного палива.

**Аналіз основних досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми.** За даними багатьох країн світу (США, Німеччина, Велика Британія, Данія, Японія, Китай, Індія), значна кількість сировини придатна для організації промислового видобутку біопалива з органічних відходів сільськогосподарського виробництва шляхом анаеробної біотехнології [1–3].

Проблемі переробки сільськогосподарських відходів у біопаливо анаеробними мікроорганізмами присвячено чимало робіт [1–9]. Показано, що біогаз утворюється в результаті трансформації органічних сполук тваринного і рослинного походження [1]. У складі біогазу основним компонентом є

метан, який утворюється в результаті життєдіяльності метаногенних археїв [6]. Мезофільні метанотворюючі археї зустрічаються в природі досить часто, в тому числі в екскрементах тварин [2]. Однак процес конверсії органічних відходів здійснюється багатовидовою мікробною асоціацією, що має міцні трофічні зв'язки. Обов'язковими компонентами спільноти є первинні анаероби гідролітичної мікрофлори (гідролізують біополімери), бродильної мікрофлори (зброджують молекули мономерів), ацетогенної мікрофлори (перетворюють різноманітні продукти бродіння в субстрати метаногенезу) і вторинні анаероби – метанотворюючі археї [4]. Тип взаємовідносин усередині спільноти може змінюватися в залежності від багатьох факторів (рН, окисно-відновного потенціалу (ОВП), продуктів метаболізму, целюлазної активності та ін.), що впливають на весь процес трансформації органічних речовин. Одним із важливих параметрів анаеробного процесу при трансформації складних біополімерів є рН середовища, що може впливати на хід метаболічних процесів. Оскільки лімітуючим фактором при анаеробній трансформації органічних речовин є діяльність первинних анаеробів, тому визначення оптимальних параметрів анаеробного розкладу субстрату й ефективне керування цим процесом є важливим із теоретичної і практичної точок зору.

**Мета і завдання досліджень.** Дослідження умов гідролізної стадії мезофільного процесу трансформації сільськогосподарських відходів (рослинного й тваринного походження) у біопаливо. Для цього досліджували оптимальний рівень рН середовища, при якому утворюється максимальна кількість біогазу, вплив механічної передобробки соломи, яку використовували при збродженні, та вплив селекціонованої мезофільної целюлолітичної асоціації мікроорганізмів на інтенсивність виходу біогазу й ферментацію субстрату.

**Матеріали і методи досліджень.** Об'єктом досліджень були зразки відходів гною великої рогатої худоби (ВРХ), гною свиней та суміш гною ВРХ та свиней у співвідношенні (1:1), рослинна сировина – солома пшениці. Зразки віді-

брані з господарств ВАТ «Терезино» і ТОВ «Еліта» Білоцерківського району Київської області: рН зразків – 6,0–8,0, вологість – 80–85 %, температура – 30–35 °С, а також селекціонована анаеробна мезофільна (35 °С) целюлолітична асоціація мікроорганізмів, виділена з активного мулу метантенку Бортницької станції аерації [9].

Для культивування нативної мікрофлори гною використовували флакони об'ємом 20 мл, що герметично закриваються гумовими пробками й металевими ковпачками з отвором посередині для відбору газової фази. Кількість гною та соломи – 1 об %. Гній розводили водопровідною водою в співвідношенні 1:4. Жорсткість води – 8,0 мг-екв/л. Солому подрібнювали механічним шляхом до розмірів 5 мм. Час культивування – 5 діб, температура інкубування 30–35 °С.

Анаеробну мезофільну асоціацію мікроорганізмів вирощували на середовищі «Р», наступного складу (г/л):  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,4;  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  – 0,4;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  – 1,0;  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  – 0,1;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  – 0,02;  $\text{NaHCO}_3$  – 1,0; розчин дріжджового автолізату – 1 мл/л; розчин 0,2 % індикатора резазуріну – 1 мл; розчин 10 %  $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  – 20 мл/л; вода дистильована – 1 л; рН середовища 7,0–7,5. Газова фаза аргон 100 %. Автоклавували при 1,5 атм. Як джерело вуглецю використовували целюлозу (фільтрувальний папір) – 1 об % [5, 9].

Розлив середовища у флакони здійснювали в потоці інертного газу аргону (ДСТУ 10157–79), що містить  $\text{O}_2$  у концентрації не вище 0,0007 %, за модифікованою методикою Хангейта для культивування анаеробів [10].

Ріст анаеробної асоціації оцінювали за виділенням газів –  $\text{H}_2$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ . Склад газів аналізували на газовому хроматографі ЛХМ-8МД. Для визначення водню, азоту, метану використовували сталеву колонку завдовжки 1,5 м і діаметром 3 мм, заповнену молекулярними ситами 5А, фракції 0,25. Для визначення  $\text{CO}_2$  використовували сталеву колонку завдовжки 2,5 м і діаметром 3 мм, заповнену полісорбом-1. Температура колонок 30 °С, газ носій – аргон, швидкість про-

току – 30 мл/хв, детектор – катарометр, струм детектора – 100 мА. Проби газової фази відбирали шприцем, об'єм проби, що вводили, – 0,5 мл.

Для потенціометричного визначення рН використовували іономер універсальний ЕВ-74.

**Результати досліджень.** Процес трансформації сільськогосподарської сировини на гідролізній стадії з отриманням біогазу відбувався протягом чотирьох діб. Найбільш інтенсивне утворення біогазу при зброджуванні різних типів субстрату спостерігається на третю добу культивування, рН близький до нейтрального (табл. 1). Перша доба культивування характеризується незначним виділенням біогазу, що свідчить про невисоку активність мікрофлори. Найбільший вихід біогазу та оптимальне для метаногенезу рН (7,5) відзначається при зброджуванні гною ВРХ (до 2,0 мл/мл субстрату) та гнойової суміші (до 1,8 мл/мл субстрату), найменший (до 1,5 мл/мл субстрату) гної свиному, рівень рН 7,0 відзначається на третю добу культивування. Інтенсивність утворення біогазу починає зменшуватися на четверту добу культивування. Для цього періоду рівні рН набувають значень: гній ВРХ – 7,0 (має високі буферні властивості), для гнойової суміші – 6,4 (закислення середовища), для гною свиней – 7,8 (утворення аміаку). На п'яту добу починається кислотогенна стадія.

У промислових умовах суміш гною великої рогатої худоби і свиней використовують разом із підстилочним матеріалом, який представлений пшеничною соломою, подрібненою до величини 20–30 см. У промислових біогазових установках наявність у складі сільськогосподарської сировини соломи призводить до розшаровування рідини, утворення плаваючого короку, зменшення ефективності зброджування органічної речовини й погіршення якості утворюваного біогазу.

Нами було показано, що механічне подрібнення соломи до частинок розміром близько 5 мм збільшує кількість утворюваного біогазу в 10 разів та скорочує час (до двох діб) процесу ферментації (табл. 2).

**1. Утворення біогазу та зміна рН нативною мезофільною мікрофлорою за використання відходів тваринного походження**

| Час, доба | Гній ВРХ |                         | Гній свиней |                         | Гнойова суміш |                         |
|-----------|----------|-------------------------|-------------|-------------------------|---------------|-------------------------|
|           | рН       | біогаз, мл/мл субстрату | рН          | біогаз, мл/мл субстрату | рН            | біогаз, мл/мл субстрату |
| 0         | 6,8      | 0                       | 6,2         | 0                       | 6,5           | 0                       |
| 1         | 7,0      | 0,5±0,06                | 6,5         | 0,3±0,10                | 6,5           | 0,4±0,30                |
| 2         | 7,0      | 1,0±0,06                | 6,5         | 0,6±0,40                | 7,0           | 0,8±0,30                |
| 3         | 7,5      | 2,0±0,20                | 7,0         | 1,5±0,30                | 7,5           | 1,8±0,10                |
| 4         | 7,0      | 0,6±0,30                | 7,6         | 0,4±0,20                | 6,4           | 0,5±0,20                |
| 5         | 6,9      | 0,5±0,30                | 7,0         | 0,2±0,20                | 6,0           | 0,4±0,20                |

**2. Вплив механічної обробки рослинного субстрату на утворення біогазу при трансформації сільськогосподарських відходів**

| Час, доба | Кількість утвореного біогазу, мл/мл субстрату |                                  |                            |
|-----------|---|----------------------------------|----------------------------|
|           | суміш гною з подрібненою соломою              | суміш гною з неподрібною соломою | контроль подрібнена солома |
| 1         | 1,8±0,3                                       | 0,25±0,2                         | 0,15±0,1                   |
| 2         | 5,7±0,4                                       | 0,33±0,3                         | 0,36±0,2                   |
| 3         | 9,1±0,2                                       | 0,63±0,4                         | 0,58±0,1                   |
| 4         | 1,6±0,3                                       | 0,5±0,2                          | 0,55±0,1                   |

**3. Вплив селекціонованої мезофільної асоціації мікроорганізмів на інтенсивність виходу біогазу**

| Час, години | Кількість утвореного біогазу, мл/мл субстрату |   |  |
|-------------|---|---|--|
|             | суміш гною                                    | суміш гною з селекціонованою асоціацією мікроорганізмів | контроль – селекціонована асоціація мікроорганізмів з субстратом-целюлозою |
| 12          | 0,1±0,10                                      | 0,2±0,10  | 0,3±0,10   |
| 24          | 0,52±0,13                                     | 0,83±0,2  | 0,6±0,20   |
| 48          | 1,0±0,11                                      | 1,57±0,11   | 1,3±0,11   |
| 72          | 2,0±0,10                                      | 2,9±0,10  | 2,5±0,10   |
| 96          | 0,61±0,20                                     | 1,8±0,13  | 1,5±0,10   |

Також було визначено вплив селекціонованої мезофільної целюлолітичної асоціації мікроорганізмів на інтенсивність виходу біогазу та ферментацію субстрату. Використання селекціонованих анаеробних мікроорганізмів дає змогу прискорити процес трансформації субстрату за рахунок зменшення часу адаптації мікрофлори до субстрату, тоді як для нативної мікрофлори необхідний більший час на адаптацію до умов культивування.

Досліджено, що внесення селекціонованої мезофільної целюлолітичної асоціації мікроорганізмів, виділеної з активного мулу метантенку Бортницької станції аерації, інтенсифікує процес утворення біогазу в 1,3–1,5 рази, тобто на 45 % (табл. 3).

**БІБЛІОГРАФІЯ**

1. Баядер В., Доне Е., Бренідерфер М., Шульц Х. Биогаз. Теория и практика. – М.: Наука, 2006. – 69 с.  
 2. Веденов А. Г., Веденова Т. А. Биогазовые технологии в Кыргызской республике. – Бишкек: «Евро», 2006. – 90 с.  
 3. Дубровский В. С., Виестур У. Э. Метановое сбраживание сельскохозяйственных отходов. – Рига: Зинатне, 1988. – 189 с.  
 4. Заварзин Г. А., Колотилова Н. Н. Введение в природоведческую микробиологию: Уч. пособ. – М.: Книжный дом «Университет», 2001. – 256 с.  
 5. Карпенко В. І., Ястремська Л. С., Голодок Л. П. [та ін.]. Закономірності трансформації полімерних сполук у метан термофільними анаеробними бактеріями. Вісник Дніпропетров. ун-ту. Сер.: Біологія. Екологія. – 2006. – Т. 2. – Вип. 14. – № 3. – С. 79–84.  
 6. Ножевникова А. Н., Ковалёв А. А., Некрасова В. К. [и др.]. Метановое сбраживание жидкого навоза

**Висновки.** Показано, що на першій (гідролізній) стадії трансформації субстрату у мезофільному режимі максимальна кількість біогазу за нейтрального рівня рН (7,0–7,5) продукується на 2–3-ю добу з гною ВРХ та гнойової суміші, й на 3–4-у добу зі свиного гною. Після четвертої доби починається кислотогенна стадія, за якої рівень рН знижується. Визначено, що механічне подрібнення рослинної сировини сприяє збільшенню кількості біогазу в 10 разів, аніж неподрібнена. Використання селекціонованої мезофільної целюлолітичної асоціації мікроорганізмів скорочує час початку гідролізу сировини на дві доби та збільшує кількість утворюваного біогазу на 45 %.

в реакторе «Анаэробный биофильтр». – М.: Биотехнология, 1992. – 103 с.  
 7. Решетник В. Я. Производство биогаза. Методические указания. – М.: ТДТУ, 2005. – 539 с.  
 8. Ястремская Л. С. Роль анаеробних мікроорганізмів у трансформації сільськогосподарської сировини в біопаливо : Автореф. дис... канд. с.-г. наук.: 03.00.07. – Уманский держ. аграрн. ун-т., – 2008. – 20 с.  
 9. Ястремська Л. С., Карнаух І. П., Тражуков А. Ю. Анаеробна мікробна конверсія відходів тваринництва в енергоносії / Мат-ли міжн. наук.-практ. конф. «Новітні досягнення біотехнології» – (Київ, 21–22 жовтня 2010 р.), МОН, НАУ. – К.: Нац. авіац. ун-т, 2010. – С. 47–48.  
 10. Ястремська Л. С. Анаеробний метод розливу рідких поживних середовищ // Наукові доповіді НУБіП. – 2011. – 2(24). – www.nbu.gov.ua/e-journals/ Nd/ 2011\_2/11yls.pdf.