

Дніпродзержинський державний технічний університет

## ДОСЛІДЖЕННЯ ЗАЛЕЖНОСТІ ВИХОДУ БІОГАЗУ ВІД СКЛАДУ СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ МЕТАНОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ

**Вступ.** Близько 50 видів із 17 родів бактерій, що традиційно розглядають як групу метаноутворюючих бактерій та відносять до археїв, здатні синтезувати метан. Біогаз, отриманий за допомогою метаногенних бактерій, є висококалорійним паливом, економічна вигідність якого протягом останніх років неодноразово доведена і полягає як у невисокій собівартості продукту, так і у можливості його відновлення як природного джерела енергії [1, 2]. Метаногени тривалий час залишалися мало дослідженими, оскільки вони складно культивуються та мають високу кисневу чутливість.

**Постановка задачі.** Основною задачею є виявлення практично вагомих закономірностей протікання процесу біометаногенезу з огляду на склад мікрофлори. Традиційно дослідження зорієнтовані на використання змішаної культури мікроорганізмів, в той час як нами спрогнозовано можливість отримання високих результатів при використанні окремих монокультур. За харчовими потребами бактерії, що здійснюють метаногенез, поділяють на 3 види:

- гідролізні (ацетогенні);
- гомоацетатні бактерії;
- власне метаногенні бактерії.

Архебактерії відрізняються від прокаріотичних мікроорганізмів відсутністю муреїна в клітинній стінці, специфічним складом ліпідів без вмісту жирних кислот, специфічною нуклеотидною послідовністю 16S рРНК, а також наявністю специфічних компонентів метаболізму у вигляді складної ферментної системи.

В процесі метаногенезу приймає участь специфічна ферментна система, до складу якої входять коферменти метанофуран, тетрагідро-метанофтерин, коферменти F420 та F430, кофермент M, кофермент B. При цьому тетрагідрометанофтерин і метанофуран виявлені у метилотрофних бактерій, тетрагідрометанофтерин, F420 і кофермент B порівнянні з коферментами, виявленими у бактерій і еукаріот, кофермент M (КоМ) і фактор F420 не мають аналогів у інших організмів [3]. Таким чином, важливим постає дослідження впливу наявності компонентів ферментної системи в середовищі метаногенезу на вихід біогазу.

Оскільки біогаз практично отримують із складних органічних речовин (целюлоза, крохмаль, білки, ліпіди, нуклеїнові кислоти), то для метаноутворення найпоширенішим є використання багатокомпонентних мікробних асоціацій. До їх складу окрім метаногенів входять мікроорганізми, які перетворюють органічні субстрати на метанол, мурашину та оцтові кислоти, водень, карбон діоксид тощо.

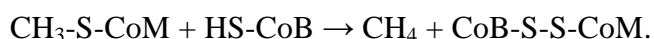
В асоціації традиційно наявні мікроорганізми-деструктори, що здійснюють гідроліз складної органічної маси з утворенням органічних кислот (масляної, пропіонової, молочної), а також нижчих спиртів, амоніаку, водню; ацетогени, що перетворюють кислоти на оцтову кислоту, водень та карбон оксиди; метаногени, що відновлюють воднем кислоти, спирти і карбон оксиди до метану.

Значну роль при культивуванні метаногенів відіграє при цьому наявність КоМ як обов'язкового для розвитку метаногенів компоненту поживного середовища. Це пов'язано з тим, що хоча деякі метаногенні археї можуть синтезувати КоМ, певні види метаногенів, таких як *Methanobrevibacter ruminantium* обов'язково потребують для рос-

ту наявність коензиму у поживному середовищі, що найчастіше і забезпечується шляхом доповнення середовища компонентами, що містять КоМ, синтезований іншими метаногенами асоціації (зокрема, вміст рубцевої рідини) [4].

Перша стадія деструкції складних органічних полімерів здійснюється бактеріями родів *Clostridium*, *Bacteroides*, *Ruminococcus*, *Butyrivibrio*. Основними продуктами є ацетат, пропіонат, сукцинат,  $H_2$  і  $CO_2$ . Кінцевими продуктами є різні летучі жирні кислоти. Бактерії другої фази (родів *Syntrophobacter*, *Syntrophomonas* та *Desulfovibrio*) викликають розклад пропіонату, бутирату, лактату і пірувату до ацетату,  $H_2$  і  $CO_2$ .

Метаболічні шляхи метаногенезу незалежно від ростового субстрату схожі за діяльністю різних метилтрансфераз у загальних метаболічних реакціях, в яких метильований КоМ (метил-КоМ) розщеплюється за допомогою діяльності метил-КоМ-редуктази з утворенням метану. КоМ реагує з коферментом В (7-тіогептаноїлт-реонінфосфатом), при цьому утворюється гетеродисульфід і метан:



Каталізує цю реакцію метил-КоМ-редуктаза, яка містить в якості простетичної групи кофактор F430.

КоМ в метаногенах приймає участь в заключних етапах утворення метану, виступаючи акцептором метильних груп від метилкобаламіну у формі метил-КоМ, який в подальшому деметилується до метану через тіоефір [1, 2]. КоМ є найменшим з відомих органічних кофакторів.

Вміст коферменту М має високий рівень для усіх доступних в чистій культурі метаногенів та коливається від 0,3 до 16 нмоль / мг сухої ваги [5].

Із сказаного вище впливає необхідність дослідження впливу КоМ як компоненту середовища для культивування метаногенів на вихід біогазу на основі сільськогосподарських відходів (суміш гною свиней та соломи або аналогічних продуктів екскреції тварин та рослинних залишків).

**Результати роботи.** Підготовку сировинної суміші здійснювали за такими етапами [1,2]:

а) формування суміші:

- стічні води свиноферми (вологість  $\approx 80\div 85\%$ ), що містять гній свиней ( $8\div 12\%$  в перерахунку на суху речовину);
- солома пшенична, бадилля цукрового буряку (можливо використовувати аналогічні за хімічним складом солом'яно-ошуркові відходи, некормові трав'яні залишки тощо);

б) підготовка наважок компонентів:

- ретельне перемішування зразків стічних вод;
- розтирання в ступці до однорідної консистенції рослинних залишків з водою у відповідності до компонентного співвідношення;
- зважування відповідних кількостей компонентів;

в) гомогенізація сумішей наступними шляхами в залежності від консистенції:

- для рідких – розмішування, струшування на ротаторі;
- для твердих – сумісне розтирання в ступці.

Під час підготовки до інокуляції культур групи метаногенів склад поживних середовищ на основі середовища Кітт-Тароцці (тип I) варіювали, використовуючи типи II (з додаванням коферменту М) та III (з додаванням коферменту М та казеїну). Отримані культури для інокуляції позначили відповідно I, II та III.

Вихід біогазу (з розрахунку на 200 мл сировини) при інокуляції культурами I виявився низьким та утримував максимальний рівень протягом короткого часу відповідно до традиційних уявлень щодо монокультивування метаногенів.

Піковий вихід спостерігався на 8-й - 10-й дні культивування метаногенів типів II (складав 50-56 мл/день) та III (складав величину, більшу порівняно з типом II: 58-62 мл/день). Вихід біогазу стабілізувався протягом наступних 2-3 днів на рівні 45-50 мл/день, утримуючись до 41-42 днів від початку експерименту для типу II та стабілізувався протягом наступних 3 днів на рівні 49-54 мл/день, утримуючись аналогічно до 40-42 днів від початку експерименту для типу III (табл.1).

Таблиця 1 – Середній вихід біогазу за результатами дослідів

Дослідний ряд	Вихід біогазу, мл									
	1-й день	5-й день	10-й день	15-й день	20-й день	25-й день	30-й день	35-й день	40-й день	45-й день
I	0	8,9	10,3	18,5	16,7	15,9	12,6	12,4	6,3	2,5
II	0	15,6	53,3	47,3	47,3	47,0	47,4	47,1	47,4	36,5
IV	0	16,0	60,3	50,8	50,9	50,9	50,8	50,4	50,6	35,0

Динаміка утворення біогазу представлена на рис.1

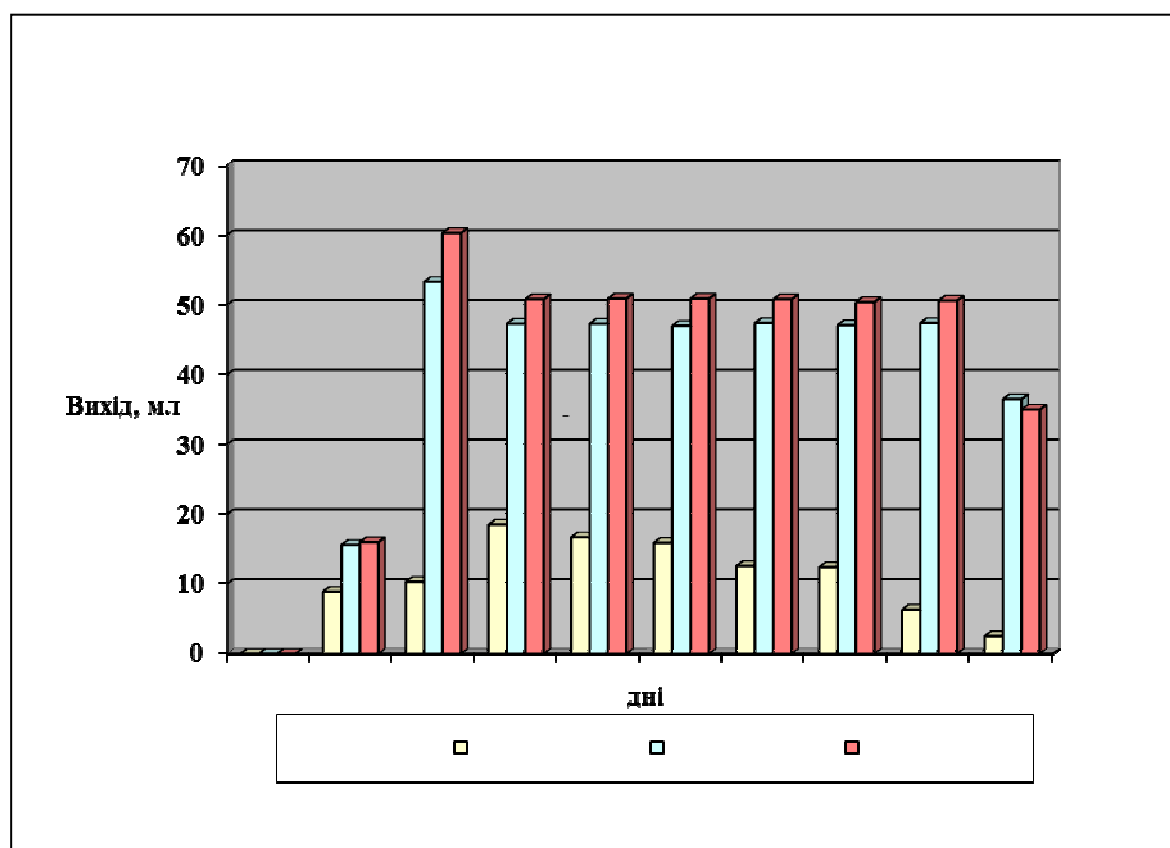


Рисунок 1 - Динаміка утворення біогазу

**Висновки.** КоМ виступає в якості носія метильної групи і активатора у метаногенних археїв [6], а його наявність як ростового фактору поживного середовища призводить до підвищення продуктивності монокультури метаногенів.

З урахуванням вказаних результатів розробляється технологічна схема виробництва біогазу на основі комбінованої сільськогосподарської сировини за допомогою монокультури метаногенів, яка включає введення до середовища культивування фермен-

тативного компоненту КоМ. Така схема дозволить отримувати приблизно втричі більший вихід біогазу порівняно з традиційною схемою із використанням мікробних асоціацій. Тобто в енергетичному еквіваленті додаткова продуктивність процесу складе 12-15 мДж з розрахунку на 1 кг сировини.

Культивування метаногенів на середовищі з вмістом КоМ є ефективною складовою підвищення продуктивності біогазу на основі комбінованої сільськогосподарської сировини.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гелетуха Г.Г. Современные технологии анаэробного сбраживания биомассы (обзор) / Г.Г.Гелетуха, С.Г.Кобзарь // Экотехнологии и ресурсосбережение. – 2002. – №4. – С.13-16.
2. Веденев А.Г. ОФ «Флюид». Биогазовые технологии в Кыргызской Республике // А.Г.Веденев, Т.А.Веденева. – Б. Типография «Евро». – 2006. – 90с.
3. Thauer R. K. Biochemistry of Methanogenesis: a Tribute to Marjory Stephenson. // R.K.Thauer. – Microbiology. – 1998, volume 144. – P.2377-2406.
4. Krishnakumar Arathi M. Getting a Handle on the Role of Coenzyme M in Alkene Metabolism. / Arathi M. Krishnakumar, Darius Sliwa, James A. Endrizzi, Eric S. Boyd, Scott A. Ensign, and John W. Peters. // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 2008, Vol. 72. – № 3. – P.445-456.
5. W. E. Balch Specificity and Biological Distribution of Coenzyme M (2-Mercaptoethanesulfonic Acid) / Balch W. E., Wolfe R. S.// Journal of bacteriology. – 1979 Vol. 137. – №1. – P.256-263.
6. Allen Jeffrey R. A role for coenzyme M (2-mercaptoethanesulfonic acid) in a bacterial pathway of aliphatic epoxide carboxylation. / Jeffrey R. Allen, Daniel D. Clark, Jonathan G. Krum, Scott A. Ensign. // PNAS. – 1999 vol. 96. – № 15. – P.8432-8437.

УДК 662.767.1: 628.16:579.695

ГУЛЯЄВ В.М., к.т.н., доцент  
КЛИКОВА К.В., аспірант

Дніпродзержинський державний технічний університет

### ДОСЛІДЖЕННЯ ПЕРСПЕКТИВ ВИРОБНИЦТВА БІОГАЗУ НА ОСНОВІ ВІДХОДІВ ПІДПРИЄМСТВ ВОДОПІДГОТОВКИ М. ДНІПРОДЗЕРЖИНСЬКА

**Вступ.** Дніпродзержинськ – місто обласного підпорядкування, територія якого становить 13,8 тис. га, чисельність населення станом на 01.01.2009 року – 252,0 тис. осіб. При цьому промисловий комплекс міста включає 56 великих і середніх підприємств, продукція яких складає 12,7% від промислової потужності області (для порівняння: за територією місто займає 1,5% від площі області).

В Україні міські стічні води традиційно направляють на станції біологічної очистки, де піддають спеціальній обробці аеробним методом. Проблеми поводження з відходами практично не вирішуються. Таким чином, вочевидь постає проблема стічних вод та якості очищення їх скидів [3, 7].

Обсяг забруднених вод, що скидаються в поверхневі водні об'єкти, становить 50-90 млн. м<sup>3</sup> за рік, з них у стані недостатнього очищення скидається 65-70%, без очищення – 25-30% [5].