

УДК 662.767.2:636.5/6

А.І.Салюк, канд.техн.наук, С.О.Жадан, Є.Б.Шаповалов, Р.А.Тарасенко (Національний університет харчових технологій, Київ)

Інгібування виробництва метану з курячого посліду амонійним азотом

Розглянуто інгібування амонійним азотом виробництва метану з курячого посліду, а саме: джерела утворення амонійного азоту, механізм інгібування, чутливість різних груп метаногенів, фактори, що його контролюють, ступінь інгібування та адаптацію до негативного впливу.

Ключові слова: курячий послід, метанове бродіння, біогаз, інгібування, амонійний азот, аміак.

Рассмотрено ингибирование аммонийным азотом производства метана из куриного помета, а именно: источники образования аммонийного азота, механизм ингибирования, чувствительность различных групп метаногенов, факторы, которые его контролируют, степень ингибирования и адаптацию к негативному воздействию.

Ключевые слова: куриный помет, метановое брожение, биогаз, ингибирование, аммонийный азот, аммиак.

Вступ. Метанове бродіння курячого посліду є ефективним способом його утилізації, що дозволяє отримати біогаз, високоякісне органомінеральне добриво та покращити стан навколишнього природного середовища. У дослідженнях з анаеробної переробки відходів птахівництва повідомляється про те, що високий вміст азоту часто викликає проблеми, пов'язані з токсичністю амонійного азоту для анаеробних мікроорганізмів.

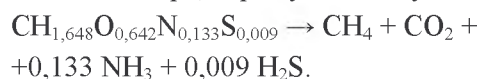
Постановка завдання. Метою роботи був розгляд механізму, за яким відбувається інгібування метанового бродіння курячого посліду, спричиненого амонійним азотом, факторів, що контролюють пригнічення процесу, а також ступеня пригнічення, що є важливим для розробки підходів зменшення інгібуючого впливу амонійного азоту.

Результати. Курячий послід має вищий вміст азоту, ніж відходи життєдіяльності інших сільськогосподарських тварин. У процесі метанового бродіння від 50% до 75% всього азоту перетворюється на амонійний [14].

У роботі [18] автори повідомили, що масова частка хімічних елементів у сухих органічних речовинах (СОР) посліду становить: для С – 35,16%; Н – 4,83%; О – 30,12%; N – 5,44%; S – 0,84%. Використовуючи ці дані, отримуємо брутто формулу СОР курячого посліду: $\text{CH}_{1,648}\text{O}_{0,642}\text{N}_{0,133}\text{S}_{0,009}$.

Підставляючи цю формулу в рівняння

Басвела-Мюллера, отримуємо наступне рівняння:

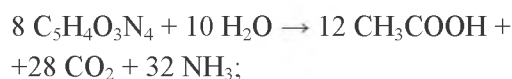


Таким чином, при повному розкладі 1 г СОР курячого посліду утворюється 0,087 г NH_3 (0,072 г N-NH_4^+).

Джерела амонійного азоту. При метановому бродінні курячого посліду амонійний азот утворюється із сечової кислоти і неперетравлених білків. Вони представляють 70% і 30% загального азоту, відповідно. У роботі [20] повідомляється про повну утилізацію сечової кислоти після перших 24 годин при анаеробній переробці курячого посліду, розбавленого до вологості 95%.

Згідно з [10] розклад сечової кислоти проходить у 2 стадії:

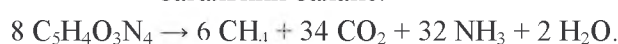
- I стадія:



- II стадія:



- Загальний баланс:



Виходячи зі стехіометрії реакції, при розкладі 1 г сечової кислоти утворюється 0,405 г NH_3 (0,334 г N-NH_4^+).

Механізм інгібування. Токсичний вплив амонійного азоту пов'язують із недисоційованим аміаком. Було показано, що він дифундує в

клітинні мембрани та іонізується з утворенням іонів амонію NH_4^+ , призводячи до дисбалансу рН в середині і зовні бактеріальної клітини. Це негативно впливає як на транспорт речовин, так і на активність ферментів [18]. Перетворення аміаку на іони амонію супроводжується поглинанням протонів. Клітини повинні витратити енергію для поновлення протонного балансу, використовуючи калієвий насос для підтримки внутрішньоклітинного рН, тим самим збільшуючи свої потреби в енергії та потенційно викликаючи пригнічення специфічних ферментативних реакцій [28].

Автори [2] узагальнили токсичність аміаку для анаеробів у тріступеневий процес: утворення вільного аміаку; інгібування метаболізму анаеробів у зв'язку з утворенням певної кислоти і накопичення летких жирних кислот, які знижують рН системи і призводять до порушення процесу в реакторі.

Існує думка про те, що токсичними також є іони амонію. У чистих культурах при значенні рН 6,5-7,0 виявлено інгібування іонами амонію при концентраціях аміаку, що не перевищують небезпечних рівнів.

Декілька досліджень з чистими культурами показали, що амонійний азот може пригнічувати метаногенні бактерії двома способами: іони амонію безпосередньо інгібують дію ферментів, що приймають участь в утворенні метану; гідрофобні молекули аміаку пасивно дифундують у бактеріальні клітини, в результаті чого виникає протонний дисбаланс або дефіцит калію [7].

Чутливість мікроорганізмів. Метаногени є найбільш чутливими у складному мікробному співтоваристві, що бере участь в анаеробному бродінні. Стійкість до амонійного азоту серед самих метаногенів істотно розрізняється. Деякі дослідження, проведені на основі порівняння виробництва метану і швидкості росту, показали, що інгібуючий вплив у цілому був сильнішим для ацетокластичних, ніж для гідрогентрофних метаногенів. Згідно з [13] (2005), види *Methanosaetaceae* є більш чутливими серед ацетокластичних метаногенів до накопичення вільного аміаку, ніж види *Methanosarcinaceae*, які були визначені як домінуючий ацетокластичний порядок при високій концентрації NH_3 (4100 мг

N-NH_3 / л). Аналогічні результати були отримані авторами [6] (2005), що досліджували різноманітність метаногенів в анаеробних реакторах, у які подавали штучну стічну воду при поступовому підвищенні рівня NH_3 (в межах від 1000 до 6000 мг/л). Автори [27] (1986) відмітили, що представники *Methanosarcina* є великими сферичними клітинами з більшим відношенням об'єму до поверхні, ніж у менших паличкоподібних *Methanothrix*; як наслідок, дифузія вільного аміаку буде меншою в *Methanosarcina*, ніж *Methanothrix*. Відповідно, представники *Methanosarcina* будуть витратити менше енергії на видалення NH_3 .

Вміст сухих речовин (СР). З практичної точки зору бажано, щоб пташиний послід видалявся з кліток курей-несучок із концентрацією сухих речовин не менше 25% та розбавлявся мінімальною кількістю води перед метановим бродінням. Однак концентрація амонійного азоту тісно пов'язана із вмістом сухих речовин у курячому посліді. Прийнято вважати, що саме вона є обмежуючим фактором для коефіцієнта розбавлення [22]. Автори [12] повідомили про те, що при анаеробному бродінні пташиного, свинячого і коров'ячого гною зі збільшенням вмісту СР від 5% до 20% вихід метану знижується. Автори дослідження [11] із суспензій, у яких вміст СР становив 4,5%, 6%, 8%, 13% отримали біогазу 0,46 м³/кг, 0,38 м³/кг, 0,37 м³/кг і 0,29 м³/кг відповідно. У періодичному дослідженні [10] спостерігалось збільшення лаг-фази з 40 до 60 діб при підвищенні вмісту СР з 10% до 15,7%. Висока початкова концентрація амонійного азоту (6040-6598 мг/л) в реакторах із вмістом СР близько 20% спричиняла гостре інгібування виробництва метану протягом усього експерименту.

Час обороту реактора. Встановлено позитивний зв'язок між вмістом аміаку і часом обороту реактора. Так, у дослідженні [26] при часі обороту реактора 29,2 днів і концентрації СР 10% вміст аміаку становив 435 мг/л і лише 29 мг/л при часі обороту реактора 14,6 днів.

рН. Іони амонію NH_4^+ взаємодіють з бікарбонат-іоном HCO_3^- , що приводить до значного збільшення буферної ємності системи. Це в свою чергу веде до підвищення рН, що збільшує част-

ку вільного аміаку NH_3 в реакторі [10]. Збільшення кількості вільного аміаку інгібує метаногенну мікрофлору і веде до накопичення летких жирних кислот (ЛЖК), що знову приводить до зниження рН і, відповідно, до зниження концентрації вільного аміаку. Взаємодія між вільним аміаком, ЛЖК і рН може призвести до встановлення "інгібованого стійкого стану", при якому процес проходить стабільно, але з більш низьким виходом метану [3].

Температурний режим. Підвищення температури процесу в цілому позитивно впливає на швидкість метаболізму мікроорганізмів, але також приводить до збільшення концентрації вільного аміаку. Деякі автори виявили, що анаеробне бродіння відходів із високим вмістом азоту легше пригнічується і є менш стабільним у термофільних умовах, ніж у мезофільних [4, 21].

Частка вільного аміаку в залежності від рН і температури середовища зображена на рис. 1.

Іони металів. Деякі іони, такі як Na^+ , Ca^{2+} і Mg^{2+} виявляють антагонізм до пригнічення процесу аміаком – явище, при якому токсичність одного іона зменшується у присутності інших іонів [4, 9, 17]. Згідно з [19] курячий послід має високу концентрацію іонів Ca^{2+} і Mg^{2+} , які можуть протидіяти інгібуванню аміаком метанового бродіння.

Сульфід. Сульфід діють синергічно з амонійним азотом, пригнічуючи процес метанового бродіння [8]. При анаеробному бродінні курячого посліду утворюється значна кількість сірководню.

Виходячи з рівняння Басвела-Мюллера, при повному розкладі з 1 г СОР курячого посліду утворюється 0,012 г H_2S (0,011 г S). Джерелом сульфуру при цьому слугують сірковмісні амінокислоти.

Ступінь інгібування. На інгібування процесу анаеробного бродіння зазвичай вказує зменшення обсягів виробництва метану в стійкому стані та збільшення проміжних продуктів бродіння, таких як ЛЖК. Токсичність проявляється в повному припиненні діяльності метаногенів [6, 24].

Автор дослідження [16] (1964) показав, що при концентрації амонійного азоту, яка перевищує 3000 мг $\text{NH}_4\text{-N}/\text{л}$, процес анаеробного бродіння є інгібованим при будь-якому значенні рН.

Для оптимізації роботи реактора важливо встановити, наскільки виробництво газу може бути інгібоване даною концентрацією амонійного азоту. Автори роботи [26] повідомили, що при концентрації амонійного азоту 4275 мг/л (435 мг/л вільного аміаку) вихід газу був знижений приблизно на 10% у порівнянні з максимальними значеннями. Штучне підвищення рівня амонію до 4835 мг/л шляхом додання хлориду амонію протягом 60 тижнів призводить до зменшення виходу газу на 27%. Автори [18] повідомили, що концентрація амонійного азоту, при якій відбувається 10% інгібування метаногенезу, становить 4800 мг/л, 50% інгібування – 10300 мг/л, 90% інгібування – 13000 мг/л. Концентрація вільного аміаку, при якій відбувається 10% інгібування метаногенезу, становить 650 мг/л, 50% інгібування – 1730 мг/л, 90% інгібування – 1800 мг/л.

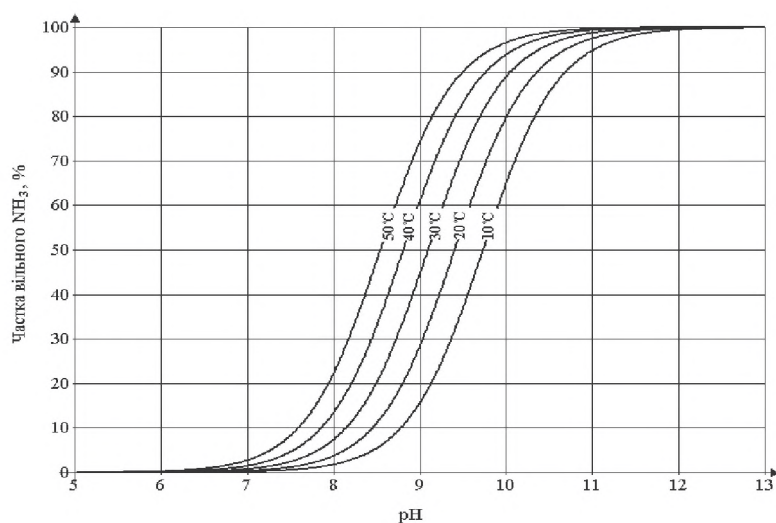


Рис. 1. Частка вільного аміаку в залежності від рН і температури середовища.

Вважається, що концентрація амонійного азоту нижче 200 мг/л є корисною для анаеробного процесу, оскільки азот є необхідним для нормального функціонування анаеробних мікроорганізмів [15]. Низька концентрація амонійного азоту може викликати низький вихід метану, втрату біомаси мікроорганізмів і припинення виробництва метану ацетокластичними метаногенами [23]. При цьому негативний вплив низької концентрації амонійного азоту на мікроорганізми обумовлений не тільки низькою буферною ємністю системи, але й нестачею азоту на конструктивні потреби клітин.

Адаптація. Адаптація метаногенних мікроорганізмів до високих рівнів аміаку або підвищення толерантності до аміаку є перевіреним ефективним методом для поліпшення процесу анаеробного бродіння і виробництва метану з різних видів відходів [1]. Автори дослідження [5] наполегливо рекомендують попередню адаптацію з метою підвищення ефективності процесу бродіння для суміші гною великої рогатої худоби та курячого посліду. Експерименти, проведені авторами [26], демонструють, що при додаванні значної кількості хлориду амонію в реактори, які працюють при різних концентраціях амонійного азоту, не було помічено одного абсолютного рівня інгібування процесу. Так, можна очікувати, що 50% інгібування високоадаптованого інокуляту буде відбуватися при концентрації 10000 мг/л, у той час як інгібування низькоадаптованого – при 2600 мг/л. Автори [1] проводили сухе бродіння курячого посліду в мезофільних умовах при 37°C. Метан отримали після періоду адаптації, що тривав близько 254 днів. Було вироблено 31 мл/г СОР метану, незважаючи на наявність високого рівня амонію від 8000 до 14000 мг/кг курячого посліду. Отцевої кислоти серед летких жирних кислот було найбільше, що демонструє ефективну адаптацію мікробної популяції до високих рівнів аміаку. Однак мало місце інгібування виробництва метану. Його вміст становив 30% від загальної кількості біогазу.

Адаптація може бути результатом внутрішніх змін у переважаючих видах метаногенів або зміною складу метаногенного співтовариства [25].

Висновки. 1. Основними джерелами амонійного азоту при метановому бродінні курячого посліду є сечова кислота і неперетравлені білки.

2. Інгібуючий вплив амонійного азоту пов'язаний із проникненням аміаку крізь клітинні мембрани з подальшою його іонізацією, що веде до дисбалансу рН в середині і зовні бактеріальної клітини.

3. Факторами, що контролюють інгібування процесу, є вміст сухих речовин у субстраті, час обороту реактора, рН, температурний режим і наявність іонів, що є антагоністами інгібуючому впливу.

4. Пригнічення процесу метанового бродіння високою концентрацією амонійного азоту може спричинити значні економічні втрати при роботі біогазової установки.

5. Адаптація метаногенних мікроорганізмів до високих рівнів аміаку є ефективним методом поліпшення процесу анаеробного бродіння.

1. *Abouelenien F.* Dry mesophilic fermentation of chicken manure for production of methane by repeated batch culture [Electronic resource] / F. Abouelenien, N. Nishio, Y. Nakashimada // J. Biosci. and Bioeng. – 2009. – № 107(3). – P. 293–295.

2. *Advances in poultry litter disposal technology* / B.P. Kelleher, J.J. Leahy, A.M. Henihan, T.F. O'Dwyer // *Bioresource Tech.* – 2002. – № 83(1). – P. 27–36.

3. *Angelidaki I.* Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: the effect of ammonia / I. Angelidaki, B.K. Ahring // *Applied Microbiology and Biotechnology.* – 1993. – № 38. – P. 560–564.

4. *Braun R.* Ammonia toxicity in liquid piggery manure digestion / R. Braun, P. Huber, J. Meyrath // *Biotechnology Letters.* – 1981. – № 3. – P. 159–164.

5. *Demirci G.G.* Effect of initial COD concentration, nutrient addition, temperature, and microbial acclimation on anaerobic treatability of boiler and cattle manure / G.G. Demirci, G.N. Demirel // *Bioresource Tech.* – 2004. – № 93(2). – P. 109–117.

6. *Effects of high free ammonia concentrations on the performances of anaerobic bioreactors* / B. Calli, B. Mertoglu, B. Inanc, O. Yenigun // *Process Biochemistry.* – 2005. – № 40. – P. 1285–1292.

7. *Gallert C.* Effect of ammonia on the anaerobic degradation of protein by a mesophilic and thermophilic biowaste population / C. Gallert, S. Bauer, J. Winter // *Applied Microbiology and Biotechnology.* – 1998. – № 50. – P. 495–501.

8. *Hansen K.H.* Improving thermophilic anaerobic digestion of swine manure / K.H. Hansen, I. Angelidaki, B.K. Ahring // *Water Res.* – 1999. – № 33. – P. 1805–1810.

9. *Hendriksen H.V.* Effects of ammonia on growth and morphology of thermophilic hydrogen-oxidizing methanogenic bacteria / H.V. Hendriksen, B.K. Ahring // *FEMS Microb. Ecol.* – 1991. – № 85. – P. 241–246.
10. *High solid* anaerobic digestion of chicken manure / G. Bujoczek, J. Oleszkiewicz, R. Sparling, S. Cenkowaski // *J. Agric. Eng. Res.* – 2000. – № 76(1). – P. 51–60.
11. *Hobson P.N.* Methane production from agricultural and domestic wastes / P.N. Hobson, S. Bousfield, R. Summer. – London : Applied Science Publishers. – 1981. – P. 10–51, 211–12.
12. *Itodo I. N.* Effects of total solids concentrations of poultry, cattle, and piggery waste slurries on biogas yield / I.N. Itodo, J.O. Awulu. // *Trans. ASAE.* – 1999. – № 42(6). – P. 1853–1855.
13. *Karakashev D.* Influence of environmental conditions on methanogenic compositions in anaerobic biogas reactors / D. Karakashev, D.J. Batstone, I. Angelidaki // *Applied and Environment Microbiology.* – 2005. – № 71. – P. 331–338.
14. *Kirchmann H.* Composition of fresh, aerobic and anaerobic farm animal dungs / H. Kirchmann, E. Witter // *Bioresource Tech.* – 1992. – № 40(2). – P. 137–142.
15. *Liu T.* Ammonia inhibition on thermophilic acetoclastic methanogens / T. Liu, S. Sung // *Water Science and Technology.* – 2002. – № 45. – P. 113–120.
16. *McCarty P.L.* Anaerobic waste treatment fundamentals III / P.L. McCarty // *Public Works.* – 1964. – № 95. – P. 91.
17. *McCarty P.L.* Salt toxicity in anaerobic digestion / P.L. McCarty, R. McKinney // *J. Water Pollut. Control Fed.* – 1961. – № 33. – P. 399–415.
18. *Mesophilic methane* fermentation of chicken manure at a wide range of ammonia concentration: Stability, inhibition and recovery / Q. Niu, W. Qiao, H. Qiang [et. al.] // *Bioresource Technology.* – 2013. – № 137. – P. 358–367.
19. *Microbial community* shifts and biogas conversion computation during steady, inhibited and recovered stages of thermophilic methane fermentation on chicken manure with a wide variation of ammonia / N. Qigui, Q. Wei, Q. Hong, L. Yu-You // *Bioresource technology.* – 2013. – Vol.146. – P. 223–233.
20. *Nutrient changes* in poultry manure during batch liquid phase anaerobic fermentation / R.E. Lacey, I.J. Ross, J.L. Taraba, L.R. Walton // *Livestock Waste: A Renewable Resource (Fourth International Symposium on Livestock Wastes, Amarillo Civic Center, Amarillo, Texas, 1980).* – Amarillo: ASAE Publication. – 1981. – P. 31–33.
21. *Parkin G.F.* Response of methane fermentation to continuous addition of selected industrial toxicants / G.F. Parkin, S.W. Miller // *In Proc. 37th Industrial Waste Conference, Purdue University, Lafayette.* – 1983. – P. 726–743.
22. *Pechan Z.* Anaerobic Digestion of Poultry Manure at High Ammonium Nitrogen Concentrations / Z. Pechan, O. Knappovfi // *Biological Wastes.* – 1987. – № 20. – P. 117–131.
23. *Stability and inhibition* of anaerobic processes caused by insufficiency or excess of ammonia nitrogen / J. Procházka, P. Dolejš, J. Máca, M. Dohányos // *Applied Microbiology and Biotechnology.* – 2012. – № 93. – P. 439–447.
24. *Sung S.* Ammonia inhibition on thermophilic anaerobic digestion / S. Sung, T. Liu // *Chemosphere.* – 2003. – № 53. – P. 43–52.
25. *The influence of* the total-ammonia concentration on the thermophilic digestion of cow manure / G. Zeeman, W.M. Wiegant, M.E. Koster-Treffers, G. Lettinga // *Agricultural Wastes.* – 1985. – № 14. – P. 19–35.
26. *Webb A.R.* The anaerobic digestion of poultry manure: Variation of gas yield with influent concentration and ammonium-nitrogen levels / A. R. Webb, F. R. Hawkes // *Agric. Waste.* – 1985. – № 14(2). – P. 135–136.
27. *Wiegant W.M.* The mechanism of ammonia inhibition in the thermophilic digestion of livestock wastes / W.M. Wiegant, G. Zeeman // *Agricultural Wastes.* – 1986. – № 16. – P. 243–253.
28. *Wittmann C.* Growth inhibition by ammonia and use of a pH-controlled feeding strategy for the effective cultivation of *Mycobacterium chlorophelicum* / C. Wittmann, A.P. Zeng, W.D. Deckwer // *Applied Microbiology and Biotechnology.* – 1995. – № 44. – P. 519–525.